



**MARCELA VIEIRA DA COSTA**

**INNOVATION IN FOLIAR ANALYSIS USING PORTABLE X-  
RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY WITH AID OF  
MACHINE LEARNING**

**LAVRAS – MG**

**2023**

**MARCELA VIEIRA DA COSTA**

**INNOVATION IN FOLIAR ANALYSIS USING PORTABLE X-RAY  
FLUORESCENCE SPECTROMETRY WITH AID OF MACHINE LEARNING**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Recursos Ambientais e Uso da Terra, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Bruno Teixeira Ribeiro

Orientador

**LAVRAS – MG**

**2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

da Costa, Marcela Vieira.

Innovation in foliar analysis using portable X-ray fluorescence  
spectrometry with aid of *machine learning* / Marcela Vieira da  
Costa. - 2023.

93 p.: il.

Orientador(a): Bruno Teixeira Ribeiro.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Plant nutrition. 2. Proximal sensors. 3. Machine learning. I.  
Ribeiro, Bruno Teixeira. II. Título.

**MARCELA VIEIRA DA COSTA**

**INNOVATION IN FOLIAR ANALYSIS USING PORTABLE X-RAY  
FLUORESCENCE SPECTROMETRY WITH AID OF MACHINE LEARNING**

**INOVAÇÃO NA ANÁLISE FOLIAR USANDO ESPECTROMETRIA DE  
FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X PORTÁTIL COM AUXÍLIO DE APRENDIZADO  
DE MÁQUINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Recursos Ambientais e Uso da Terra, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 02 de junho de 2023.

Dr. Guilherme Lopes

UFLA

Dr. Enio Tarso de Souza Costa

UFU

Prof. Dr. Bruno Teixeira Ribeiro

Orientador

**LAVRAS – MG**

**2023**

A meus pais Joaquim Serrão da Costa e Vânia do Socorro Vieira da Costa (*in memoriam*) por toda confiança, carinho e incentivo.

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe Vânia e a meu pai Joaquim por todo carinho, dedicação e apoio durante minha criação. As minhas irmãs Julieth, Margareth, Keli e Kamila por todo incentivo. A meus sobrinhos Henrique e Miguel por me ajudarem a continuar nos momentos difíceis.

Aos meus amigos, em especial Ellen, Stephane e Mateus por todo apoio e incentivo durante esses anos de caminhada. Aos amigos que a UFLA e o DCS deram a oportunidade de conhecer, em especial Mikaella, Marcela Souza e Layane.

Aos amigos do Laboratório de Elementos Traço no Ambiente (LETAM/UFRA) que me apoiaram e incentivaram a realizar o mestrado.

Aos colegas do Laboratório de Química Ambiental (LAQUA), em especial aos bolsistas de iniciação científica que me ajudaram durante o trabalho.

A Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência do Solo por todo apoio e suporte para o desenvolvimento desse trabalho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de mestrado e, também, pelo financiamento do projeto APQ-02613-18.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), em especial INCT Soil and Food Security #406577/2022-6; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); ao Projeto Rural Sustentável (PP-001-MG-155) e à Fapesp (#2021/06968-3).

Ao Prof. Enio T. S. Costa (Univesidade Federal de Uberlândia) por gentilmente ceder material vegetal proveniente de experimento hidropônico com cafeeiro realizado em parceria com a Unifucamp, Monte Carmelo, MG.

Ao meu orientador Bruno Teixeira Ribeiro por toda paciência, dedicação, ensinamento, incentivo e confiança para a realização desse trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram durante a minha caminhada.

Muito obrigada!

## RESUMO GERAL

O diagnóstico nutricional de plantas é essencial para promover o manejo adequado e garantir uma boa produtividade. Tradicionalmente, esse diagnóstico é baseado em análises químicas que geram diversos resíduos químicos potencialmente poluentes, além de serem demoradas e onerosas. Nesse sentido, a espectrometria de fluorescência de raios X portátil (pXRF) é uma alternativa promissora para análise foliar de maneira rápida, fácil, não-destrutiva e ambientalmente correta. Neste trabalho, objetivou-se contribuir com abordagens metodológicas para o uso de equipamentos pXRF para análise foliar. No primeiro capítulo, investigou-se a performance de um pXRF para análise direta de folhas intactas de diferentes culturas com teores de água e anatomia contrastantes. Folhas de feijão, soja, mamona, cafeeiro, eucalipto, mangueira, goiabeira e milho foram analisadas na condição intacta e úmida ( $C_{wet}$ ) e intacta e seca ( $C_{dry}$ ), objetivando-se verificar o efeito da superfície de leitura (adaxial ou abaxial) e do teor de umidade sobre os resultados obtidos pelo pXRF. Os resultados obtidos nessas condições foram submetidos à modelagem pelo algoritmo *random forest* (RF) com o objetivo de prever as concentrações de macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn) obtidas pelo método convencional. A superfície analisada não influenciou significativamente os resultados obtidos. Já o teor de umidade constitui um fator importante subestimando as concentrações dos elementos, principalmente P e S. Os resultados obtidos via pXRF em folhas intactas e modelados por RF foram capazes de prever a concentração de todos os nutrientes avaliados, mesmo aqueles que não são detectados pela técnica (N e B). As variáveis mais importantes nos modelos obtidos refletiram as relações de sinergismo e antagonismo que ocorrem durante o processo de absorção de nutrientes pelas plantas. No segundo capítulo, foi avaliado o desempenho de um pXRF em diferentes condições operacionais para acessar a composição elementar de folhas de cafeeiro. Foram utilizadas amostras foliares secas, moídas e peneiradas de cafeeiro cultivado em solução nutritiva de Hoagland e Arnon. As condições operacionais avaliadas foram o tempo de leitura, modo de operação, corrente (A) e voltagem (V) do equipamento. Os resultados obtidos nas melhores condições operacionais foram submetidos à métodos estatísticos convencionais (regressão linear simples – LR e múltipla – MLR) e algoritmos *machine learning* (ML) (*support vector machine* – SVM e RF) para predição numérica da concentração de macro e micronutrientes e categórica do nível nutricional da cultura (baixo, adequado e alto). A otimização das condições operacionais melhorou a performance do equipamento. Os elementos K, Ca, Cu e Mn foram preditos de maneira satisfatória por meio de métodos estatísticos convencionais (LR e MLR). A predição dos nutrientes avaliados foi melhorada com uso de algoritmos ML, principalmente RF. Esses resultados demonstraram que o pXRF é uma ferramenta poderosa, permitindo acessar a composição elementar de amostras foliares de maneira rápida, precisa e menos onerosa. Com base neste trabalho, a análise foliar diretamente no campo com uso de pXRF combinada à modelos robustos de ML demonstra ser promissora e poderá contribuir para a agricultura moderna que está cada vez mais inserida em inteligência artificial.

**Palavras-chave:** Nutrição de plantas. Café. Sensores proximais. Aprendizado de máquina.

## ABSTRACT

The assessment of nutritional status of plants is very important for adequate management and guarantee high productivity. Conventionally, foliar analysis has been performed using laboratory-based methods which require sampling, preparation, digestion and determination. This is a complete non environmentally-friendly analysis and time-consuming. Thus, the portable X-ray fluorescence spectrometry (pXRF) can be a promising method for fast, easy, non-destructive and environmentally-friendly foliar analysis. This work aimed to investigate methodological approaches influencing the pXRF performance for plant leaf analysis. In chapter #1, the performance of pXRF for direct analysis of intact leaves from different crops with contrasting water content and anatomy was assessed. Bean, soybean, castor bean, coffee, eucalyptus, mango, guava and corn leaves were analyzed via pXRF at the following conditions: i) intact and wet (fresh) conditions ( $C_{wet}$ ); ii) intact and dry conditions ( $C_{dry}$ ). The objective was to assess the effect of analyzed leaf surface (adaxial or abaxial) and water content. The pXRF results were used to predict the real concentrations of macro (N, P, K, Ca, Mg, and S) and micronutrients (B, Fe, Cu, Zn, and Mn) using machine learning techniques (Random Forest – RF). The analyzed surface did not influence the pXRF results. Yet the water content has a significant effect on pXRF results underestimating the concentrations, mainly for P and S. The pXRF results obtained directly on intact leaves and modeled by RF very accurately predicted the concentration of both macro- and micronutrients, even those that are not detected by pXRF (N and B). This achievement was attributed to antagonism and synergism uptake relationships. The most important variable for modelling reflected reasonably these uptake relationships. In Chapter #2, the performance of pXRF at different operational conditions was evaluated to access the elemental composition of dried and ground coffee leaves. Coffee leaves from a hydroponic experiment (Hoagland & Arnon) with different concentrations of macronutrients were used. The following operational conditions were assessed: dwell time, calibration (from manufacturer or user), current (A), and voltage (V). The results obtained by pXRF in the best operational conditions were submitted to simple linear regression (LR), multiple linear regression (MLR), and machine learning algorithms (random forest – RF; and support vector machine – SVM) in order to predict the real concentrations of macro- and micronutrients obtained via conventional method, as well as predict categorically the nutritional status as low, adequate, and high. Operational conditions influenced significantly the pXRF performance and must be strongly considered. By parsimony, the elements K, Ca, Cu, and Mn were satisfactorily predicted using LR and MLR. The prediction of all the evaluated nutrients were considerably improved by using machine learning, mainly RF. From this work, it is possible to conclude that pXRF is a really promising method for fast, economical and eco-friendly analysis of plants under laboratory conditions. Furthermore, the direct analysis of plant leaves in the field added to machine learning techniques can substantially facilitate the assessment of nutritional status of plants, contributing for smart farming agriculture and artificial intelligence approaches.

**Keywords:** Plant nutrition. Coffee. Proximal sensors. Machine learning.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### ARTIGO 1

Figure S1 - Experimental setup adopted in the present study to assess both adaxial and abaxial leaf surfaces of plants using portable X-ray fluorescence spectrometry. ....	31
Figure S2 - Summary of statistical procedure adopted to predict macro- and micronutrients using pXRF data. ....	34
Figure 1 - Effect of water content (dry versus wet) and analyzed surface (adaxial – AD versus abaxial – AB) on pXRF results for each crop. ....	37
Figure 2 - Principal components analysis for differentiation of crops at the following conditions: a) pXRF using intact and fresh (wet) leaves and $C_{conventional}$ ; b) pXRF using intact and dry leaves and $C_{conventional}$ ; c) water content and $C_{wet}/C_{conventional}$ ratio. ....	38
Figure 3 - Prediction of macro and micronutrients via random forest regression using pXRF data obtained on intact and fresh leaves. ....	41
Figure 4 - Importance of pXRF data (y axis) on prediction of macro- and micronutrients. *** without importance. ....	43

### ARTIGO 2

Figura 1 - Comparação entre o coeficiente de variação (CV%) e o tempo de leitura para macronutrientes (P, K, Ca, Mg e S) em amostras foliares de cafeeiro via pXRF sob diferentes condições operacionais. ....	66
Figura 2 - Comparação entre o coeficiente de variação (CV%) e o tempo de leitura para micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) em amostras foliares de cafeeiro via pXRF sob diferentes condições operacionais. ....	67
Figura 3.1 - Comparação entre intensidade/concentração e tempo de leitura para macro (P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) em amostras foliares de cafeeiro via pXRF sob diferentes condições operacionais. ....	68
Figura 3.2 - Comparação entre intensidade/concentração e tempo de leitura para macro (P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) em amostras foliares de cafeeiro via pXRF sob diferentes condições operacionais. ....	68
Figura 4 - Assinatura espectral obtida para amostras foliares de cafeeiro cultivado em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e analisada em diferentes condições operacionais via fluorescência de raios X portátil (pXRF). ....	71

Figura 5 - Análise de componentes principais (PCA) para os dados obtidos por análise convencional e via pXRF nas condições operacionais avaliadas: a) GeoExploration; b) 10 KeV - 10 $\mu$ A; c) 15 KeV - 25 $\mu$ A. ....	75
Figura 6 - Valores observados e preditos para os melhores modelos de predição de macro e micronutrientes em amostras foliares de cafeeiro baseado em dados obtidos via pXRF sob diferentes condições operacionais. ....	80
Figura 7 - Variáveis de importância para os modelos de predição de macro e micronutrientes em amostras foliares de cafeeiro. Variáveis em cores cinza não foram usadas no modelo de predição dos nutrientes. ....	81
Figura 8 - Coeficiente Kappa de Cohen e Overall accuracy dos modelos de classificação do status nutricional de macronutrientes em amostras foliares de cafeeiro baseado em dados obtidos via pXRF sob diferentes condições operacionais. ....	83
Figura 9 - Matriz de confusão dos melhores modelos de classificação do status nutricional de macronutrientes em amostras foliares de cafeeiro.....	83
Figura 10 - Variáveis de importância para os modelos de classificação do status nutricional (baixo, adequado e alto) de macronutrientes em amostras foliares de cafeeiro. Variáveis em cores cinza não foram utilizadas no modelo.....	84

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

Table 1 - Descriptive statistics of elemental composition obtained via portable X-ray fluorescence spectrometry (pXRF) on intact and fresh leaves ( $C_{\text{wet}}$ ), intact and oven-dried leaves ( $C_{\text{dry}}$ ), and conventional analysis ( $C_{\text{conventional}}$ ) performed on air-dried and powdered samples. ....	36
Table 2 - Significance of analysis of variance (ANOVA) for concentrations of macro (P, K, Ca, Mg, and S) and micronutrients (Cu, Fe, Mn, and Zn) using portable X-ray fluorescence spectrometry (pXRF) influenced by analyzed surface (adaxial or abaxial) and water content. ....	37
Table 3 - Statistical parameters (MAE, RMSE, $R^2$ , and RPD) of the models (validation dataset) obtained for prediction of macro- and micronutrients. ....	40

### ARTIGO 2

Tabela 1 - Identificação dos tratamentos utilizando solução de Hoagland e Arnon (1950)....	59
Tabela 2 - Condições operacionais de corrente e voltagem avaliadas utilizando modo Espectrométrico. ....	60
Tabela 3 - Parâmetros estatísticos avaliados para definição das condições operacionais via pXRF utilizando modo Spectrometer. ....	72
Tabela 4 - Estatística descritiva da composição elementar obtida por análise convencional e via pXRF sob diferentes condições operacionais usando folhas secas e moídas de café cultivado em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950).....	74
Tabela 5 - Parâmetros estatísticos (RMSE, $R^2$ e RPD) para os modelos de predição de macro- e micronutrientes no conjunto de dados de validação ( $n = 54$ ). ....	79

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	12
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	15
2.1. Espectrometria de fluorescência de raios X portátil (pXRF) .....	15
2.2. Análise de plantas via pXRF .....	16
2.3. Algoritmos <i>machine learning</i> e dados de pXRF .....	18
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	19
<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS</b> .....	26
<b>ARTIGO 1</b> .....	27
<b>TOWARDS DIRECT AND ECO-FRIENDLY ANALYSIS OF PLANTS USING PORTABLE X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY: A METHODOLOGICAL APPROACH</b> .....	27
<b>1 INTRODUCTION</b> .....	28
<b>2 MATERIAL AND METHODS</b> .....	30
<b>3 RESULTS AND DISCUSSION</b> .....	34
<b>4 CONCLUSIONS AND FINAL REMARKS</b> .....	44
<b>REFERENCES</b> .....	44
<b>ARTIGO 2</b> .....	53
<b>ANÁLISE FOLIAR DO CAFEIEIRO COM USO DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X PORTÁTIL: OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES OPERACIONAIS E PREDIÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL VIA <i>MACHINE LEARNING</i></b> .....	53
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	54
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	57
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	64
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	84
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	85

## **PRIMEIRA PARTE**

## 1. INTRODUÇÃO

O correto diagnóstico nutricional de plantas é essencial para que um adequado manejo seja adotado no campo. A deficiência nutricional pode ser prejudicial para o desenvolvimento das culturas e para a garantia de produtividade (BARBEDO et al., 2019), assim como o excesso de fertilização constitui um passivo ambiental devido à lixiviação de nutrientes (YAN et al., 2013) e, também, podendo causar toxicidade às plantas (MUSTAFA et al., 2023; VEJAN et al., 2021). Atualmente, os métodos de diagnose química mais empregados para avaliação nutricional de plantas são baseados na digestão ácida de amostras foliares (MILLER, 2019; ISAAC; JOHNSON, 2019; LICHTENTHALER et al., 2013). Em geral, esse tipo de análise possui inúmeras etapas envolvidas para sua realização, com processos que podem durar semanas desde a coleta até a obtenção dos resultados, o que torna esse método trabalhoso, demorado e oneroso, além de utilizar diversos reagentes químicos no seu processo (COSTA JUNIOR et al., 2020; DEZORDI et al., 2016; CUNHA et al., 2016; MUÑOZ-HUERTA et al., 2013).

Nos últimos anos, tem sido relevante a busca por novas tecnologias que possam complementar e/ou substituir as metodologias convencionais. Como exemplo, sensores proximais e remotos estão sendo utilizadas com o objetivo de promover uma maior tecnificação na agricultura, obtendo-se resultados mais rápidos, precisos e permitindo a análise de um grande número de amostras em curto intervalo de tempo (CUBERO et al., 2020; PALLOTTINO et al., 2019; GHOLIZADEH; KOPAČKOVÁ, 2019; BARBEDO et al., 2019).

Sensores remotos são aqueles que envolvem o uso de satélites, drones e outros instrumentos de longa distância para avaliação da cobertura vegetal (ROSLIM et al., 2021; ZHANG et al., 2019; DAMM et al., 2018). Enquanto os sensores proximais são colocados diretamente em contato ou a poucos metros do alvo específico (PAMPURI et al., 2021; ADAMCHUK et al., 2018). Os sensores proximais podem fornecer melhores informações relacionadas às propriedades dos objetos analisados por se basearem em sinais provenientes de medidas físicas do objeto que está sendo analisado (BRACKE et al., 2019a; BRACKE et al., 2019b; KASPARY et al., 2020; PAMPURI et al., 2021; TUCCIO et al., 2022).

Os equipamentos portáteis de fluorescência de raios X (pXRF do inglês portable X-ray fluorescence) são considerados sensores proximais, apresentando-se como uma alternativa promissora para analisar diversos elementos presentes em amostras foliares, sendo capaz de detectar elementos desde Mg ( $Z = 12$ ) até U ( $Z = 92$ ). (BORGES et al., 2020; MCLAREN et

al., 2012; BAENSCH 2011). Trata-se de uma técnica não destrutiva amplamente reconhecida e empregada em inúmeras áreas (e.g., geoquímica, ciências forenses, arqueologia) para a determinação da composição elementar de diferentes tipos de materiais (FENG et al., 2021; RINCHEVAL et al., 2019; WEST et al., 2013). Atualmente, essa ferramenta vem sendo empregada e reconhecida como um método oficial de análise de solos e sedimentos (USEPA 6200; SILVA et al., 2021; RIBEIRO et al., 2017). Entretanto, ainda não possui um método estabelecido para análise de amostras foliares (BORGES et al., 2020; COSTA JUNIOR et al., 2020; MCGLADDERY et al., 2018), sobretudo para amostras de folhas intactas e frescas diretamente no campo.

Apesar dos avanços obtidos nos últimos anos, ainda se faz necessário o aperfeiçoamento das técnicas envolvendo o uso de equipamentos pXRF para caracterização de plantas (BORGES et al., 2020; COSTA JUNIOR et al., 2020; MCGLADDERY et al., 2018; TOWETT et al., 2016). Assim, esta dissertação de mestrado foi idealizada para contribuir em aspectos metodológicos envolvendo pXRF para análise foliar e, também, para realizar a predição das concentrações de macro- e micronutrientes utilizando dados de pXRF e *machine learning*. No primeiro capítulo, foram investigados fatores que podem influenciar os resultados obtidos via pXRF diretamente em folhas intactas de diferentes culturas, como a superfície analisada (adaxial ou abaxial) e o teor de água das folhas. Na sequência, modelos de predição dos nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn foram obtidos pelo algoritmo random forest. No segundo capítulo, investigou-se o efeito de condições operacionais (e.g., tempo de leitura, modo operacional, corrente e voltagem) nos resultados obtidos via pXRF em material foliar seco e moído de amostras foliares de cafeeiro cultivado em solução nutritiva com diferentes concentrações de macronutrientes. Diferentes métodos estatísticos e algoritmos *machine learning* foram testados para a predição de macro e micronutrientes. Este trabalho tem como principal hipótese que as concentrações reais de macro- e micronutrientes podem ser satisfatoriamente preditas com uso de dados de pXRF, considerando que existe uma complexa interação antagônica, sinérgica ou homeostática entre os elementos, ou seja, a presença de um elemento pode afetar a presença de um outro ou mais. Com a realização deste trabalho, espera-se contribuir com o avanço na utilização de sensores na agricultura.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Espectrometria de fluorescência de raios X portátil (pXRF)

Atualmente, existem diversos modelos de equipamentos portáteis de espectrometria de fluorescência de raios X (pXRF) que apresentam potencial para serem utilizados como sensores proximais em diversas áreas (SILVA et al., 2021; COSTA JUNIOR et al., 2020; WEINDORF et al., 2014). A técnica utilizada por esses equipamentos é baseada na energia dispersiva (EDXRF). Uma fonte de raios X emite energia sobre uma amostra e excita os elétrons de seus átomos. (SINGH et al., 2022). Quando a energia dos raios X incidente é maior do que a energia de ligação dos elétrons, esses podem ser ejetados das camadas gerando uma vacância. Um elétron de uma camada mais externa se move para preencher esse espaço liberando raios X secundário com energia e comprimento de ondas característicos (GALLHOFER; LOTTERMOSER, 2018). Desse modo, a técnica permite que diversos elementos sejam detectados e quantificados por meio desses equipamentos portáteis (desde Mg até U) (WEINDORF et al., 2014; TOWETT et al., 2016). Os elementos são identificados pelos seus valores característicos de energia ou comprimento de onda e quantificados com base na intensidade dos picos.

Apesar de suas vantagens, a qualidade dos resultados obtidos por esses equipamentos pode ser dependente de uma série de fatores (MARGUÍ et al., 2022; MARGUÍ; VAN GRIEKEN, 2013; TOWETT et al., 2016). A presença de água nas amostras pode atuar como uma barreira física ou causar o espalhamento dos sinais recebidos pelo detector do equipamento. A espessura pode comprometer os raios X secundários que serão efetivamente emitidos pelos elementos presentes na amostra. O tamanho das partículas e a homogeneidade do material são fatores que também influenciam os resultados obtidos por esses equipamentos (SINGH et al., 2022; ZHOU et al. 2020). O correto preparo das amostras para que esses fatores não prejudiquem a performance dos equipamentos pXRF é fortemente recomendado. Amostras secas, finamente moídas, homogêneas e com espessura suficiente para que profundidade crítica seja atendida (ZHOU et al., 2020) constituem o material mais adequado para análise via pXRF (RIBEIRO et al., 2021; MARGUÍ et al., 2022). Além disso, a obtenção de amostras peletizadas podem contribuir ainda mais para o sucesso da análise via pXRF (MARGUÍ et al., 2022).

Além do preparo de amostras, as condições operacionais dos equipamentos de pXRF também são fatores importantes a serem considerados no momento da leitura (SILVA et al., 2023; KIKONGI et al., 2017). Fatores como tempo de leitura, calibração, corrente ( $\mu\text{A}$ ) e

voltagem (KeV) podem afetar significativamente os resultados obtidos (SILVA et al., 2023; KIKONGI et al., 2017; NEWLANDER et al., 2015). As melhores condições operacionais são dependentes do material que está sendo analisado bem como dos elementos de interesse (SILVA et al., 2023; NEWLANDER et al., 2015). Por isso, conhecer a matriz que está sendo analisada é essencial para que as configurações adequadas sejam definidas para alcançar um melhor desempenho no uso desses equipamentos.

## **2.2. Análise de plantas via pXRF**

Nas últimas décadas, diversos estudos demonstraram a aplicabilidade do uso de pXRF para a análise de material vegetal (BORGES et al., 2020; GUERRA et al., 2014; MCLAREN et al., 2012; TOWETT et al., 2016). Assim como em outras matrizes, existem diversas condições que podem interferir na acurácia dos resultados obtidos por esses equipamentos na leitura de amostras foliares, tais como utilizar amostras não homogêneas, úmidas, com elevada presença de ar ou que não atinjam espessura de leitura (MARGUÍ et al., 2022; RAVANSARI et al., 2020; RIBEIRO et al., 2021; TOWETT et al., 2016; WEINDORF et al., 2014; ZHOU et al., 2020). Visando atenuar esses efeitos, alguns trabalhos buscaram analisar amostras foliares secas, moídas e peneiradas (0,2 mm – 2 mm) (BORGES et al., 2020; KHAN et al., 2022; MCLAREN et al., 2012; TIGHE; FORSTER, 2014). Ao garantir a espessura de leitura, fortes correlações ( $R^2$ ) foram observadas com resultados obtidos por análise convencional via ICP-OES e ICP-MS para uma série de elementos como P, K, Ca, S, Mn, Fe, Cu e Zn. Mesmo que ainda não exista um consenso sobre o tamanho ideal de partícula, amostras preparadas em partículas mais finas apresentam melhores correlações comparado a amostras de maiores tamanhos (~2 mm) (ANTONANGELO; ZHANG, 2021; SAPKOTA et al., 2019). Utilizar material com menor tamanho de partícula pode garantir amostras mais homogêneas e representativas que promovam resultados mais acurados via pXRF (GUERRA et al., 2014; MARGUÍ et al., 2022; MARGUÍ; VAN GRIEKEN, 2013). Apesar de diversos trabalhos já terem sido realizados visando avaliar o preparo de amostras foliares para leitura via pXRF, poucos são os estudos que buscaram verificar as condições operacionais desses equipamentos para essa matriz.

Atualmente, existem poucos trabalhos que buscaram avaliar o desempenho desses equipamentos em analisar folhas intactas, tendo em vista que as condições de umidade e espessura da folha são um dos fatores mais críticos e limitantes para a obtenção de resultados

via pXRF (GUERRA et al., 2018; TURNER et al., 2018; ZHOU et al., 2020). Em estudos avaliando milho e cana, resultados recentes apontaram o potencial do equipamento em avaliar respostas a níveis de adubação de P diretamente em folhas intactas dessas espécies (DAO, 2017; MARCHI SOARES et al., 2021). No entanto, ainda se faz necessário o desenvolvimento de abordagens que permitam a avaliação de um maior número de elementos

Considerando a espessura da amostra como o fator mais limitante para a análise de folhas intactas (ZHOU et al., 2020), um estudo propôs a confecção de maços de folhas para a avaliação dos elementos K, Ca, Mn, Fe, Cu, Pb, Sr e Cd (MCGLADDERY et al., 2018). No entanto, devido à falta de controle sobre qual parte da folha estava sendo analisada assim como pela presença de ar entre as folhas do maço, fortes correlações foram obtidas apenas para Zn ( $R^2 = 0,86$ ) e Cu ( $R^2 = 0,77$ ), indicando que essa abordagem pode não ser adequada para a avaliação de muitos elementos. Ao utilizar uma pastilha irradiadora composta por sais de laboratório para garantir espessura infinita em folhas intactas de soja e determinar as concentrações de P, K, Ca, S, Mn, Fe, Cu e Zn, um trabalho conseguiu obter correlações positivas ( $R^2 = 0,42$  a  $0,86$ ) com resultados obtidos por análise convencional para a maioria dos elementos avaliados (COSTA JUNIOR et al., 2020). No entanto, devido à concentração dos sais de P e S contidas na pastilha, o uso dessa abordagem não permitiu a quantificação desses elementos nas amostras (VAN GRIEKEN; MARKOWICZ, 2001). A utilização de material inerte, como madeira e teflon, pode ser uma alternativa mais adequada para garantir espessura infinita de folhas intactas, tendo em vista que a composição desse tipo de material pode causar pouca ou nenhuma interferência nas amostras avaliadas (RIBEIRO et al., 2021).

Se os fatores limitantes relacionados ao uso de pXRF para análise de folhas intactas forem melhor compreendidos, diversas aplicações de uso do equipamento apresentam potencial de serem exploradas. Em um estudo recente foi verificada a eficiência de uso de pXRF como uma ferramenta para identificar a ocorrência de vírus em folhas intactas de plantas (PORFIDO et al., 2023). Essa associação foi possível devido à sensibilidade do equipamento em identificar alterações nas concentrações de alguns elementos como P, K e Ca em folhas intactas de plantas infectadas. O estresse biótico causado pelo vírus foi observado na homeostase desses nutrientes na planta, principalmente na razão entre a concentração de K:Ca (PORFIDO et al., 2023).

### 2.3. Algoritmos *machine learning* e dados de pXRF

Os equipamentos pXRF possibilitam a análise multielementar de diversos materiais de maneira rápida (POTTS et al., 2008; WEINDORF et al., 2014). Em poucos segundos, a concentração de diversos elementos de muitas amostras pode ser acessada. Dessa maneira, conjuntos de dados grandes e que refletem interações complexas são gerados por esses equipamentos. O uso de modelos estatísticos robustos é uma alternativa para atingir melhor aproveitamento do potencial de caracterização da matriz de interesse que os dados de pXRF podem oferecer (SINGH et al., 2022). A utilização de algoritmos *machine learning* pode possibilitar uma melhor manipulação de dados dessa natureza pois permite que diversas interações lineares e não lineares sejam observadas de maneira rápida (ANDRADE et al., 2021; DEISS et al., 2020; WANG et al., 2015).

Alguns dos algoritmos *machine learning* mais comumente empregados para dados obtidos via pXRF são o random forest (RF) e o support vector machine (SVM) (ANDRADE et al., 2023; ANDRADE et al., 2021; MANCINI et al., 2019; WANG et al., 2015). Ambos são classificados como algoritmos supervisionados, onde dados de entrada são necessários para que os modelos de predição sejam treinados com base nos resultados reais (CRISCI et al., 2012). RF é um algoritmo baseado em árvores de decisão e pode gerar modelos preditivos tanto para variáveis numéricas quanto para variáveis categóricas (BREIMAN, 2001). O SVM é um algoritmo que se baseia em encontrar um hiperplano que melhor se ajuste aos dados observados e, assim como o RF, também pode gerar modelos numéricos e categóricos (DEISS et al., 2020; VAPNIK et al., 1999).

Nos últimos anos, diversos trabalhos envolvendo o uso de pXRF buscaram utilizar esses e outros algoritmos *machine learning* para prever diversos atributos de interesse. Para matrizes de solo, a utilização desses algoritmos se mostrou eficiente em prever o material de origem (MANCINI et al., 2019) textura (PIERANGELI et al., 2023) e atributos de fertilidade (ANDRADE et al., 2021; ANDRADE et al., 2020; BENEDET et al., 2021; MANCINI et al., 2022; PELEGRINO et al., 2019; TOWETT et al., 2020). Esses algoritmos podem permitir a predição até mesmo de elementos que não são diretamente determinados pela técnica de XRF, como C e N (WANG et al., 2015). Em matrizes foliares, apenas um trabalho até o momento buscou avaliar o uso dessa abordagem para prever o status nutricional e diferenciar clones de eucalipto utilizando amostras foliares secas e moídas (ANDRADE et al., 2023). Apesar de bons modelos de predição terem sido obtidos para elementos como P, K, Ca, S, Cu, Fe, Mn e Zn,

ainda não foram alcançadas boas predições para as concentrações de N, Mg e B (ANDRADE et al., 2023). Além disso, também não foi verificado o potencial de uso desses algoritmos para prever o status nutricional de plantas por meio de resultados obtidos diretamente em folhas intactas.

## REFERÊNCIAS

- ADAMCHUK, V. et al. Proximal soil and plant sensing. **Precision agriculture basics**, p. 119-140, 2018.
- ANDRADE, R. et al. A Proximal Sensor-Based Approach for Clean, Fast, and Accurate Assessment of the Eucalyptus spp. Nutritional Status and Differentiation of Clones. **Plants**, v. 12, n. 3, p. 561, 2023.
- ANDRADE, R. et al. Micronutrients prediction via pXRF spectrometry in Brazil: Influence of weathering degree. **Geoderma Regional**, v. 27, p. e00431, 2021.
- ANDRADE, R. et al. Prediction of soil fertility via portable X-ray fluorescence (pXRF) spectrometry and soil texture in the Brazilian Coastal Plains. **Geoderma**, v. 357, p. 113960, 2020.
- ANTONANGELO, J.; ZHANG, H. Soil and Plant Nutrient Analysis with a Portable XRF Probe Using a Single Calibration. **Agronomy**, v. 11, n. 11, p. 2118, 2021.
- BAENSCH, T. A.; INNOV-X, Olympus. Field Portable XRF for Modern Exploration Programs. **Deep Exploration Technologies Commonwealth Research Cooperative (DET CRC)**, 2011.
- BARBEDO, J. G. A. Detection of nutrition deficiencies in plants using proximal images and machine learning: A review. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 162, p. 482-492, 2019.
- BENEDET, L. et al. Rapid soil fertility prediction using X-ray fluorescence data and machine learning algorithms. **Catena**, v. 197, p. 105003, 2021.

BORGES, C. S. et al. Foliar elemental analysis of Brazilian crops via portable X-ray fluorescence spectrometry. **Sensors**, v. 20, n. 9, p. 2509, 2020.

BRACKE, J. et al. Application of proximal optical sensors to fine-tune nitrogen fertilization: Opportunities for woody ornamentals. **Agronomy**, v. 9, n. 7, p. 408, 2019b.

BRACKE, J. et al. Utility of proximal plant sensors to support nitrogen fertilization in *Chrysanthemum*. **Scientia Horticulturae**, v. 256, p. 108544, 2019a.

BREIMAN, L. Random forests. **Machine learning**, v. 45, p. 5-32, 2001.

COSTA JUNIOR, G. T. et al. Direct determination of mineral nutrients in soybean leaves under vivo conditions by portable X-ray fluorescence spectroscopy. **X-Ray Spectrometry**, v. 49, n. 2, p. 274-283, 2020.

CRISCI, C. et al. A review of supervised machine learning algorithms and their applications to ecological data. *Ecological Modelling*, v. 240, p. 113-122, 2012.

CUBERO, S. et al. Robhortic: A field robot to detect pests and diseases in horticultural crops by proximal sensing. **Agriculture**, v. 10, n. 7, p. 276, 2020.

CUNHA, M. L. P. et al. Diagnosis of the nutritional status of garlic crops. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, 2016.

DAMM, A. et al. Remote sensing of plant-water relations: An overview and future perspectives. **Journal of plant physiology**, v. 227, p. 3-19, 2018.

DAO, T. H. Sensing soil and foliar phosphorus fluorescence in *Zea mays* in response to large phosphorus additions. **Precision agriculture**, v. 18, n. 5, p. 685-700, 2017.

DEISS, L. et al. Tuning support vector machines regression models improves prediction accuracy of soil properties in MIR spectroscopy. **Geoderma**, v. 365, p. 114227, 2020.

DEZORDI, L. R. et al. Diagnostic methods to assess the nutritional status of the carrot crop. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, 2016.

FENG, X. et al. X-ray fluorescence application in food, feed, and agricultural science: a critical review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 61, n. 14, p. 2340-2350, 2021.

GALLHOFER, D.; LOTTERMOSER, B. G. The influence of spectral interferences on critical element determination with portable X-ray fluorescence (pXRF). **Minerals**, v. 8, n. 8, p. 320, 2018.

GHOLIZADEH, A.; KOPAČKOVÁ, V. Detecting vegetation stress as a soil contamination proxy: A review of optical proximal and remote sensing techniques. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 5, p. 2511-2524, 2019.

GUERRA, M. B. B. et al. Comparison of analytical performance of benchtop and handheld energy dispersive X-ray fluorescence systems for the direct analysis of plant materials. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 29, n. 9, p. 1667-1674, 2014.

GUERRA, M. B. B. et al. In situ determination of K, Ca, S and Si in fresh sugar cane leaves by handheld energy dispersive X-Ray fluorescence spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, p. 1086-1093, 2018.

ISAAC, R. A.; JOHNSON JR, W.C. Elemental determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. In: **Handbook of reference methods for plant analysis**. CRC press, 2019. p. 165-170.

KASPARY, T. E. et al. Nondestructive analysis of photosynthetic pigments in forage radish and vetch. **Revista Ceres**, v. 67, p. 424-431, 2020.

KHAN, W. A. et al. Using portable X-ray fluorescence spectroscopy for inexpensive and quick determination of micronutrients in barley shoots. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 53, n. 11, p. 1379-1384, 2022.

KIKONGI, P. et al. Curve-fitting regression: improving light element quantification with XRF. **X-Ray Spectrometry**, v. 46, n. 5, p. 347-355, 2017.

LICHTENTHALER, H. K. et al. Chlorophyll fluorescence kinetics, photosynthetic activity, and pigment composition of blue-shade and half-shade leaves as compared to sun and shade leaves of different trees. **Photosynthesis research**, v. 117, n. 1, p. 355-366, 2013.

MANCINI, M. et al. Parent material distribution mapping from tropical soils data via machine learning and portable X-ray fluorescence (pXRF) spectrometry in Brazil. **Geoderma**, v. 354, p. 113885, 2019.

MANCINI, M. et al. Proximal sensor data fusion for Brazilian soil properties prediction: Exchangeable/available macronutrients, aluminum, and potential acidity. **Geoderma Regional**, v. 30, p. e00573, 2022.

MARCHI SOARES, T. et al. Phosphorus Quantification in Sugar Cane (*Saccharum officinarum*) Leaves In Vivo by Portable X-ray Fluorescence Spectroscopy. **ACS Agricultural Science & Technology**, v. 1, n. 5, p. 479-487, 2021.

MARGUÍ, E. et al. X-ray fluorescence spectrometry for environmental analysis: Basic principles, instrumentation, applications and recent trends. **Chemosphere**, p. 135006, 2022.

MARGUÍ, E.; VAN GRIEKEN, R. State-of-the-art X-ray Fluorescence Instrumentation for Chemical Analysis. **Petro Industry News**, v. 1, n. 01, 2013.

MCGLADDERY, C. et al. Elemental assessment of vegetation via portable X-ray fluorescence (PXRF) spectrometry. **Journal of Environmental Management**, v. 210, p. 210-225, 2018.

MCLAREN, T. I et al. A rapid and nondestructive plant nutrient analysis using portable X-ray fluorescence. **Soil Science Society of America Journal**, v. 76, n. 4, p. 1446-1453, 2012.

MILLER, R. O. Nitric-perchloric acid wet digestion in an open vessel. In: **Handbook of reference methods for plant analysis**. CRC press, p. 57-61. 2019.

MUÑOZ-HUERTA, R. F. et al. A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: advantages, disadvantages and recent advances. **Sensors**, v. 13, n. 8, p. 10823-10843, 2013.

MUSTAFA, G. et al. How and why to prevent over fertilization to get sustainable crop production. In: **Sustainable Plant Nutrition**. Academic Press, 2023. p. 339-354.

NEWLANDER, K. et al. Empirical study of the effect of count time on the precision and accuracy of pXRF data. **Journal of Archaeological Science: Reports**, v. 3, p. 534-548, 2015.

PALLOTTINO, F. et al. Optoelectronic proximal sensing vehicle-mounted technologies in precision agriculture: A review. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 162, p. 859-873, 2019.

PAMPURI, A. et al. Optical specifications for a proximal sensing approach to monitor the vine water status in a distributed and autonomous fashion. **Biosystems Engineering**, v. 212, p. 388-398, 2021.

PELEGRINO, M. H. P. et al. Synthesis of proximal sensing, terrain analysis, and parent material information for available micronutrient prediction in tropical soils. **Precision Agriculture**, v. 20, p. 746-766, 2019.

PIERANGELI, L. M. P. et al. Combining Proximal and Remote Sensors in Spatial Prediction of Five Micronutrients and Soil Texture in a Case Study at Farmland Scale in Southeastern Brazil. **Agronomy**, v. 12, n. 11, p. 2699, 2022.

PORFIDO, C. et al. Combining micro-and portable-XRF as a tool for fast identification of virus infections in plants: The case study of ASa-Virus in *Fraxinus ornus* L. **Talanta**, p. 124680, 2023.

POTTS, P. J. Introduction, analytical instrumentation and application overview. **Portable X-ray fluorescence spectrometry: Capabilities for in situ analysis**, p. 1-12, 2008.

RAVANSARI, R. et al. Portable X-ray fluorescence for environmental assessment of soils: Not just a point and shoot method. **Environment International**, v. 134, p. 105250, 2020.

RIBEIRO, B. T. et al. Foliar analysis via portable X-ray fluorescence spectrometry: Experimental considerations. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 186, p. 106320, 2021.

RIBEIRO, B. T. et al. Portable X-ray fluorescence (pXRF) applications in tropical Soil Science. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, p. 245-254, 2017.

RINCHEVAL, M. Biogeochemical mapping of metal contamination from mine tailings using field-portable XRF. **Science of the Total Environment**, v. 662, p. 404-413, 2019.

ROSLIM, M. H. M. et al. Using remote sensing and an unmanned aerial system for weed management in agricultural crops: A review. **Agronomy**, v. 11, n. 9, p. 1809, 2021.

SAPKOTA, Y. et al. Portable X-ray fluorescence spectroscopy for rapid and cost-effective determination of elemental composition of ground forage. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 317, 2019.

SILVA, A.-C. et al. Portable x-ray fluorescence calibrations: Workflow and guidelines for optimizing the analysis of geological samples. **Chemical Geology**, v. 623, p. 121395, 2023.

SILVA, S. H. G. et al. pXRF in tropical soils: Methodology, applications, achievements and challenges. **Advances in Agronomy**, v. 167, p. 1-62, 2021.

SINGH, V.K. et al. Application of X-ray fluorescence spectrometry in plant science: Solutions, threats, and opportunities. **X-Ray Spectrometry**, v. 51, n. 3, p. 304-327, 2022.

TIGHE, M.; FORSTER, N. Rapid, nondestructive elemental analysis of tree and shrub litter. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 45, n. 1, p. 53-60, 2014.

TOWETT, E. K. et al. Comprehensive nutrient analysis in agricultural organic amendments through non-destructive assays using machine learning. **Plos one**, v. 15, n. 12, p. e0242821, 2020.

TOWETT, E. K. et al. Plant elemental composition and portable X-ray fluorescence (pXRF) spectroscopy: quantification under different analytical parameters. **X-Ray Spectrometry**, v. 45, n. 2, p. 117-124, 2016.

TUCCIO, L. et al. Monitoring nitrogen variability in two Mediterranean ornamental shrubs through proximal fluorescence-based sensors at leaf and canopy level. **Scientia Horticulturae**, v. 294, p. 110773, 2022.

TURNER, A. Application of field-portable-XRF for the determination of trace elements in deciduous leaves from a mine-impacted region. **Chemosphere**, v. 209, p. 928-934, 2018.

USEPA 6200. Field Portable X-Ray Fluorescence Spectrometry for the Determination of Elemental Concentrations in Soil and Sediment. **US Environmental Protection Agency, Method 6200**, 1, 1–32. 2007.

VAN GRIEKEN, R.; MARKOWICZ, A. (Ed.). **Handbook of X-ray Spectrometry**. CRC press, 2001.

VAPNIK, V. The nature of statistical learning theory. **Springer science & business media**, 1999.

VEJAN, P. et al. Controlled release fertilizer: A review on developments, applications and potential in agriculture. **Journal of Controlled Release**, v. 339, p. 321-334, 2021.

WANG, D. et al. Synthesized use of VisNIR DRS and PXRF for soil characterization: Total carbon and total nitrogen. **Geoderma**, v. 243, p. 157-167, 2015.

WEINDORF, D. C. et al. Advances in portable X-ray fluorescence (PXRF) for environmental, pedological, and agronomic applications. **Advances in agronomy**, v. 128, p. 1-45, 2014.

WEST, M. et al. 2013 Atomic spectrometry update—a review of advances in X-ray fluorescence spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 28, n. 10, p. 1544-1590, 2013.

YAN, Z. et al. Phosphorus in China's intensive vegetable production systems: overfertilization, soil enrichment, and environmental implications. **Journal of Environmental Quality**, v. 42, n. 4, p. 982-989, 2013.

ZHANG, J. et al. Monitoring plant diseases and pests through remote sensing technology: A review. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 165, p. 104943, 2019.

ZHOU, S. et al. Elemental assessment of vegetation via portable X-ray fluorescence: sample preparation and methodological considerations. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 174, p. 105999, 2020.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

**ARTIGO 1****Artigo formatado nas normas da revista Chemosphere****TOWARDS DIRECT AND ECO-FRIENDLY ANALYSIS OF PLANTS USING PORTABLE X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY: A METHODOLOGICAL APPROACH**

Marcela Vieira da Costa<sup>1</sup>, Geraldo Jânio de Oliveira Lima<sup>2</sup>, Luiz Roberto Guimarães Guilherme<sup>1</sup>, Marco Aurélio Carbone Carneiro<sup>1</sup>, Bruno Teixeira Ribeiro<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Department of Soil Science, Federal University of Lavras, Lavras 37200000, Brazil

<sup>2</sup> Environmental and Technological Agricultural Center, – Campo, Paracatu, 38606026, Brazil

✉ Corresponding author: [brunoribeiro@ufla.br](mailto:brunoribeiro@ufla.br)

**ABSTRACT**

The assessment of nutritional status of plants is traditionally performed by wet-digestion methods using oven-dried and ground samples. This process requires sampling, takes time, and it is non-environmentally friendly. Agricultural and environmental science have been greatly benefited by in-field, ecofriendly methods, and real-time measurements. This work employed the portable X-ray fluorescence spectrometry (pXRF) to analyze intact and fresh leaves of crops aiming to assess the effect of water content and leaf surface (adaxial and abaxial) on pXRF results. Also, pXRF data were used to predict the real concentration of macro- and micronutrients. Eight crops (bean, castor plant, coffee, eucalyptus, guava tree, maize, mango, and soybean) with contrasting water contents were used. Intact leaf fragments (~ 2x2 cm), fresh or oven-dried (60 °C) were obtained to be analyzed via pXRF on both adaxial and abaxial surface. Conventional wet-digestion method was also performed on powdered material to obtain the concentration of macro- and micronutrients via ICP-OES. The data were subjected to descriptive statistics, principal component analysis (PCA) and random forest (RF) algorithm regression. RF was used to predict the real concentration of macro- and micronutrients based on pXRF measurements obtained directly on intact leaves. Water content had a significant effect on pXRF results. However, a positive correlation between the concentration of macro- and micronutrients obtained via pXRF directly on intact leaves and conventional analysis performed on powdered samples was obtained. PCA analysis allowed a clear differentiation of

crops based on elemental composition. The concentrations of macro- and micronutrients were very accurately predicted via RF. Even elements not detected by pXRF (N and B) were satisfactorily predicted. From this pilot study, it is possible to conclude that pXRF is feasible for in-field assessment of nutritional status of plants. Further studies are needed to obtain specific and robust calibrations for each crop.

**Keywords:** proximal sensors, machine learning, plant nutrition.

## 1 INTRODUCTION

Portable X-ray fluorescence spectrometry (pXRF) has been extensively and successfully employed for characterization of different earth-materials worldwide, mainly for soil analysis (Silva et al., 2021; Weindorf et al., 2014, Xie et al., 2023). Compared to conventional and standardized methods, pXRF has shown high accuracy, allowing fast, eco-friendly, and multi-elemental analysis in-situ or ex-situ conditions (Andrade et al., 2023; Faria et al., 2021; Ravansari et al., 2020; Ribeiro et al., 2017; Silva et al., 2021). The foliar analysis via pXRF is also really promising, mainly using dry, ground and/or powder samples (Andrade et al., 2023; Borges et al., 2020; Costa Junior et al., 2020; Towet et al., 2016; Zhou et al., 2020).

Under laboratory conditions, the foliar analysis via pXRF using oven-dried and ground material has been very well correlated to conventional methods (*e.g.*, nitro-perchloric digestion followed by ICP-OES quantification) (Andrade et al., 2023; Borges et al., 2020; Towet et al., 2016; Zhou et al., 2020). This can be considered a great advance for ecofriendly characterization of plants, eliminating the use of chemical reagents and generation of hazardous residues.

The direct analysis of plants leaves via pXRF on intact and fresh leaves can contribute greatly to real-time assessment of nutritional status. In a few seconds, pXRF can reveal simultaneously the concentration of macro-and micronutrients, and potential toxic elements. However, in-situ analysis of fresh and intact plant leaves is hampered by some factors: i) just one single leaf is too thin, and the infinite thickness needed for pXRF analysis is not reached (Margu  et al., 2022; Ribeiro et al., 2021; Zhou et al., 2020); ii) water content causes the scattering of X-rays underestimating the pXRF results (Ribeiro et al., 2021; Zhou et al., 2020); and iii) small-scale variability of the elements (Guerra et al., 2018). Infinite thickness is important for pXRF analysis guaranteeing that the critical penetration depth (CPD) is reached (Ribeiro et al., 2021; Zhou et al., 2020). CPD corresponds to a given depth from which the X-

ray fluorescence is not detected. CPD depends on photon energy, sample density and mass attenuation coefficient. At least 3 cm thickness seems to be adequate for analysis of plant materials via pXRF (Rincheval et al., 2019; Zhou et al., 2020). Also, the infinite thickness has a safety precaution importance. The pXRF instruments discontinue the X-ray emission in the absence of a sample on the X-ray window or due to a presence of a thin sample. To overcome this issue, McGladdery et al. (2018) proposed the use of a bundle of leaves placed on X-ray window and detector aperture. Although the infinite thickness was reached, in this condition there is not a complete control about what exactly leaf is being analyzed. Also, the presence of air between leaves in the bundle could influence the results (Adams et al., 2020).

Even with some difficulties to analyze intact and fresh leaves via pXRF, it is expected a significant correlation between the fluorescence energy of a given element and its real concentration obtained via conventional wet-digestion methods (Guerra et al., 2018; McGladdery et al., 2018; Ribeiro et al., 2021). Also, it was hypothesized that the pXRF data obtained directly on intact and fresh leaves submitted to *machine learning* regression can successfully predict the real concentration of macro- and micronutrients. This hypothesis is based on synergistic and antagonistic interaction between plant nutrients (Fageria, 2001; Fan et al., 2021; Riedell, 2010; Rietra et al., 2017; Wyszowski and Brodowska, 2020). This approach was successfully demonstrated for oven-dried and ground *Eucalyptus* leaves (Andrade et al., 2023). Both macro- and micronutrients were successfully predicted using pXRF data and random forest regression (Andrade et al., 2023). To date, the prediction of real concentration of macro- and micronutrients using intact and fresh leaves was not tested yet.

This work brings an approach to analyze several single intact leaf fragments from different crops in order to reach the following goals: i) to assess the effect of water content on pXRF results; ii) to assess the effect of analyzed leaf surface (adaxial or abaxial) on pXRF results; iii) to predict the real concentration of macro (N, P, K, Ca, Mg, and S) and micronutrients (B, Cu, Fe, Mn and Zn) using pXRF data combined to *machine learning* algorithm using intact and fresh leaves.

## 2 MATERIAL AND METHODS

### 2.1 Preparation of plant materials

For this work, eight crops with contrasting water content and anatomy were selected: bean (*Phaseolus vulgaris*), castor plant (*Ricinus communis*), coffee (*Coffea arabica*), eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), guava tree (*Psidium guajava*), maize (*Zea mays* L.), mango (*Mangifera indica*), and soybean (*Glycine max*). These crops have been cultivated in Lavras, Minas Gerais State, Southern of Brazil. For each crop, health diagnostic plant leaves (Ribeiro et al., 1999) were randomly collected in the field. In the laboratory, the leaves were carefully washed with distilled water and gently dried using a cotton ball. Based on visual color and appearance, five homogenous leaves were selected for each crop. From each leaf, one fragment (approximately 2 cm x 2 cm) was obtained using a stainless surgical knife. The remaining plant material was used to determine the water content according to Jin et al. (2017) (equation 1), and a sub-sample was oven-dried (60° C), macerated in mortar agate using liquid N<sub>2</sub> and passed through a 150µm nylon mesh in order to obtain a powdered material. The water content (%) of each crop was: bean (83), castor plant (75), coffee (71), eucalyptus (59), guava tree (61), maize (79), mango (55), and soybean (80).

$$W = \left( \frac{W_{\text{wet}} - W_{\text{dry}}}{W_{\text{wet}}} \right) \cdot 100 \quad \text{Eq. 1} \quad \text{Eq. 1}$$

Where: W is the water content (%); W<sub>wet</sub> is the mass (g) of fresh plant leaves; and W<sub>dry</sub> is the correspondent mass (g) of complete oven-dried (60° C) sample.

### 2.2 pXRF instrument

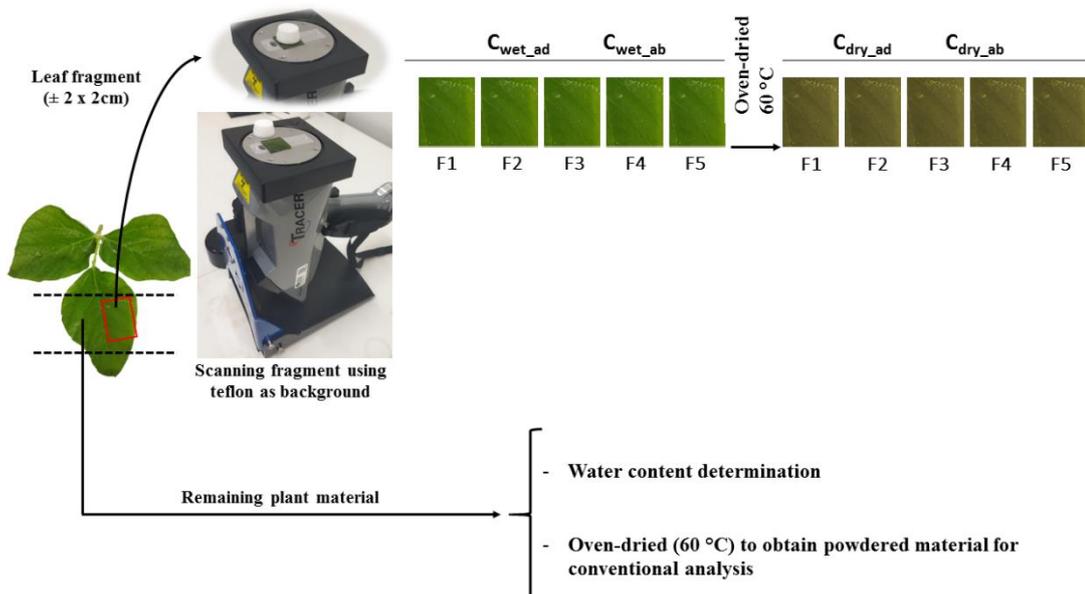
In this study, it was employed a pXRF Bruker® Tracer 5g model containing the following features: Rh tube as X-ray source (6-50 keV); 4.5-195 µA; maximum 4W output; silicon drift detector with 1 µm graphene window; resolution < 140 eV. For pXRF measurements, the manufactured calibration Plant F1 was used. For quality assurance and control (QA/QC), the Bruker® plant check sample and four certified referenced material (CRM) from National Institute of Standards and Technology (<https://www.nist.gov/>) were analyzed: NIST 1515 apple leaves, NIST 1547 peach leaves, NIST 1573a tomato leaves, and NIST 1575a pine needles. Additionally, an internal standard prepared from soybean leaves was

analyzed. The mean obtained recoveries [(pXRF concentration/certified value).100] were: P (93%), K (93%), Ca (93%), Mg (41%), S (90%), Fe (156%), Cu (187%), Mn (140%), and Zn (139%).

### 2.3 pXRF measurements

Immediately after plant collection and preparation of the fragments, the pXRF measurements were performed in duplicate on both adaxial and abaxial surface for 40 s. The fresh fragments were placed on X-ray aperture and detector window, and a small piece of Teflon was placed on the fragments as suggested by Ribeiro et al. (2021) (Figure S1). Since just one plant leaf is thin, the Teflon worked as a chemically inert object assuring the infinite thickness needed for pXRF analysis. Also, as a safety feature of the instrument, during each pXRF screening, the X-ray count-rate is continuously monitored. If the count-rate drops below the allowable threshold, as it would in the absence of a sample or presence of a thin sample, X-ray generation discontinues, minimizing potential exposure. The Teflon was previously analyzed and very low concentrations ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) of only three elements were found: Ca (18); Cu (1) and Zn (1). All fragments were oven-dried ( $60^\circ\text{C}$ ) and screened again following the same procedure described above. After pXRF measurements, fifteen elements were identified and quantified: Al, Br, Ca, Cl, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S, Si, Sr, Zn.

Figure S1 - Experimental setup adopted in the present study to assess both adaxial and abaxial leaf surfaces of plants using portable X-ray fluorescence spectrometry.



## 2.4 Conventional analysis

The powdered samples were wet digested following the nitro-perchloric method (Miller, 1998; Malavolta et al., 1997). A sub-sample (0.5 g) were transferred to 50-mL glass digestion tubes and added 6 mL of acid solution ( $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$  2:1 v/v). The samples were digested using a heating block digestion system (Borges et al., 2020). After digestion, the samples were rested for cooling under laboratory conditions until reach room temperature (22-24° C). Afterward, the samples were transferred to 50-mL volumetric flasks. This procedure was followed by making up to volume with ultrapure water. The concentrations of macro (P, K, Ca, Mg, and S) and micronutrients (B, Fe, Cu, Mn and Zn) were obtained using a Ciro Vision ICP-OES (Spectro Analytical Instruments Inc., Kleve, Germany). N was determined according to Kjeldahl digestion method (Kjeldahl, 1883; Malavolta, 1997).

## 2.5 Summary of experimental conditions

After all determinations, the following experimental conditions were obtained:

- $C_{\text{wet\_ad}}$  and  $C_{\text{dry\_ad}}$ : concentration obtained for adaxial surface in fresh and oven-dried conditions, respectively.
- $C_{\text{wet\_ab}}$  and  $C_{\text{dry\_ab}}$ : concentration obtained for abaxial surface in fresh and oven-dried conditions, respectively.
- $C_{\text{conventional}}$
- $C_{\text{wet}}/C_{\text{conventional}}$  ratio

## 2.6 Statistical analysis

### 2.6.1 Exploratory analysis

All statistical analyzes were performed using R software version 4.2.0 (R Development Core Team, 2022). The concentrations of macro- and micronutrients obtained via conventional analysis and all pXRF data were subjected to descriptive statistics in order to obtain the following parameters: minimum, maximum, mean, standard deviation (s.d.) and coefficient of variation (cv). Analysis of variance (ANOVA) was performed to assess the effect of leaf surface (adaxial or abaxial) and water content of crops on pXRF results, using the generalized least squares (GLS) method and “nlme” package version 3.1-157 (Pinheiro et al., 2022). Comparisons of analyzed leaf surfaces and water content for all crops were displayed using

boxplots. Principal component analysis (PCA) was performed using  $C_{wet}$ ,  $C_{dry}$ ,  $C_{conventional}$ ,  $C_{wet}/C_{conventional}$  ratio, and water content in order to: i) display the correlations between pXRF and conventional method; ii) assess the effect of water content; and iii) to differentiate crops. PCA was run using the packages “*vegan*” version 2.6-2 (Oksanen et al., 2022) and “*ggplot2*” version 3.4.0 (Wickham, 2016).

### 2.6.2 Modelling

The real concentrations of macro- (N, P, K, Ca, Mg, and S) and micronutrients (B, Fe, Cu, Mn, and Zn) were predicted via random forest (RF) *machine learning* algorithm regression. For that, all pXRF data were considered resulting in 160 observations. Randomly, the data were split into calibration dataset (70%) and validation dataset (30%) using “*caret*” package version 6.0-92 (Kuhn, 2022). The package “*Boruta*” version 8.0.0 (Miron et al., 2010) was used to classify and eliminate the elements that were not important for modelling as: confirmed (important for modelling); tentative (without impact on modelling); and rejected (unimportant) (Andrade et al., 2023). Two predictive models were obtained using pXRF data: i) WET; and ii) DRY. WET and DRY models considered all pXRF data (adaxial and abaxial surface) for fresh and dry conditions, respectively. RF analysis was performed using “*randomforest*” package version 4.7-1.1 (Liaw and Wiener, 2002) considering the following parameters: number of trees of the model (ntrees) = 500; nodesize was set to default; the mtry was defined for each model according the smallest RMSE, the metric was obtained using the *train* () function of the *caret* package. The accuracy of the models was assessed by the coefficient of determination ( $R^2$ ), root mean square error (RMSE) (Eq. 2), mean absolute error (MAE) (Eq. 3), and residual prediction deviation (RPD) (Eq. 4). RPD values can be classified as:  $RPD > 2$  (accurate prediction);  $1.4 \leq RPD \leq 2$  (moderate prediction); and  $RPD < 1.4$  (non-reliable prediction) (Chang et al., 2001). Figure S2 brings a summary of the statistical procedure adopted.

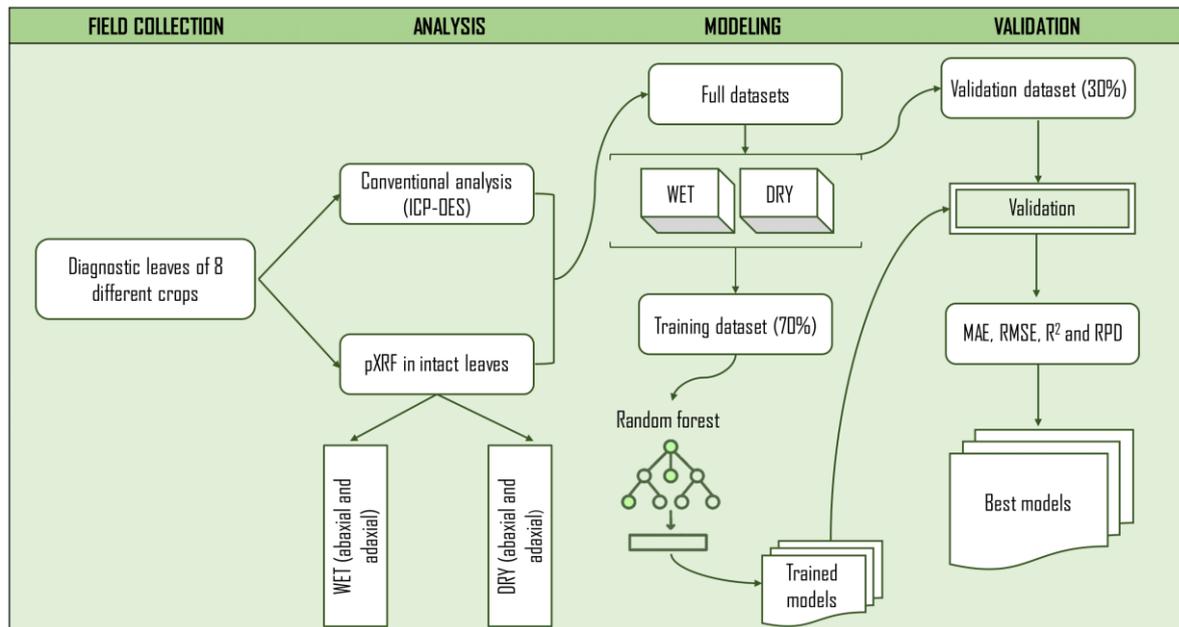
$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - m_i)^2} \quad (2)$$

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |y_i - m_i| \quad (3)$$

$$RPD = SD/RMSE \quad (4)$$

where,  $n$ : number of observations,  $y_i$ : predicted value,  $m_i$ : observed value, SD: standard deviation of the observed values.

Figure S2 - Summary of statistical procedure adopted to predict macro- and micronutrients using pXRF data.



### 3 RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1 General description of data

Table 1 shows the descriptive statistic of the concentrations obtained via pXRF on intact and fresh leaves ( $C_{wet}$ ), intact and dry leaves ( $C_{dry}$ ), and those obtained via conventional method ( $C_{conventional}$ ). Fifteen elements (Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, and Sr) were identified and quantified via pXRF in both wet and dry conditions. High standard deviation and coefficient variation values are expected since the dataset reflects the elemental composition of different plant materials from different conditions (Borges et al., 2020). The highest variation was observed for the micronutrients and non-essential elements, as also previously observed by Andrade et al. (2023) assessing the nutritional status of *Eucalyptus* clones via pXRF. Also, the highest variation of data was observed for  $C_{wet}$  condition, except for K, Mn, Cu, Zn, and Br. Based on  $C_{conventional}$ , the concentrations of macro- and micronutrients are within the expected range for plants (Epstein and Bloom, 2005). For all elements,  $C_{wet}$  is lower than  $C_{dry}$  and  $C_{conventional}$ . Based on ANOVA, a significant effect of water on pXRF results were observed

(Table 2). Water content causes the scattering of X-rays underestimating the pXRF results (Costa Junior et al., 2020; McGladdery et al., 2018; Ribeiro et al., 2021; Zhou et al., 2020). This effect is more pronounced for low-Z elements (Ribeiro et al., 2021). As can be seen in Figure 1, P (Z=15) and S (Z=16) were significantly influenced by water content.

For all crops, the analyzed surface (adaxial or abaxial) did not influence significantly the pXRF results (Table 2 and Figure 1), corroborating previous studies with Spinach and Poast Oak leaves (Ribeiro et al., 2021). This result suggests that in field conditions either surfaces adaxial or abaxial can be analyzed via pXRF.

Table 1 - Descriptive statistics of elemental composition obtained via portable X-ray fluorescence spectrometry (pXRF) on intact and fresh leaves ( $C_{wet}$ ), intact and oven-dried leaves ( $C_{dry}$ ), and conventional analysis ( $C_{conventional}$ ) performed on air-dried and powdered samples.

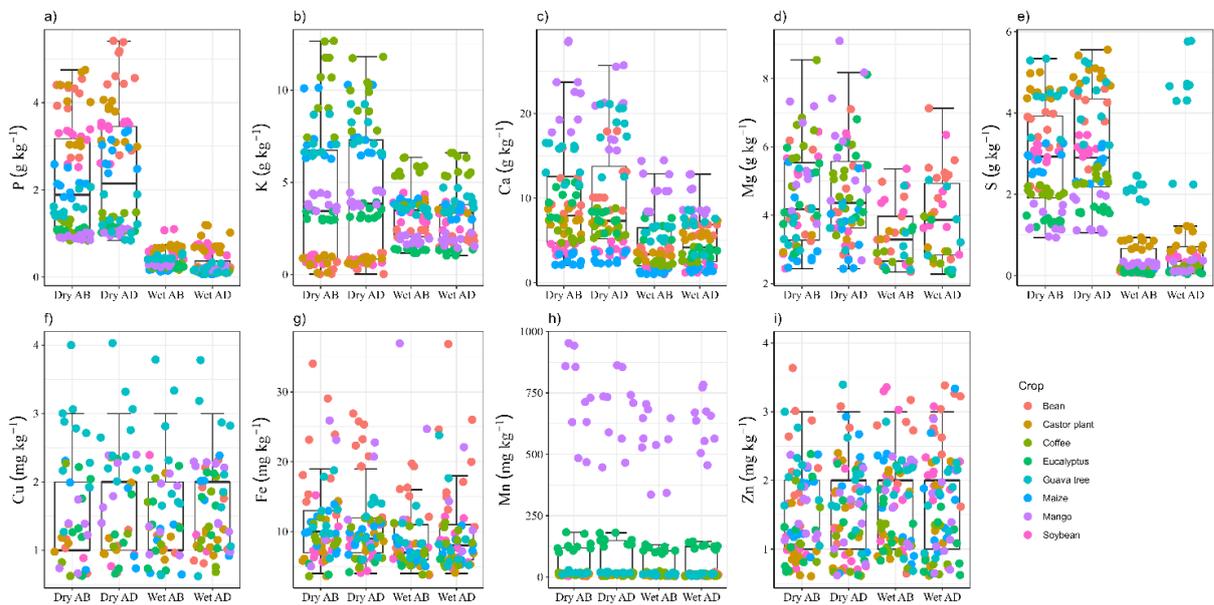
Parameter	N (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Al (g kg <sup>-1</sup> )	Si (g kg <sup>-1</sup> )	P (g kg <sup>-1</sup> )	S (g kg <sup>-1</sup> )	Cl (g kg <sup>-1</sup> )	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	B (mg kg <sup>-1</sup> )	Cr (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	Br (mg kg <sup>-1</sup> )	Sr (mg kg <sup>-1</sup> )
<b>pXRF - <math>C_{wet}</math></b>																	
Min.	nd	< LOD	< LOD	< LOD	0.07	< LOD	< LOD	1.03	1.05	nd	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	1	< LOD	< LOD
Max.	nd	7.13	4.21	83.96	1.19	5.77	4.09	6.6	14.49	nd	11	784	37	4	4	4	10
Mean	nd	1.59	0.28	11.31	0.34	0.62	0.71	3.16	4.72	nd	4.2	93.63	7.42	0.94	2.62	0.34	1.54
s.d.	nd	1.99	0.71	20.59	0.24	1.13	0.92	1.36	3.09	nd	2.6	196.28	6.75	0.93	0.76	0.87	2.42
cv(%)	nd	124.9	253.16	182.03	72	181.93	128.41	43.11	65.52	nd	61.85	209.62	90.96	99.51	28.91	253.73	157.19
<b>pXRF - <math>C_{dry}</math></b>																	
Min.	nd	< LOD	< LOD	< LOD	0.84	0.93	< LOD	< LOD	2.11	nd	< LOD						
Max.	nd	9.1	2.51	97.4	5.42	5.55	6.23	12.67	28.61	nd	9	953	34	4	5	3	12
Mean	nd	3.72	0.44	13.09	2.3	2.97	1.23	4.25	9.76	nd	4.86	110.62	9.22	0.8	2.48	0.26	2.21
s.d.	nd	2.21	0.67	23.5	1.31	1.26	1.5	3.55	6.35	nd	2.06	233.18	6.79	0.99	0.77	0.75	2.96
cv(%)	nd	59.52	151.55	179.48	56.68	42.33	121.72	83.61	65.04	nd	42.36	210.79	73.62	124.29	30.89	289.16	134.01
<b><math>C_{conventional}</math></b>																	
Min.	14.49	3.84	nd	nd	1.65	1.26	nd	8.66	9.77	4.5	nd	48	98	13.03	42	nd	nd
Max.	44.05	10.87	nd	nd	7.69	8.59	nd	42.13	54.61	59.5	nd	1259	205	34.78	145	nd	nd
Mean	25.94	6.18	nd	nd	4.33	3.15	nd	28.33	31.75	26.31	nd	374.62	160.5	21.45	75.75	nd	nd
s.d.	10.85	2.27	nd	nd	2.12	2.36	nd	13.19	14.83	20.83	nd	455.29	47.13	6.88	34.67	nd	nd
cv (%)	41.81	36.79	nd	nd	48.8	74.89	nd	46.54	46.71	79.17	nd	121.53	29.36	32.05	45.77	nd	nd

Min: minimum value; Max: maximum value; s.d.: standard deviation; cv: coefficient of variation; nd: not determined; < LOD: limit of detection.

Table 2 - Significance of analysis of variance (ANOVA) for concentrations of macro (P, K, Ca, Mg, and S) and micronutrients (Cu, Fe, Mn, and Zn) using portable X-ray fluorescence spectrometry (pXRF) influenced by analyzed surface (adaxial or abaxial) and water content.

Factor	p value								
	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
Surface	0.747	0.2384	0.7461	0.6513	0.3852	0.0664	0.3123	0.3358	0.874
Water	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0092	<0.0001	0.0032	0.0345

Figure 1 - Effect of water content (dry versus wet) and analyzed surface (adaxial – AD versus abaxial – AB) on pXRF results for each crop.

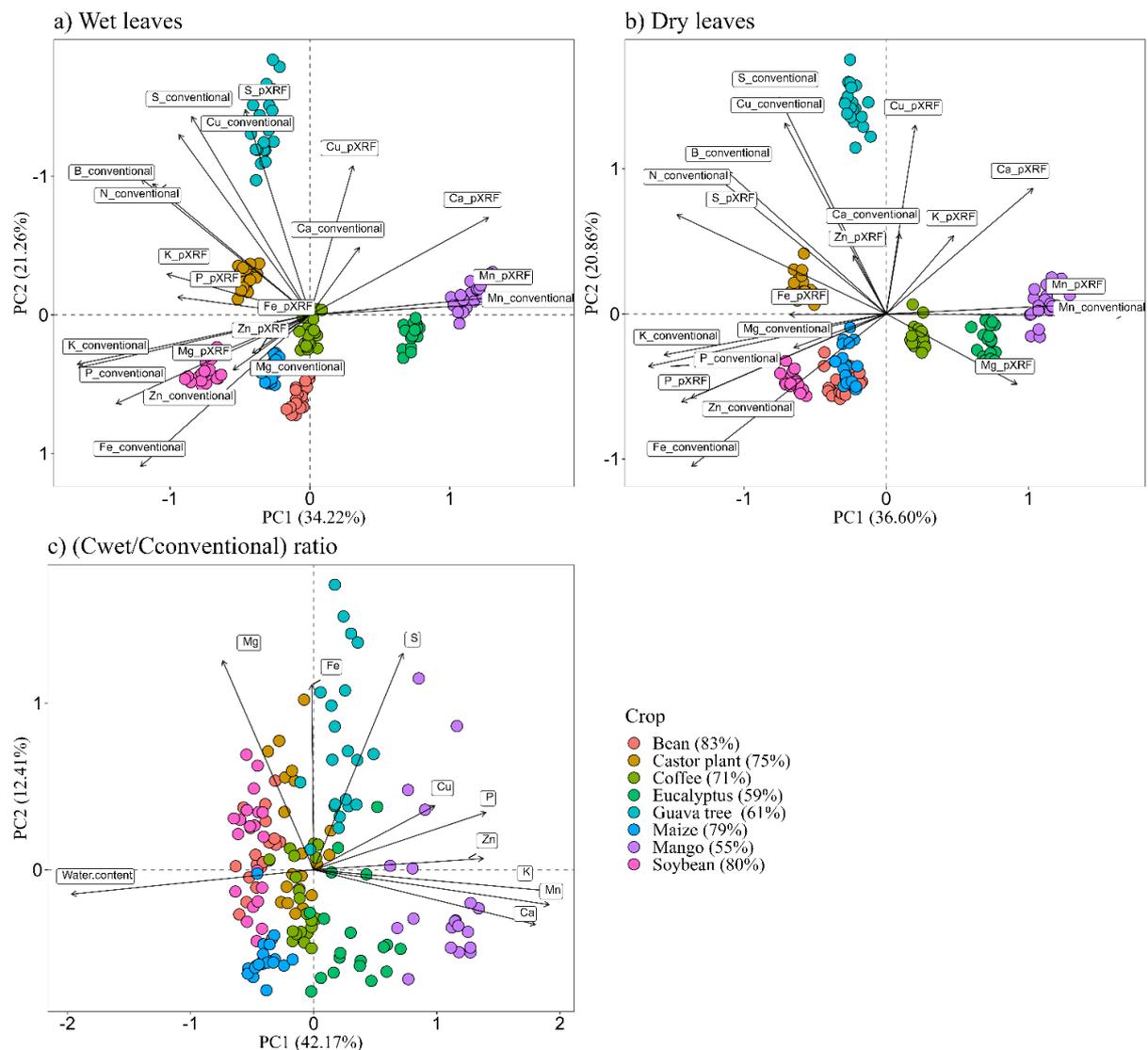


### 3.2 Differentiation of crops

Regardless the water content, PCA analysis allowed a clear differentiation and grouping of crops based on pXRF results obtained using intact and fresh leaves (Figure 2a) and using intact and dry leaves (Figure 2b). Also, a positive correlation was observed between pXRF results and  $C_{\text{conventional}}$  based on the acute angles of the vectors, mainly for wet condition (Figure 2a). In dry conditions, a consistent and positive correlation between pXRF and  $C_{\text{conventional}}$  was not observed, mainly for K, Mg, Fe, and Zn. In this condition, although the effect of water content is absent, the thickness of leaves was reduced that might influence the pXRF results (Marguá et al., 2022). Similar results were obtained by McGladdery et al. (2018) comparing wet-digestion method and pXRF measurements performed on intact and dry leaves.

PCA analysis also allowed the assessment of the water content of each crop on pXRF results (Figure 2c). As water content increase the  $C_{wet}/C_{conventional}$  ratio decrease for all elements, mainly P, Ca, K, Mn, Cu e Zn. This can be observed based on obtuse angles between PCA vectors. PC1 + PC2 explained 54.6% of data variability. PC1 represents mostly the effect of water content. Along PC1 axis, a clear differentiation of crops was observed from left (the highest water content) to right (the lowest water content) as follow: Bean (83%), Castor plant (75%), Coffee (71%), Maize (79%), Soybean (80%), Eucalyptus (59%), Mango (55%), and Guava tree (61%). These results reinforce that in field conditions the water content of leaves influences the pXRF performance underestimating the results (Ribeiro et al., 2021; Zhou et al., 2020).

Figure 2 - Principal components analysis for differentiation of crops at the following conditions: a) pXRF using intact and fresh (wet) leaves and  $C_{conventional}$ ; b) pXRF using intact and dry leaves and  $C_{conventional}$ ; c) water content and  $C_{wet}/C_{conventional}$  ratio.



### 3.3 Prediction of macro- and micronutrients using pXRF data

All macro- and micronutrients were very accurately predicted via RF with high  $R^2$  (0.78 to 0.99) and RPD (2.2 to 21.7). All models were considered precise ( $RPD > 2$ ) (Andrade et al., 2021; Chang et al., 2021). Most elements (N, P, K, Mg, S, B, Cu, Fe, and Mn) were better predicted via WET model (Figures 3) that considers pXRF data obtained on intact and fresh leaves. Only Ca and Zn were better predicted via DRY model (Figures 3d and 3k, respectively). As hypothesized, the prediction of macro- and micronutrients is possible due to the antagonism and synergism uptake interactions of the elements and homeostasis (Fan et al., 2021) which depends on plant species and environmental conditions (Fageria, 2001; Rietra et al., 2017; Wyszowski and Brodowska, 2020).

Mn was one of the elements most accurately predicted with  $R^2$  of 0.99 and RPD of 16.2 via WET model (Table 3). The most important variable was its own concentration obtained via pXRF on fresh leaves (Figure 4). Sulfur was also influenced by its own concentration reported by pXRF (Figure 4) with  $R^2$  of 0.98 and RPD of 7.71 (Figure 3f). Even for elements undetectable by pXRF ( $Z < 12$ ), accurate prediction was observed for N ( $R^2 = 0.95$  and  $RPD = 4.47$ ) (Figure 3a) and B ( $R^2 = 0.98$  and  $RPD = 6.37$ ) (Figure 3g). The most important variables for N prediction were S and Ca. The uptake interactions between N and S are well known (Fageria, 2001; Fan et al., 2021). For instance, N supply can increase S uptake, but S addition may not influence N uptake (Carciochi et al., 2020). N and S are closely associated to organic compounds in plants (e.g., proteins) and their metabolism (Giordano and Raven, 2014; Rossini et al., 2018; Fageria, 2001). Sulfur was also the most important proxy for N prediction in *Eucalyptus* clones (Andrade et al., 2023) using oven-dried and ground samples. Calcium as constituent of cellular walls is important for absorption of anions like  $N-NO_3^-$  (Verma et al., 2021; Ward et al., 1986; Xing et al., 2021). The prediction of Ca was influenced mostly by its own concentration via pXRF (Figure 4). The satisfactory B prediction (Figure 3g) was influenced mainly by P, followed by S and Si (Figure 4). These results corroborate the findings obtained by Andrade et al. (2023) predicting macro- and micronutrients using oven-dried and ground samples of *Eucalyptus* clones. The prediction of B was markedly influenced by P. The interaction between P and B has been extensively reported (Irfan et al., 2019; Mühlbachová et al., 2017; Sinha et al., 2003).

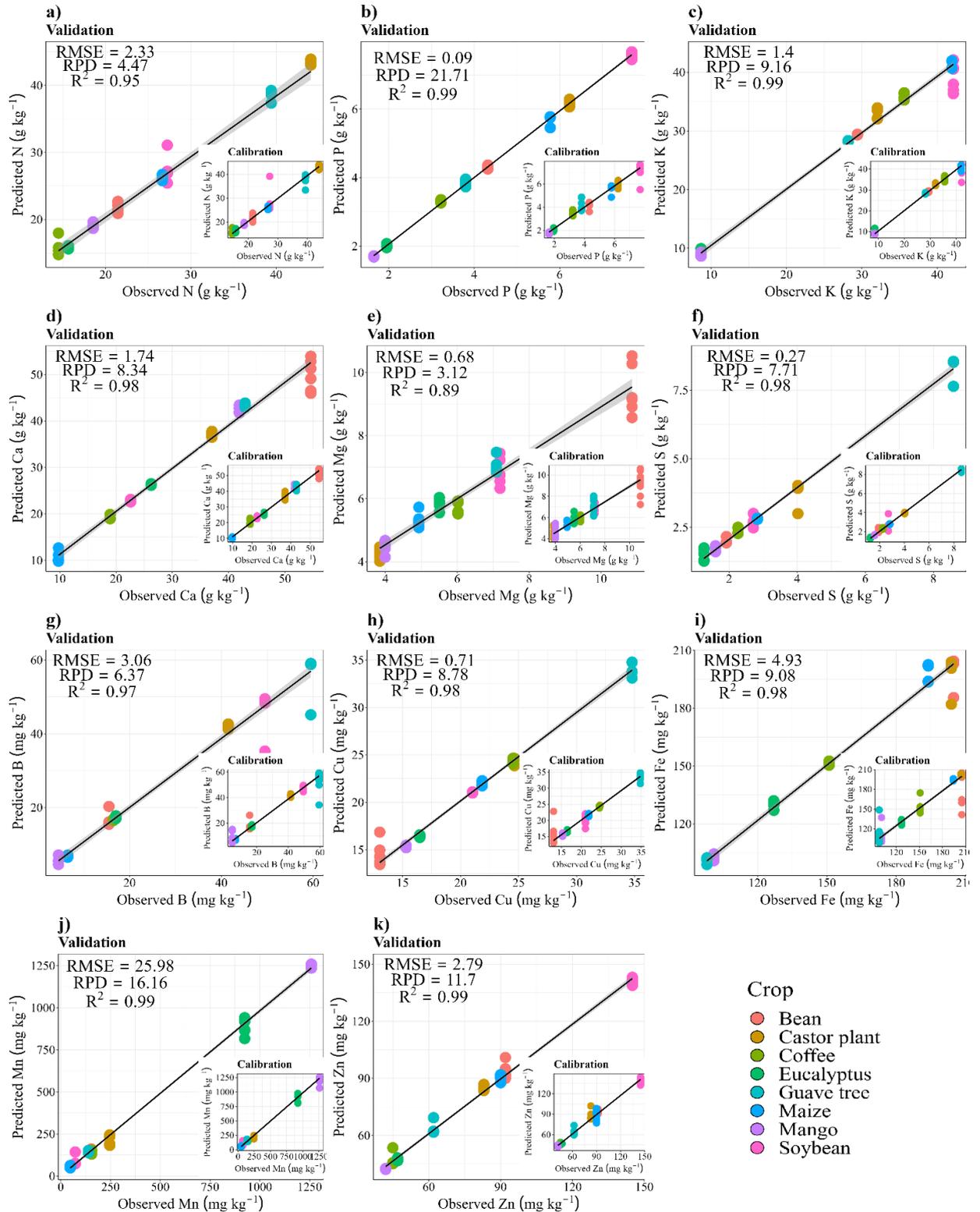
In both wet or dry conditions, P was precisely predicted with  $R^2$  of 0.99 and RPD of 21.7 and 13.1, respectively. The prediction model was influenced mainly by Mn, P, and Ca (Figure 4). Depending on P concentration, Mn uptake and translocation by plants can be

reduced (Alejandro et al., 2020; Neilsen et al., 1992; Pedas et al., 2011). At molecular level, high concentrations of Mn can negatively influence the absorption of nutrients like P (Alejandro et al., 2020). Also, the availability of Mn and P can be reduced by formation of insoluble compounds (Alejandro et al., 2020; Hauck et al., 2003). Uptake interactions between P and Ca are well known. Ca can contribute to a higher P absorption (Fageria et al., 2001; Li et al., 2004), and P as phytate can also increase the absorption of Ca by plants (Li et al., 2004). In soils, depending on pH and the concentrations of P and Ca, insoluble precipitates can be formed reducing the availability of both nutrients (Hamilton et al., 2019; Hong et al., 2020; Pastore et al., 2020; Tian et al., 2021).

Table 3 - Statistical parameters (MAE, RMSE, R<sup>2</sup>, and RPD) of the models (validation dataset) obtained for prediction of macro- and micronutrients.

Element	Model	MAE	RMSE	R <sup>2</sup>	RPD
N	<b>WET</b>	<b>0.89</b>	<b>2.33</b>	<b>0.949</b>	<b>4.47</b>
	DRY	1.89	2.64	0.935	3.96
P	<b>WET</b>	<b>0.07</b>	<b>0.09</b>	<b>0.998</b>	<b>21.71</b>
	DRY	0.10	0.15	0.994	13.08
K	<b>WET</b>	<b>0.61</b>	<b>1.40</b>	<b>0.988</b>	<b>9.16</b>
	DRY	1.13	3.18	0.937	4.03
Ca	WET	1.34	3.62	0.937	4.02
	<b>DRY</b>	<b>0.80</b>	<b>1.74</b>	<b>0.985</b>	<b>8.34</b>
Mg	<b>WET</b>	<b>0.48</b>	<b>0.68</b>	<b>0.895</b>	<b>3.12</b>
	DRY	0.65	0.98	0.780	2.16
S	<b>WET</b>	<b>0.10</b>	<b>0.27</b>	<b>0.982</b>	<b>7.71</b>
	DRY	0.24	0.52	0.938	4.04
B	<b>WET</b>	<b>1.08</b>	<b>3.06</b>	<b>0.975</b>	<b>6.37</b>
	DRY	2.50	3.80	0.961	5.13
Cu	<b>WET</b>	<b>0.35</b>	<b>0.71</b>	<b>0.987</b>	<b>8.78</b>
	DRY	0.63	1.33	0.954	4.70
Fe	<b>WET</b>	<b>2.50</b>	<b>4.93</b>	<b>0.988</b>	<b>9.08</b>
	DRY	4.08	7.38	0.972	6.06
Mn	<b>WET</b>	<b>12.52</b>	<b>25.98</b>	<b>0.996</b>	<b>16.16</b>
	DRY	14.38	29.52	0.995	14.23
Zn	WET	3.11	4.94	0.977	6.62
	<b>DRY</b>	<b>1.66</b>	<b>2.79</b>	<b>0.993</b>	<b>11.70</b>

Figure 3 - Prediction of macro and micronutrients via random forest regression using pXRF data obtained on intact and fresh leaves.



Potassium prediction was influenced by Ca and Mn (Figure 4). It is well known the antagonistic effect of K on Ca uptake in plants (Fageria, 2001). Potassium can also contribute to increase Mn uptake or reduce its absorption when it is present in high concentrations (Fageria, 2001; Ramani and Kannan, 1974). Magnesium is a low-Z element normally difficult to be detected via pXRF due to its low fluorescence yield (Borges et al., 2020). The identification and quantification of Mg in plant materials is benefited by pXRF analysis under vacuum conditions (Towet et al., 2016). Herein, the pXRF device and operational conditions allowed its identification in all conditions ( $C_{\text{wet}}$  and  $C_{\text{dry}}$ ) (Table 1). The worst prediction was obtained for Mg, however, the statistical parameters of the prediction are still considered high with  $R^2$  of 0.89 and RPD of 3.1 for wet conditions (Figure 3e).

The prediction of Cu was influenced by S and K (Figure 4). At high concentrations of Cu, the absorption of S is increased due to the effect on  $\text{SO}_4^{2-}$  transporters (Islam, 2012; Shahbaz et al., 2010). On the other hand, depending on their concentrations, a competitive inhibition between K and Cu is also expected (Fageria, 2001; Ouzounidou et al., 1994). At high concentrations, Cu can increase the permeability of plasma membrane contributing for K leakage (De Vos et al., 1991; Malvi, 2011).

Iron prediction was influenced mainly by three elements: Mn, S, and K (Figure 4). Iron and Mn have an antagonistic relationship. These elements compete for the same transport sites (Fageria, 2001; Fan et al., 2021; Ghasemi-Fasaei and Ronaghi, 2008). Sulfur at adequate concentrations can increase Fe absorption (Wu et al., 2020). Most biologically reactive Fe compounds in plants are related to Fe-S clusters (Forieri et al., 2013). Iron uptake can also be influenced by competitive inhibition between K and Fe (Adnan, 2020; Celik et al., 2010; Fageria, 2001).

Zn prediction was markedly influenced by P and Ca (Figure 4). The antagonistic relationship between P and Zn is also very well known (Bindraban et al., 2020; Ding et al., 2021; Fageria, 2001; Fan et al., 2021). At high Zn concentrations, P uptake and translocation can be negatively impacted (Ding et al., 2021; Fan et al., 2021). On the other hand, at high P concentrations, the absorption of Zn is reduced (Ding et al., 2021). A competitive interaction between Zn and Ca is also expected (Fageria 2001). High Ca concentration in soils can reduce the Zn absorption (Fageria, 2001; Pickering and Puia, 1969; Suganya et al., 2020). Also, Ca plays an important role in Zn homeostasis in plants as a secondary messenger (decoding element) on Zn uptake (Fan et al., 2021).

The assessment of elemental composition of plants via pXRF is really feasible in either laboratory or in-field conditions. Under laboratory conditions using oven-dried, ground,



#### 4 CONCLUSIONS AND FINAL REMARKS

This pilot study employed the portable X-ray fluorescence spectrometry (pXRF) for fast and clean assessment of nutritional status of plants directly on intact and fresh leaves. The pXRF results are clearly influenced by water content of leaves, mainly P and S. However, there is a positive and significant correlation between pXRF results obtained on intact and fresh leaves and laboratory-based method. For the first time, the real concentrations of macro- and micronutrients were successfully predicted using pXRF data obtained directly on leaves and random forest regression, even for undetectable elements by pXRF (N and B). This methodological approach can contribute for fast, environmentally-friendly, and real time assessment of nutritional status of plants directly in the field contributing for smart farming agriculture and management. From this work, further studies can be developed to obtain prediction models specific for each crop and environmental conditions. Also, the fusion of pXRF data to other proximal and remote sensors is really promising.

#### REFERENCES

- Adams, C., Brand, C., Dentith, M., Fiorentini, M., Caruso, S., Mehta, M., 2020. The use of pXRF for light element geochemical analysis: a review of hardware design limitations and an empirical investigation of air, vacuum, helium flush and detector window technologies. *Geochemistry: Exploration, Environment, Analysis* 20(3), 366-380. <https://doi.org/10.1144/geochem2019-076>.
- Adnan, M., 2020. Role of potassium in maize production: A review. *Op Acc J Bio Sci Res*, 3(5), 1-4. <https://doi.org/10.46718/JBGSR.2020.03.000083>.
- Alejandro, S., Höller, S., Meier, B., Peiter, E., 2020. Manganese in plants: from acquisition to subcellular allocation. *Frontiers in plant science*, 11, 300. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00300>.
- Andrade, R., Silva, S. H. G., Benedet, L., de Araújo, E. F., Carneiro, M. A. C., Curi, N., 2023. A Proximal Sensor-Based Approach for Clean, Fast, and Accurate Assessment of the Eucalyptus spp. Nutritional Status and Differentiation of Clones. *Plants*, 12(3), 561. <https://doi.org/10.3390/plants12030561>.

Andrade, R., Silva, S. H. G., Weindorf, D. C., Chakraborty, S., Faria, W. M., Guilherme, L. R. G., Curi, N., 2021. Micronutrients prediction via pXRF spectrometry in Brazil: Influence of weathering degree. *Geoderma Regional*, 27, e00431. <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2021.e00431>.

Bindraban, P. S., Dimkpa, C. O., Pandey, R., 2020. Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved human and environmental health. *Biology and Fertility of Soils*, 56(3), 299-317. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01430-2>.

Borges, C. S., Weindorf, D. C., Carvalho, G. S., Guilherme, L. R., Takayama, T., Curi, N., Lima, G. J. E. O, Ribeiro, B. T., 2020. Foliar elemental analysis of Brazilian crops via portable X-ray fluorescence spectrometry. *Sensors*, 20(9), 2509. <https://doi.org/10.3390/s20092509>.

Carciochi, W. D., Salvagiotti, F., Pagani, A., Calvo, N. I. R., Eyherabide, M., Rozas, H. R. S., Ciampitti, I. A., 2020. Nitrogen and sulfur interaction on nutrient use efficiencies and diagnostic tools in maize. *European Journal of Agronomy*, 116, 126045. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126045>.

Celik, H., Asik, B. B., Gurel, S., Katkat, A. V., 2010. Effects of potassium and iron on macro element uptake of maize. *Zemdirbyste-Agriculture*, 97(1), 11-22.

Chang, C. W., Laird, D. A., Mausbach, M. J., Hurburgh, C. R., 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy–principal components regression analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal*, 65(2), 480-490. <https://doi.org/10.2136/sssaj2001.652480x>.

Costa Junior, G., Nunes, L. C., Feresin Gomes, M. H., de Almeida, E., Pereira de Carvalho, H. W., 2020. Direct determination of mineral nutrients in soybean leaves under vivo conditions by portable X-ray fluorescence spectroscopy. *X-Ray Spectrometry*, 49(2), 274-283. <https://doi.org/10.1002/xrs.3111>.

Dao, T. H., 2017. Sensing soil and foliar phosphorus fluorescence in *Zea mays* in response to large phosphorus additions. *Precision agriculture*, 18, 685-700. <https://doi.org/10.1007/s11119-016-9480-7>.

De Vos, C. H. R., Schat, H. M. A. M., De Waal, M. A. M., Vooijs, R., Ernst, W. H. O., 1991. Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant

*Silene cucubalus*. *Physiologia Plantarum*, 82(4), 523-528. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb02942.x>.

Ding, J., Liu, L., Wang, C., Shi, L., Xu, F., Cai, H., 2021. High level of zinc triggers phosphorus starvation by inhibiting root-to-shoot translocation and preferential distribution of phosphorus in rice plants. *Environmental Pollution*, 277, 116778. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116778>.

Epstein, E., Bloom, A.J., 2005. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*, second ed. Sinauer Associates Publishers, Sunderland, MA. 400 pp.

Fageria, V. D., 2001. Nutrient interactions in crop plants. *Journal of plant nutrition*, 24(8), 1269-1290. <https://doi.org/10.1081/PLN-100106981>.

Fan, X., Zhou, X., Chen, H., Tang, M., Xie, X., 2021. Cross-talks between macro- and micronutrient uptake and signaling in plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 663477. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.663477>.

Faria, A. J. G., Rufini, M., do Amaral Leite, A., Ribeiro, B. T., Silva, S. H. G., Guilherme, L. R. G., Melo, L. C. A., 2021. Elemental analysis of biochar-based fertilizers via portable X-ray fluorescence spectrometry. *Environmental Technology & Innovation*, 23, 101788. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101788>.

Forieri, I., Wirtz, M., Hell, R., 2013. Toward new perspectives on the interaction of iron and sulfur metabolism in plants. *Frontiers in Plant Science*, 4, 357. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00357>.

Ghasemi-Fasaei, R., Ronaghi, A., 2008. Interaction of iron with copper, zinc, and manganese in wheat as affected by iron and manganese in a calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition*, 31(5), 839-848. <https://doi.org/10.1080/01904160802043148>.

Giordano, M., Raven, J. A., 2014. Nitrogen and sulfur assimilation in plants and algae. *Aquatic botany*, 118, 45-61. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2014.06.012>.

Guerra, M. B., Adame, A., Almeida, E. D., Brasil, M. A., Schaefer, C. E., Krug, F. J., 2018. In situ determination of K, Ca, S and Si in fresh sugar cane leaves by handheld energy dispersive

X-Ray fluorescence spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29, 1086-1093. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170229>.

Hamilton, J. G., Grosskleg, J., Hilger, D., Dhillon, G. S., Bradshaw, K., Carlson, T., Siciliano, S. D., Peak, D., 2019. In situ transformations of bonechar and tri-poly phosphate amendments in phosphorus-limited subsurface soils. *Applied Geochemistry*, 109, 104398. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.104398>.

Hauck, M., Paul, A., Gross, S., Raubuch, M., 2003. Manganese toxicity in epiphytic lichens: chlorophyll degradation and interaction with iron and phosphorus. *Environmental and Experimental Botany*, 49(2), 181-191. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(02\)00069-2](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00069-2).

Hong, S. H., Ndingwan, A. M., Yoo, S. C., Lee, C. G., Park, S. J., 2020. Use of calcined sepiolite in removing phosphate from water and returning phosphate to soil as phosphorus fertilizer. *Journal of Environmental Management*, 270, 110817. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110817>.

Irfan, M., Abbas, M., Shah, J. A., Depar, N., Sial, N. A., 2019. Interactive effect of phosphorus and boron on plant growth, nutrient accumulation and grain yield of wheat grown on calcareous soil. *Eurasian Journal of Soil Science*, 8(1), 17-26. <https://doi.org/10.18393/ejss.484654>.

Islam, M., 2012. The effect of different rates and forms of sulfur on seed yield and micronutrient uptake by chickpea. *Plant, Soil and Environment*, 58(9), 399-404. <https://doi.org/10.17221/145/2012-PSE>.

Jin, X., Shi, C., Yu, C. Y., Yamada, T., Sacks, E. J., 2017. Determination of leaf water content by visible and near-infrared spectrometry and multivariate calibration in *Miscanthus*. *Frontiers in plant science*, 8, 721. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00721>.

Khan, W. A., Shabala, S., Cuin, T. A., Zhou, M., Penrose, B., 2022. Using portable X-ray fluorescence spectroscopy for inexpensive and quick determination of micronutrients in barley shoots. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 53(11), 1379-1384. <https://doi.org/10.1080/00103624.2022.2046033>.

Kjeldahl, J. G. C. T., 1883. Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. *Zeitschrift für analytische Chemie*, v. 22, n. 1, p. 366-382.

Kuhn, M., 2022. *\_caret: Classification and Regression Training\_*. R package version 6.0-92, <https://CRAN.R-project.org/package=caret>.

Li, L., Tang, C., Rengel, Z., Zhang, F. S., 2004. Calcium, magnesium and microelement uptake as affected by phosphorus sources and interspecific root interactions between wheat and chickpea. *Plant and Soil*, 261(1-2), 29-37. <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000035579.39823.16>.

Liaw, A., Wiener, M., 2002. Classification and Regression by randomForest. *R News* 2(3), 18-22.

Malavolta, E., 1997. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*/Eurípedes Malavolta, Godofredo Cesar Vitti, Sebastião Alberto de Oliveira. Piracicaba: Potafos.

Malvi, U. R., 2011. Interaction of micronutrients with major nutrients with special reference to potassium. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 24(1).

Marguá, E., Queralt, I., Almeida, E., 2022. X-ray fluorescence spectrometry for environmental analysis: Basic principles, instrumentation, applications and recent trends. *Chemosphere*, 135006. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135006>.

McGladdery, C., Weindorf, D. C., Chakraborty, S., Li, B., Paulette, L., Podar, D., Pearson, D., Kusi, N. Y. O., Duda, B., 2018. Elemental assessment of vegetation via portable X-ray fluorescence (PXRF) spectrometry. *Journal of Environmental Management*, 210, 210-225. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.003>.

Miller, R., 1998. Nitric-Perchloric Acid Wet Digestion in an Open Vessel. In *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*. Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, pp. 57–61.

Miron B. Kurska, Witold R. Rudnicki., 2010. Feature Selection with the Boruta Package. *Journal of Statistical Software*, 36(11), 1-13. <https://doi.org/10.18637/jss.v036.i11>.

Mühlbachová, G., Čermák, P., Vavera, R., Káš, M., Pechová, M., Marková, K., Kusá, H., Růžek, P., Hlušek, J., Lošák, T., 2017. Boron availability and uptake under increasing phosphorus rates in a pot experiment. *Plant, Soil and Environment*, 63(11), 483-490. <https://doi.org/10.17221/480/2017-PSE>.

Neilsen, D., Neilsen, G. H., Sinclair, A. H., Linehan, D. J., 1992. Soil phosphorus status, pH and the manganese nutrition of wheat. *Plant and Soil*, 145, 45-50. <https://doi.org/10.1007/BF00009540>.

Oksanen, J., Simpson, G. L., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R.B., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., Caceres, M., Durand, S., Evangelista, H. B. A., FitzJohn, R., Friendly, M., Furneaux, B., Hannigan, G., Hill, M. O., Lahti, L., McGlenn, D., Ouellette, M. H., Cunha, E. R., Smith, T., Stier, A., Braak, C. J. F. T., Weedon, J., 2022. *\_vegan: Community Ecology Package\_*. R package version 2.6-2, <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

Ouzounidou, G., Symeonidis, L., Babalonas, D., Karataglis, S., 1994. Comparative responses of a copper-tolerant and a copper-sensitive population of *Minuartia hirsuta* to copper toxicity. *Journal of Plant Physiology*, 144(1), 109-115. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81001-1](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81001-1).

Pastore, G., Kaiser, K., Kernchen, S., Spohn, M., 2020. Microbial release of apatite-and goethite-bound phosphate in acidic forest soils. *Geoderma*, 370, 114360. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114360>.

Pedas, P., Husted, S., Skytte, K., Schjoerring, J. K., 2011. Elevated phosphorus impedes manganese acquisition by barley plants. *Frontiers in Plant Science*, 37. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00037>.

Pickering, D. C., Puia, I. L., 1969. Mechanism for the uptake of zinc by *Fontinalis antipyretica*. *Physiologia plantarum*, 22(4), 653-661. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1969.tb07420.x>.

Pinheiro J., Bates D, R Core Team., 2022. *\_nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models\_*. R package version 3.1-157, <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing, 2022. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Ramani, S., Kannan, S., 1974. Effects of certain cations on manganese absorption by excised rice roots. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 5(5), 427-436. <https://doi.org/10.1080/00103627409366520>.

Ravansari, R., Wilson, S. C., Tighe, M., 2020. Portable X-ray fluorescence for environmental assessment of soils: Not just a point and shoot method. *Environment international*, 134, 105250. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105250>.

Ribeiro, A. C., 1999. Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a. aproximação. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais.

Ribeiro, B. T., Silva, S. H. G., Silva, E. A., Guilherme, L. R. G., 2017. Portable X-ray fluorescence (pXRF) applications in tropical Soil Science. *Ciência e Agrotecnologia*, 41, 245-254. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017413000117>.

Ribeiro, B. T., Weindorf, D. C., Borges, C. S., Guilherme, L. R. G., Curi, N., 2021. Foliar analysis via portable X-ray fluorescence spectrometry: Experimental considerations. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 186, 106320. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2021.106320>.

Riedell, W. E., 2010. Mineral-nutrient synergism and dilution responses to nitrogen fertilizer in field-grown maize. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 173(6), 869-874. <https://doi.org/10.1002/jpln.200900218>.

Rietra, R. P., Heinen, M., Dimkpa, C. O., Bindraban, P. S., 2017. Effects of nutrient antagonism and synergism on yield and fertilizer use efficiency. *Communications in soil science and plant analysis*, 48(16), 1895-1920. <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1407429>.

Rincheval, M., Cohen, D. R., Hemmings, F. A., 2019. Biogeochemical mapping of metal contamination from mine tailings using field-portable XRF. *Science of the Total Environment*, 662, 404-413. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.235>.

Rossini, F., Provenzano, M. E., Sestili, F., Ruggeri, R., 2018. Synergistic effect of sulfur and nitrogen in the organic and mineral fertilization of durum wheat: Grain yield and quality traits in the Mediterranean environment. *Agronomy*, 8(9), 189. <https://doi.org/10.3390/agronomy8090189>.

Sapkota, Y., McDonald, L. M., Griggs, T. C., Basden, T. J., Drake, B. L., 2019. Portable X-ray fluorescence spectroscopy for rapid and cost-effective determination of elemental composition of ground forage. *Frontiers in plant science*, 10, 317. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00317>.

Shahbaz, M., Tseng, M. H., Stuiver, C. E. E., Koralewska, A., Posthumus, F. S., Venema, J. H., Parmar, S., Schat, H., Hawkesford, M. J., De Kok, L. J., 2010. Copper exposure interferes with the regulation of the uptake, distribution and metabolism of sulfate in Chinese cabbage. *Journal of Plant Physiology*, 167(6), 438-446. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.10.016>.

Silva, S. H. G., Ribeiro, B. T., Guerra, M. B. B., de Carvalho, H. W. P., Lopes, G., Carvalho, G. S., Guilherme L. R. G., Resende, M., Mancini, M., Curi, N., Rafael R. B. A., Cardelli, V. Cocco, S., Corti, G. Chakraborty, S., Li, B., Weindorf, D. C., 2021. pXRF in tropical soils: Methodology, applications, achievements and challenges. *Advances in Agronomy*, 167, 1-62. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.12.001>.

Sinha, P., Dube, B. K., Chatterjee, C., 2003. Phosphorus stress alters boron metabolism of mustard. *Communications in soil science and plant analysis*, 34(3-4), 315-326. <https://doi.org/10.1081/CSS-120017823>.

Soares, T. M., Wallace Pereira de Carvalho, H., de Almeida, E., Costa Jr, G. T., Sergio Pavinato, P., 2021. Phosphorus quantification in sugar cane (*Saccharum officinarum*) leaves in vivo by portable X-ray fluorescence spectroscopy. *ACS Agricultural Science & Technology*, 1(5), 479-487. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.1c00084>.

Suganya, A., Saravanan, A., Manivannan, N., 2020. Role of zinc nutrition for increasing zinc availability, uptake, yield, and quality of maize (*Zea mays* L.) grains: An overview. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*, 51(15), 2001-2021. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1820030>.

Tian, J., Ge, F., Zhang, D., Deng, S., Liu, X., 2021. Roles of phosphate solubilizing microorganisms from managing soil phosphorus deficiency to mediating biogeochemical P cycle. *Biology*, 10(2), 158. <https://doi.org/10.3390/biology10020158>.

Towett, E. K., Shepherd, K. D., Lee Drake, B., 2016. Plant elemental composition and portable X-ray fluorescence (pXRF) spectroscopy: quantification under different analytical parameters. *X-Ray Spectrometry*, 45(2), 117-124. <https://doi.org/10.1002/xrs.2678>.

Verma, N., Pandey, A., Tiwari, S., Prasad, S. M., 2021. Calcium mediated nitric oxide responses: Acquisition of nickel stress tolerance in cyanobacterium *Nostoc muscorum* ATCC 27893. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 26, 100953. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100953>.

Ward, M. R., Aslam, M., Huffaker, R. C., 1986. Enhancement of nitrate uptake and growth of barley seedlings by calcium under saline conditions. *Plant Physiology*, 80(2), 520-524. <https://doi.org/10.1104/pp.80.2.520>.

Weindorf, D. C., Bakr, N., Zhu, Y., 2014. Advances in portable X-ray fluorescence (PXRF) for environmental, pedological, and agronomic applications. *Advances in agronomy*, 128, 1-45. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802139-2.00001-9>.

Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.

Wu, Z., Naveed, S., Zhang, C., Ge, Y., 2020. Adequate supply of sulfur simultaneously enhances iron uptake and reduces cadmium accumulation in rice grown in hydroponic culture. *Environmental Pollution*, 262, 114327. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114327>.

Wyszkowski, M., Brodowska, M. S., 2020. Content of trace elements in soil fertilized with potassium and nitrogen. *Agriculture*, 10(9), 398. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090398>.

Xie, P., Liu, Z., Li, J., Ju, D., Ding, X., Wang, Y., Hower, J. C., 2023. Pollution and health-risk assessments of Cr-contaminated soils from a tannery waste lagoon, Hebei, north China: With emphasis on Cr speciation. *Chemosphere*, 137908. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137908>.

Xing, Y., Zhu, Z. L., Wang, F., Zhang, X., Li, B. Y., Liu, Z. X., Wu, X. X., Ge, S. F., Jiang, Y. M., 2021. Role of calcium as a possible regulator of growth and nitrate nitrogen metabolism in apple dwarf rootstock seedlings. *Scientia Horticulturae*, 276, 109740. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109740>.

Zhou, S., Weindorf, D. C., Cheng, Q., Yang, B., Yuan, Z., Chakraborty, S., 2020. Elemental assessment of vegetation via portable X-ray fluorescence: sample preparation and methodological considerations. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 174, 105999. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2020.105999>.

## ARTIGO 2

### ANÁLISE FOLIAR DO CAFEIEIRO COM USO DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X PORTÁTIL: OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES OPERACIONAIS E PREDIÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL VIA *MACHINE LEARNING*

Marcela Vieira da Costa<sup>1</sup>, Enio Tarso de Souza Costa<sup>2</sup>, Geraldo Jânio de Oliveira Lima<sup>3</sup>, Luiz Roberto Guimarães Guilherme<sup>1</sup>, Bruno Teixeira Ribeiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, Lavras 37200000, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, Brasil

<sup>3</sup> Centro de Tecnologia Agrícola e Ambiental – CAMPO, Paracatu, 38606026, Brasil

## RESUMO

A espectrometria de fluorescência de raios X portátil (pXRF) é uma técnica não destrutiva que vem sendo amplamente utilizada para obtenção da composição elementar de diversas matrizes. Contudo, comparada à outras aplicações do pXRF, a análise foliar ainda é incipiente. Assim, todos os fatores que podem influenciar a performance dos equipamentos pXRF para determinação da composição elementar de folhas de plantas precisam ser estudados. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de diferentes condições operacionais de um pXRF (tempo de leitura, modo de calibração, corrente e voltagem) para análise foliar do cafeeiro. Esta cultura foi selecionada em razão da sua relevância econômica e, também, da importância da análise foliar para a manutenção da sua produtividade. Objetivou-se também utilizar os dados de pXRF para predição das reais concentrações de macro e micronutrientes, bem como a predição categórica do estado nutricional, utilizando técnicas de *machine learning*. Mudanças de cafeeiro foram cultivadas em solução nutritiva de Hoagland e Arnon em diferentes concentrações dos macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S). Após a condução do experimento (70 e 140 dias), foram coletados pares de folhas diagnósticas localizadas no terço médio de cada planta. As folhas foram secas em estufa (60 °C), moídas e peneiradas (< 1 mm). Em seguida, as amostras foram acondicionadas em porta-amostra específico para análise via pXRF. Realizaram-se as leituras no pXRF nas seguintes condições operacionais: tempo de leitura (9, 15, 30, 60, 90 e 120 s); modo de calibração do fabricante (*Geoexploration*); modo *Spectrometer* combinando-se valores de voltagem (10 a 45 KeV) e corrente (5 a 40 µA). O material vegetal também foi

submetido a digestão ácida e analisado pelo método convencional. Para predição das concentrações de macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn) com dados de pXRF foram utilizados métodos de regressão linear (regressão linear – LR e regressão linear múltipla – MLR) e algoritmos de *machine learning* (*support vector machine* – SVM e *random forest* – RF). O algoritmo RF foi utilizado para a predição categórica dos níveis nutricionais em baixo, adequado e alto de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S). O tempo de leitura foi determinante na performance do pXRF, seja na variabilidade dos dados bem como na intensidade dos picos de cada elemento. Com base nos coeficientes de variação, o tempo de 60 s de leitura foi considerado o valor mínimo mais adequado. De acordo com os valores de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para os elementos diretamente detectados via pXRF e sua concentração real, as melhores condições operacionais foram as combinações 10 KeV/10  $\mu$ A e 15 KeV/25  $\mu$ A. LR e MLR predisseram de maneira precisa ( $RPD > 2$ ) as concentrações de K, Ca, Cu e Mn. Muito embora, os melhores modelos de predição foram observados para os algoritmos de *machine learning*, principalmente RF. Na condição operacional 15 KeV/25  $\mu$ A foram obtidos os modelos de predição mais precisos ( $RPD > 2$ ) para N, Ca, B e Mn ( $R^2$  0,89 a 0,98). Para a predição categórica, as condições operacionais 10 KeV/10  $\mu$ A e 15 KeV/25  $\mu$ A também geraram os modelos mais acurados (Cohen's Kappa coeficiente  $> 0,75$ ) para a maioria dos macronutrientes avaliados. Na condição operacional 10 KeV/10  $\mu$ A foram obtidos os melhores modelos categóricos para N, K, Ca e Mg; 15 KeV/25  $\mu$ A gerou a melhor predição categórica para P. Os resultados encontrados neste trabalho reforçam a importância de condições operacionais específicas (calibrações) para análise foliar via pXRF. Neste estudo piloto, foi possível concluir que os dados de pXRF, fácil e rapidamente obtidos, aliados à modelagem com técnicas de *machine learning*, foram úteis para a predição acurada do estado nutricional do cafeeiro.

**Palavras-chave:** análise foliar; nutrição de plantas; sensor proximal; modelagem estatística.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de café e, também, um dos maiores mercados consumidores dessa commodity (FLORES et al., 2016; USDA, 2022). Além da importância cultural, o cultivo de café apresenta uma elevada relevância econômica para o país. Em 2022, o Brasil produziu 50,92 milhões de sacas de café (60 kg) e a produção movimentou mais de R\$

55,89 bilhões em receita bruta (CONAB, 2022; MAPA, 2022). Por isso, conhecer o status nutricional das áreas de cultivo é de extrema importância para a manutenção dessa cadeia produtiva (GUIMARÃES et al., 2022; WANG et al., 2015a). As informações relacionadas ao status nutricional das áreas de cultivo devem ser obtidas em estágios específicos de desenvolvimento da cultura e norteiam as recomendações técnicas adequadas que devem ser adotadas para que a produtividade seja garantida (NZEYIMANA et al., 2013; SOUSA et al., 2018; WANG et al., 2015a).

Nesse sentido, a análise foliar é extremamente importante para o diagnóstico do estado nutricional das plantas cultivadas (OLIVEIRA et al., 2020; SOUSA et al., 2018). Apesar da sua importância, a realização da análise foliar por métodos convencionais ainda é considerada muito demorada e onerosa, uma vez que depende de diversas etapas desde a coleta das folhas até a obtenção dos resultados (COSTA JUNIOR et al., 2020). Além disso, os métodos convencionais de análise foliar geralmente são baseados em digestão ácida e utilizam uma série de reagentes químicos potencialmente poluentes para a obtenção dos extratos utilizados na determinação dos nutrientes (BORGES et al., 2020; MILLER, 1998). Diante das limitações que envolvem as análises foliares convencionais, o desenvolvimento de métodos alternativos pode contribuir para que os resultados sejam obtidos de maneira mais rápida, eficiente e ambientalmente correta.

A espectrometria de fluorescência de raios X portátil (pXRF) é uma técnica não destrutiva promissora que pode contribuir amplamente para a caracterização química de diversas matrizes ambientais, como solo (RIBEIRO et al., 2017; SÁ et al., 2023; SILVA et al., 2021), sedimentos (SILVA et al., 2021) e, também, plantas (ANTONANGELO; ZHANG, 2021; BORGES et al., 2020; TOWETT et al., 2016). Diversos elementos podem ser detectados e quantificados por meio desses equipamentos portáteis (de Mg até U). Alguns trabalhos já demonstraram a eficiência da técnica para determinar a concentração de elementos de interesse para análise foliar (ANDRADE et al., 2023; ANTONANGELO; ZHANG, 2021; BORGES et al., 2020; SAPKOTA et al., 2019). Apesar disso, ainda é possível observar que a quantificação de alguns elementos continua sendo um desafio, principalmente elementos mais leves como Mg e P (TOWETT et al., 2016).

As condições operacionais dos equipamentos pXRF são fatores importantes a serem considerados no momento da leitura tendo em vista uma melhor determinação dos elementos de interesse (DA SILVA et al., 2023; KIKONGI et al., 2017). Fatores como o tempo de leitura,

corrente ( $\mu\text{A}$ ) e voltagem (KeV) do equipamento podem alterar significativamente os resultados obtidos. A corrente adotada pode controlar o número de elétrons que atingem o detector do equipamento (KIKONGI et al., 2017); a energia com que os elétrons são irradiados depende da voltagem adotada, o que influencia diretamente os elementos que serão efetivamente excitados (GALLHOFER; LOTTERMOSER, 2018; SILVA et al., 2023). Além disso, o tempo de leitura pode influenciar os sinais que são efetivamente recebidos pelo detector do equipamento (NEWLANDER et al., 2015). Por esse motivo, as intensidades dos picos dos elementos no espectro podem ser influenciadas por tais condições (SILVA et al., 2023; WELTJE et al., 2015).

Modelos modernos de pXRF possuem calibrações específicas de fábrica voltadas para a análise de diversos materiais, incluindo calibrações para plantas (ANDRADE et al., 2023). Apesar disso, as matrizes usadas pelos fabricantes para construir essas calibrações são, muitas vezes, desconhecidas e podem não ser adequadas para representar adequadamente o material que está sendo analisado (SILVA et al., 2023), como por exemplo amostras foliares de diferentes culturas. A obtenção de calibrações específicas para a matriz de interesse pode se caracterizar como uma maneira mais eficiente para acessar a composição elementar das amostras (SILVA et al., 2023; NEWLANDER et al., 2015).

Além das condições operacionais que podem influenciar os resultados obtidos pelo pXRF, outra limitação dessa técnica é a não detecção de elementos leves e que são de interesse na análise foliar, como N e B (HARLON, 1998; SILVA et al., 2021; WANG et al., 2015b). Na nutrição mineral diversos elementos podem apresentar interações complexas entre si e promover relações de sinergismo, antagonismo e homeostase nas plantas (FAGERIA, 2001; FAN et al., 2021; RIEDELL, 2010). Assim, a absorção de um nutriente pode influenciar a maior ou menor absorção de outro (FAGERIA, 2001; FAN et al., 2021). Nesse sentido, utilizar ferramentas estatísticas mais poderosas como algoritmos *machine learning* podem ser úteis para acessar essas interações e contribuir para que a predição desses nutrientes seja possível ao mesmo tempo que a determinação de outros que são detectados por pXRF também seja melhorada (ANDRADE et al., 2023; ANDRADE et al., 2021). Considerando o princípio estatístico da parcimônia, que prevê que as abordagens mais simples sejam priorizadas (ACREE et al., 2020), a comparação de métodos estatísticos convencionais e métodos baseados em algoritmos *machine learning* devem ser verificadas para determinar as abordagens mais simples e eficientes em acessar o status nutricional de plantas via pXRF (FARIA et al., 2023).

Este trabalho foi realizado com os seguintes objetivos: i) avaliar condições operacionais de um equipamento de fluorescência de raios X portátil (pXRF) visando atingir maior performance para determinar a composição elementar de amostras foliares de cafeeiro; ii) utilizar métodos estatísticos convencionais e algoritmos *machine learning* para predição do status nutricional do cafeeiro utilizando dados de pXRF nas melhores condições operacionais encontradas; e iii) determinar as condições operacionais e os modelos mais adequados para acessar as concentrações de macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn), bem como para predizer categoricamente o status nutricional da cultura (baixo, adequado e alto). A hipótese do trabalho estabelece que construir calibrações específicas para cafeeiro pode melhorar a detecção de elementos via pXRF e gerar dados mais representativos para a predição de macro e micronutrientes por meio de métodos estatísticos convencionais e algoritmos *machine learning*. As interações dos nutrientes nas plantas podem contribuir para a determinação dos elementos de interesse e o uso de pXRF se caracteriza como uma alternativa rápida, precisa e ambientalmente correta para a análise foliar de cafeeiro.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Obtenção de amostras foliares de cafeeiro com diferentes concentrações de nutrientes**

Para a obtenção de amostras foliares com diferentes concentrações de nutrientes, foi conduzido um experimento em solução nutritiva em casa de vegetação localizada na UNIFUCAMP em parceria com a Universidade Federal de Uberlândia campus Monte Carmelo, MG. As mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) utilizadas foram cultivadas em tubetes contendo substratos comerciais a base de vermiculita e casca de pinus misturados a adubos de liberação lenta. Foram utilizadas sementes da cultivar Arara obtidas pela coleta seletiva e despolpa de frutos cereja. Após a despolpa dos frutos, as sementes foram secas até atingirem 13% de umidade. Para que boas mudas fossem obtidas, apenas as sementes não defeituosas foram selecionadas e, posteriormente, submetidas a tratamento químico preventivo com fungicida sistêmico e com estimulador de crescimento.

Durante a semeadura duas sementes foram adicionadas em cada tubete. Após a germinação, foi realizado desbaste e apenas a muda mais vigorosa foi mantida. Após a emissão das folhas cotiledonares, o estágio “orelha de onça”, as mudas foram lavadas com água corrente

para a remoção do substrato das raízes e transferidas para uma bandeja coletiva contendo solução nutritiva proposta por Hoagland e Arnon (1950). As mudas passaram por um período de adaptação, permanecendo durante quatorze dias na solução nutritiva contendo 50% da força iônica e por mais sete dias na solução contendo 100% da força iônica.

Ao término do período de adaptação nas bandejas coletivas, as mudas mais uniformes foram selecionadas e transferidas para vasos individuais contendo os tratamentos. A solução completa proposta por Hoagland e Arnon (1950), utilizada para cultivo das mudas, continha as seguintes concentrações: 15 mmol L<sup>-1</sup> de N; 1 mmol L<sup>-1</sup> de P; 6 mmol L<sup>-1</sup> de K; 4 mmol L<sup>-1</sup> de Ca; 2 mmol L<sup>-1</sup> de Mg; 2 mmol L<sup>-1</sup> de S; 46 μmol L<sup>-1</sup> de B; 14 μmol L<sup>-1</sup> de Mn; 0,8 μmol L<sup>-1</sup> de Zn; 0,3 μmol L<sup>-1</sup> de Cu; 0,1 μmol L<sup>-1</sup> de Mo; e 90 μmol L<sup>-1</sup> de Fe-EDTA. Foram utilizadas fontes com elevado grau de pureza (P.A.).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Foram estabelecidos 14 tratamentos, sendo: dois tratamentos controle contendo solução de Hoagland e Arnon (1950) completa, seis tratamentos contendo 0% da concentração (omissão total) e seis contendo 10% da concentração (omissão parcial) original da solução de Hoagland e Arnon (1950) para cada um dos macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) (Tabela 1). Os tratamentos contendo omissão total foram conduzidos durante 70 dias enquanto os tratamentos contendo omissão parcial foram conduzidos durante 140 dias. Para garantir maior qualidade dos resultados, o tratamento controle para as mudas cultivadas por 70 dias foi composto por oito repetições enquanto os demais tratamentos foram representados por quatro repetições cada. Desse modo, o experimento foi composto por 60 unidades experimentais (cada unidade experimental representada por uma planta) (Tabela 1).

Ao término do experimento foram coletados quatro pares de folha diagnóstico localizadas no terço médio de cada planta (RIBEIRO et al., 1999) selecionadas de cada lado da planta (totalizando 16 folhas por planta). O material foliar coletado foi seco em estufa de ventilação forçada (60° C), triturado em moinho industrial e passado em peneira de 1 mm de abertura de malha para a produção do material moído e peneirado. Este material foi reservado para posteriores análises.

Tabela 1 - Identificação dos tratamentos utilizando solução de Hoagland e Arnon (1950).

<b>Tratamento</b>	<b>Composição</b>	<b>Dias de cultivo</b>	<b>Unidades experimentais</b>
Solução completa (70 dias)	Solução de Hoagland e Arnon (1950) completa	70 dias	8
Omissão total de N	0 mmol L <sup>-1</sup> de N	70 dias	4
Omissão total de P	0 mmol L <sup>-1</sup> de P	70 dias	4
Omissão total de K	0 mmol L <sup>-1</sup> de K	70 dias	4
Omissão total de Ca	0 mmol L <sup>-1</sup> de Ca	70 dias	4
Omissão total de Mg	0 mmol L <sup>-1</sup> de Mg	70 dias	4
Omissão total de S	0 mmol L <sup>-1</sup> de S	70 dias	4
Solução completa (140 dias)	Solução de Hoagland e Arnon (1950) completa	140 dias	4
N 10% da concentração	1,5 mmol L <sup>-1</sup> de N	140 dias	4
P 10% da concentração	0,1 mmol L <sup>-1</sup> de P	140 dias	4
K 10% da concentração	0,6 mmol L <sup>-1</sup> de K	140 dias	4
Ca 10% da concentração	0,4 mmol L <sup>-1</sup> de Ca	140 dias	4
Mg 10% da concentração	0,2 mmol L <sup>-1</sup> de Mg	140 dias	4
S 10% da concentração	0,2 mmol L <sup>-1</sup> de S	140 dias	4

## 2.2 Análise foliar via fluorescência de raios X portátil (pXRF)

Neste estudo, foi utilizado um pXRF modelo Bruker® S1 Titan 800 contendo as seguintes características: tubo de Rh como fonte de raios X (50 KeV); 200  $\mu$ A; saída máxima de 4W; detector de silício (SSD). Para os testes, foram selecionados dois modos operacionais: uma calibração do fabricante destinada a amostras geológicas (modo *GeoExploration*) e o modo *Spectrometer*, onde é possível fazer os ajustes necessários das condições operacionais e obter os espectros. Os espectros obtidos no modo *Spectrometer* foram analisados utilizando o software Artax da Bruker® versão 8.0.0.476.

Para garantia e controle de qualidade (QA/QC), para o modo de calibração do fabricante (modo *GeoExploration*), quatro materiais de referência certificados (CRM) do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (<https://www.nist.gov/>) foram analisados: NIST 1515 (Apple leaves), NIST 1547 (Peach leaves), NIST 1573a (Tomato leaves) e NIST 1575a (Pine Needles). Adicionalmente, um padrão interno do Departamento de Ciência do Solo preparado com folhas de soja também foi analisado. As recuperações médias [(concentração pXRF/valor

certificado).100] e o ajuste ( $R^2$ ) para curva-padrão considerando todos os CRMs obtidos para cada elemento foram: P (211,95 %,  $R^2 = 0,88$ ), K (190,25 %,  $R^2 = 0,88$ ), Ca (149,94 %,  $R^2 = 0,99$ ), Mg (246,95 %,  $R^2 = 0,24$ ), S (230,14 %,  $R^2 = 0,97$ ), Cu (201,1%,  $R^2 = 0,83$ ), Fe (53,26 %,  $R^2 = 0,96$ ), Mn (322,29 %,  $R^2 = 0,94$ ) e Zn (120,42 %,  $R^2 = 0,95$ ).

O material foliar moído e peneirado foi acondicionado em porta-amostras Chemplex® (31,4 mm diâmetro e 21,3 mm altura) usando um filme Prolene® (0,6  $\mu\text{m}$ ) e garantindo no mínimo 1 cm de espessura de material vegetal, como recomendado por Ribeiro et al. (2021). Inicialmente, para avaliar o desempenho das condições operacionais do equipamento, foram selecionadas 8 amostras de tratamentos distintos com ampla variação nas concentrações dos nutrientes. Essas amostras foram lidas, em triplicata, em cada condição operacional testada ( $n = 24$ ). Em ambos os modos operacionais (*GeoExploration* e modo *Spectrometer*), avaliou-se, também, os seguintes tempos de leitura: 9, 15, 30, 60, 90 e 120 segundos.

No modo *Spectrometer* foram avaliadas diferentes condições operacionais combinando corrente e voltagem do equipamento, como resumido na Tabela 2. As combinações foram definidas respeitando-se a potência máxima (4W) do modelo de pXRF utilizado. Foram estabelecidos três valores baixos de corrente (5  $\mu\text{A}$ ) com valores crescentes de voltagem, e valores baixos de voltagem (10 keV) com valores crescentes de corrente.

Tabela 2 - Condições operacionais de corrente e voltagem avaliadas utilizando modo Espectrométrico.

<b>Condição operacional</b>	<b>Voltagem (KeV)</b>	<b>Corrente (<math>\mu\text{A}</math>)</b>	<b>Potência (W)*</b>
10 KeV - 10 $\mu\text{A}$	10	10	1
10 KeV - 20 $\mu\text{A}$	10	20	2
10 KeV - 40 $\mu\text{A}$	10	40	4
15 KeV - 25 $\mu\text{A}$	15	25	3,75
15 KeV - 5 $\mu\text{A}$	15	5	0,75
30 KeV - 5 $\mu\text{A}$	30	5	1,50
45 KeV - 5 $\mu\text{A}$	45	5	2,25

\*Potência = voltagem x corrente

Após os testes, foram definidos o melhor tempo de leitura e as melhores condições operacionais para cada elemento de interesse. O tempo foi definido como sendo a situação que proporcionou menor coeficiente de variação. A condição operacional foi aquela em que se obteve os melhores coeficientes de determinação ( $R^2$ ) entre o pico no espectro e o valor real obtido por análise convencional para o elemento de interesse. Selecionadas as melhores

condições operacionais, todas as amostras ( $n = 60$ ) foram analisadas em triplicata, totalizando 180 observações.

### 2.3 Análise foliar convencional

As amostras moídas e peneiradas foram submetidas à digestão nitro-perclórica (MILLER, 1998; MALAVOLTA et al., 1997). Para isso, uma sub-amostra (0,5 g) foi transferida para tubos de digestão de vidro com capacidade para 50 mL e adicionados 6 mL de solução ácida ( $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$  2:1 v/v). As amostras foram digeridas usando bloco digestor em sistema aberto (BORGES et al., 2020). Após a digestão, as amostras ficaram em repouso em condições laboratoriais até atingir temperatura ambiente (22-24 °C). Posteriormente, as amostras foram filtradas e transferidas para tubos volumétricos com capacidade para 50 mL, completando-se o volume final (50 mL) com água ultrapura. As concentrações de macro (P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Mn, Fe, Cu e Zn) foram obtidas usando um ICP-OES Ciro Vision (Spectro Analytical Instruments Inc., Kleve, Alemanha). As concentrações de N foram determinadas de acordo com o método Kjeldahl (KJELDAHL, 1883; MALAVOLTA, 1997).

### 2.4 Análise estatística

#### 2.4.1 Definição das condições operacionais

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando a linguagem de programação R versão 4.2.0 (R Development Core Team, 2022). O melhor tempo de leitura para as condições operacionais testadas foi definido de acordo com o coeficiente de variação (CV%) obtido para as 8 amostras em cada tempo avaliado (9, 15, 30, 60, 90 e 120 segundos). A comparação dos tempos de leitura foi exibida por meio de boxplots elaborados usando o pacote “*ggplot*” versão 3.4.0 (WICKHAM, 2016).

Após a definição do tempo de leitura, as melhores condições operacionais para o modo *Spectrometer* foram definidas de acordo com os valores de raiz do erro quadrático médio (RMSE) e do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) entre os resultados obtidos via análise convencional e a intensidade dos picos obtidos nos espectros. Os espectros obtidos para cada condição operacional foram reproduzidos por meio de um gráfico de linha utilizando o pacote “*ggplot*” versão 3.4.0 (WICKHAM, 2016).

Para fornecer uma visão geral mais ampla para cada elemento avaliado, foram construídos gráficos 3D usando os valores de  $R^2$  para cada condição operacional avaliada bem como para todos os tempos de leitura testados. Os gráficos foram elaborados utilizando o pacote

“*plotly*” versão 4.10.1 (SIEVERT, 2020) e estão disponíveis como material suplementar (S1).

#### 2.4.2 *Análise exploratória*

As concentrações obtidas pela análise convencional e via pXRF para as condições operacionais selecionadas foram submetidas a estatística descritiva e os seguintes parâmetros foram obtidos: mínimo, máximo, média, desvio padrão (s.d.) e coeficiente de variação (CV%). As concentrações obtidas pela análise convencional e pela calibração do fabricante (*GeoExploration*) foram expressas em  $\text{g kg}^{-1}$  e/ou  $\text{mg kg}^{-1}$ , enquanto os resultados obtidos no modo *Spectrometer* foram expressos em intensidade (*counts per second*).

Análise de componentes principais (PCA) foi realizada utilizando as concentrações obtidas por análise convencional e as concentrações obtidas via pXRF no modo *GeoExploration* e nas melhores condições operacionais encontradas, visando: i) obter correlações entre as concentrações obtidas via pXRF e pelo método convencional; e ii) verificar a sensibilidade do equipamento em diferenciar os tratamentos utilizados. Antes de realizar a análise de PCA os resultados foram centralizados e dimensionados utilizando a função padrão de escala do programa R (R Core Team, 2022). A PCA foi realizada utilizando os pacotes “*vegan*” versão 2.6-2 (OKSANEN et al., 2022) e “*ggplot2*” (WICKHAM, 2016).

#### 2.4.3 *Modelagem e validação*

Foram testados modelos de predição para os macro e micronutrientes utilizando os dados de pXRF obtidos no modo *GeoExploration* e nas duas melhores condições operacionais encontradas no modo *Spectrometer*. Os valores obtidos via pXRF para cada condição e os valores obtidos por meio de análise convencional foram organizados para compor um conjunto de dados completo contendo 180 observações. Os conjuntos de dados completos foram aleatoriamente separados em dois subconjuntos, sendo um subconjunto de modelagem com 70% ( $n = 126$ ) e outro subconjunto de validação com 30% ( $n = 54$ ) dos dados. Para essa divisão foi utilizado o pacote “*caret*” versão 6.0-92 (KUHN, 2022). A capacidade de predição dos modelos gerados foi testada no subconjunto de validação. O pacote “*Boruta*” versão 8.0.0 (MIRON; WITOLD, 2010) foi utilizado para classificar e eliminar as variáveis (elementos) que não eram considerados importantes para os modelos. O pacote classifica as variáveis da seguinte maneira: confirmado (variáveis importantes para o modelo); tentativa (variáveis sem

impacto para o modelo); e rejeitado (variáveis sem importância para o modelo) (ANDRADE et al., 2023).

Para a predição das concentrações obtidos pela análise convencional foram testados métodos de regressão linear (regressão linear simples - SLR e regressão linear múltipla - MLR) e algoritmos de *machine learning* (support vector machine – SVM e random forest – RF) (FARIA et al., 2023). Todos os modelos foram construídos utilizando o pacote “*caret*” versão 6.0-92 (KUHNS, 2022). A capacidade de predição dos modelos no subconjunto de validação foi avaliada por meio dos valores de erro quadrático médio (RMSE) (eq. 1), coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e desvio de predição residual (RPD) (eq. 2) obtidos. Os valores de RPD são classificados como:  $RPD > 2$  (predição acurada);  $1.4 \leq RPD \leq 2$  (moderadamente preciso); e  $RPD < 1.4$  (predição não confiável) (ANDRADE et al., 2023; ANDRADE et al., 2021; CHANG et al., 2001).

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - m_i)^2} \quad \text{Eq. 1}$$

$$RPD = s.d / RMSE \quad \text{Eq. 2}$$

onde,  $n$ : número de observações,  $y_i$ : valor predito,  $m_i$ : valor observado, s.d.: desvio padrão dos valores observados.

Para a predição categórica do status nutricional das amostras foliares de cafeeiro os mesmos procedimentos foram adotados. Os conjuntos de dados completos foram novamente separados em dados de validação (70%) e calibração (30%). O pacote “*Boruta*” foi utilizado para classificar e eliminar as variáveis (elementos) que não foram considerados importantes para os modelos. A predição categórica foi realizada utilizando apenas o algoritmo random forest (RF). O status nutricional das amostras foi classificado como baixo, adequado ou alto de acordo com as classes indicadas por Cantarella et al. (2022) e foi aplicado apenas para as concentrações dos macronutrientes avaliados no experimento (N, P, K, Ca, Mg e S). As classes nutricionais estabelecidas por Cantarella et al. (2022) são destinadas para plantas cultivadas em campo e foram utilizadas nesse estudo apenas para verificar a viabilidade dos modelos gerados em discriminar faixas de concentração dos elementos. A capacidade de predição dos modelos no

subconjunto de validação foi avaliada na matriz de confusão por meio dos valores de overall accuracy (variando de 0 a 1) (eq. 3) e do coeficiente Kappa de Cohen (variando de -1 a 1) (eq. 4) (ANDRADE et al., 2023). Os modelos com maiores valores para esses parâmetros foram considerados os mais acurados para a predição do status nutricional (baixo, adequado ou alto) dos elementos avaliados.

$$\text{Overall accuracy} = \frac{Pc}{N} \quad \text{Eq. 3}$$

$$\text{Cohen's Kappa} = \frac{Po - Pe}{1 - Pe} \quad \text{Eq. 4}$$

onde,  $Pc$ : soma da diagonal principal da matriz de confusão,  $N$ : número total de amostras do conjunto de validação,  $Po$ : concordância observada, e  $Pe$ : probabilidade de concordância aleatória.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Efeito do tempo nos resultados obtidos via pXRF

Os coeficientes de variação (CV%) obtidos para as concentrações de macro (P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) via pXRF nas condições operacionais avaliadas são apresentados nas Figuras 1 e 2, respectivamente. Apesar do tempo de leitura ideal ser dependente do elemento (KNIGHT et al., 2021; NEWLANDER et al., 2015), de maneira geral, observou-se que quanto maior o tempo de leitura utilizado menor foi o CV% em todas as condições operacionais e elementos avaliados (Figuras 1 e 2). Exceto para os resultados obtidos na calibração do fabricante (*GeoExploration*), observou-se um aumento linear da intensidade dos picos de todos os elementos com o aumento do tempo de leitura (Figuras 3.1 e 3.2).

O tempo de leitura é extremamente importante para que os raios X secundários característicos de cada elemento sejam corretamente identificados e quantificados pelo detector. Isso é especialmente crítico para os elementos mais leves com baixa energia de fluorescência (KIKONGI et al., 2017; NEWLANDER et al., 2015), como os macronutrientes (Figura 1). Apesar de os macronutrientes estarem presentes em maiores concentrações na amostra, o que

proporciona maior contagem dos fótons, os elementos mais leves apresentam um rendimento de fluorescência menor em relação a elementos mais pesados (KIKONGI et al., 2017). Isso acontece porque os raios X secundários emitidos por elementos mais leves podem ser reabsorvidos por seus próprios elétrons de camadas mais externas (efeito Auger) (SILVA et al., 2023; KIKONGI et al., 2017). Dependendo do tempo de leitura adotado, a ocorrência desse fenômeno afeta a profundidade crítica de penetração de raios X na matéria. Em outras palavras, sinais emitidos por átomos localizados em maiores profundidades na amostra podem não ser adequadamente detectados pelo equipamento se baixos tempos de leitura forem utilizados (KIKONGI et al., 2017).

O tempo de 60 s demonstrou ser o tempo mínimo necessário para que se tenha os menores coeficientes de variação independente do aumento de intensidade dos picos em maiores tempos de leitura (Figuras 3.1 e 3.2). De maneira geral, observa-se que até 60 s o cv reduz drasticamente, não havendo mudanças significativas entre os resultados a partir deste tempo de varredura (Figuras 1 e 2). Mesmo sendo uma condição operacional que apresenta relação com a exposição da amostra à radiação emitida pelo equipamento, ao utilizar tempos de leitura mais longos não foi possível observar uma variação substancial nos valores de intensidade/concentração obtidos em leituras acima de 60 s. (NEWLANDER et al., 2015; SILVA et al., 2023; ZHOU et al., 2020). Portanto, assim como sugerido para outros tipos de matrizes (HALL et al., 2011; NEWLANDER et al., 2015; YUAN et al., 2014; ZHOU et al., 2020), é possível estabelecer tempos de leitura que favoreçam a obtenção de resultados representativos e que possibilitem maior performance na análise.

Figura 1 - Comparação entre o coeficiente de variação (CV%) e o tempo de leitura para macronutrientes (P, K, Ca, Mg e S) em amostras foliares de cafeeiro via pXRF sob diferentes condições operacionais.



Figura 2 - Comparação entre o coeficiente de variação (CV%) e o tempo de leitura para micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) em amostras foliares de cafeeiro via pXRF sob diferentes condições operacionais.

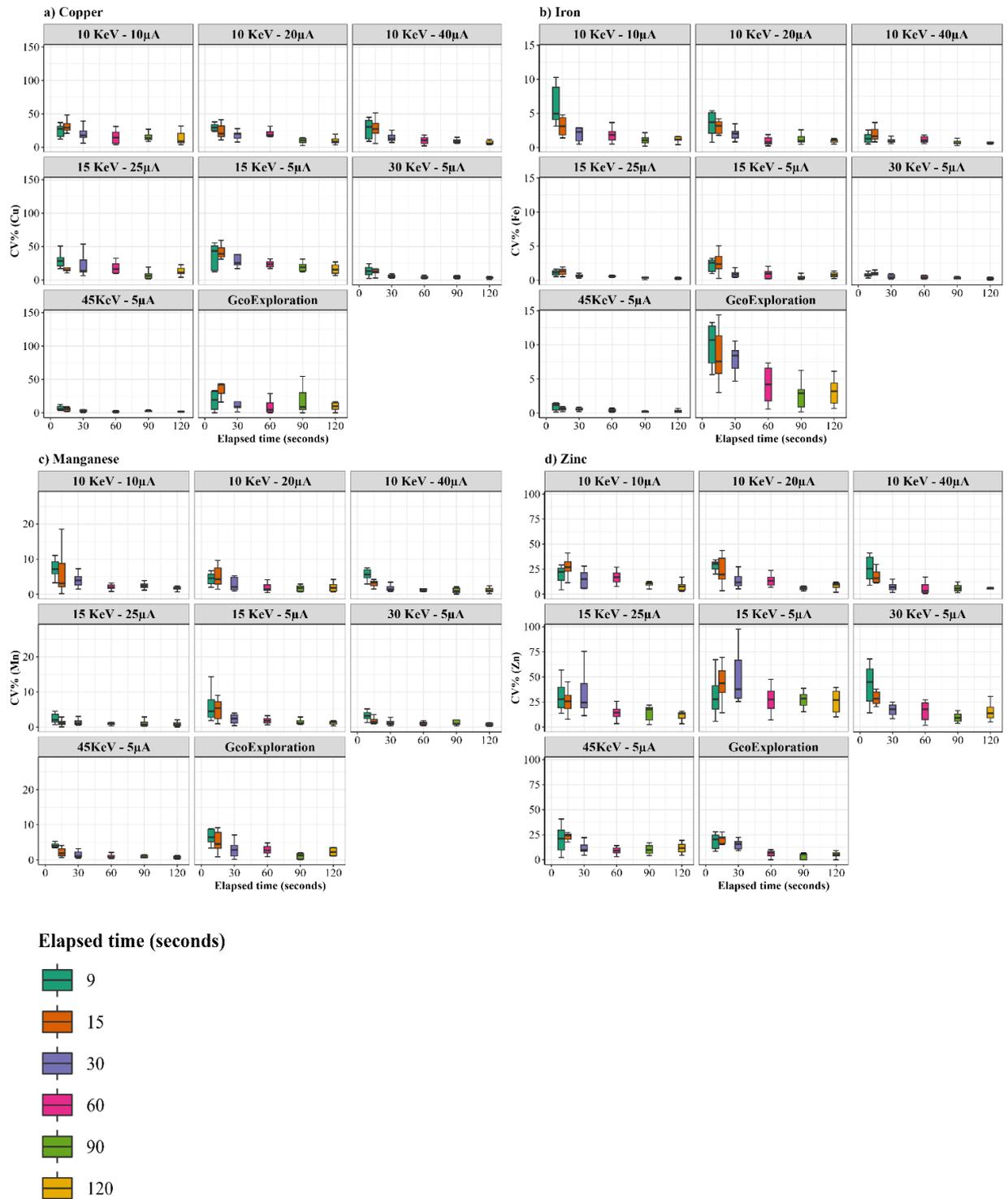


Figura 3.1 - Comparação entre intensidade/concentração e tempo de leitura para macro (P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) em amostras foliares de cafeeiro via pXRF sob diferentes condições operacionais.



Figura 3.2 - Comparação entre intensidade/concentração e tempo de leitura para macro (P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn) em amostras foliares de cafeeiro via pXRF sob diferentes condições operacionais.



### 3.2 Efeito das condições operacionais (corrente e voltagem) nos resultados obtidos com pXRF

As diferentes combinações de corrente e voltagem afetaram significativamente as intensidades dos picos de cada elemento. Na Figura 4, como exemplo da situação ocorrida em todas as amostras, são apresentados os espectros obtidos para uma amostra foliar de cafeeiro referente ao tratamento completo. De maneira expressiva podemos observar os picos das transições  $K\alpha$  e/ou  $K\beta$  dos elementos K e Ca, seguidos por Cl, S, P, Fe e Mn. Picos de Mg, Cu e Zn não foram identificados. As voltagens utilizadas nas condições operacionais testadas (variando de 10 a 45 KeV) podem efetivamente excitar as linhas K de elementos com número atômico  $< 42$ , principalmente as linhas  $K\alpha$  (GALLHOFER; LOTTERMOSER, 2018; POTTS, 2008).

Para os elementos mais leves como P, S, Cl, K e Ca, as condições operacionais com maior corrente ( $\mu\text{A}$ ) proporcionaram os sinais espectrais de maior intensidade (counts). Correntes mais altas favorecem que mais raios X secundários cheguem ao detector, favorecendo sinais de maior intensidade (BECKHOFF et al., 2006). Essa otimização facilita, pois, a detecção de elementos mais leves, enquanto para elementos mais pesados como Mn e Fe, as condições operacionais com maior voltagem (KeV) geraram picos de maior intensidade. A utilização de voltagens mais altas permite que os elétrons de átomos de maior número atômico sejam excitados, favorecendo que uma maior quantidade de raios X secundários seja emitida (BECKHOFF et al., 2006; DA SILVA et al., 2023; GALLHOFER; LOTTERMOSER, 2018). A intensidade dos picos está direta e proporcionalmente correlacionada com a concentração do elemento na amostra (WELTJE et al., 2015), permitindo a quantificação e obtenção de calibrações específicas (SILVA et al., 2023).

Na Tabela 3 são apresentados os parâmetros estatísticos após as regressões entre as intensidades dos picos e a concentração real de cada elemento para cada condição operacional. De maneira geral, as melhores combinações corrente-voltagem foram 15 KeV e 25  $\mu\text{A}$  e 10 KeV e 10  $\mu\text{A}$ , principalmente para os elementos Mg, Cu, Fe e Zn. A detecção de elementos de número atômico  $< 30$  (ex. de Mg a Zn) pode ser favorecida em condições operacionais com uso de voltagens intermediárias (15 KeV) (BECKHOFF et al., 2006; SILVA et al., 2023), o que pode ter contribuído para que essas combinações de corrente e voltagem tenham apresentado os melhores desempenhos para os elementos analisados.

Figura 4 - Assinatura espectral obtida para amostras foliares de cafeeiro cultivado em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) e analisada em diferentes condições operacionais via fluorescência de raios X portátil (pXRF).

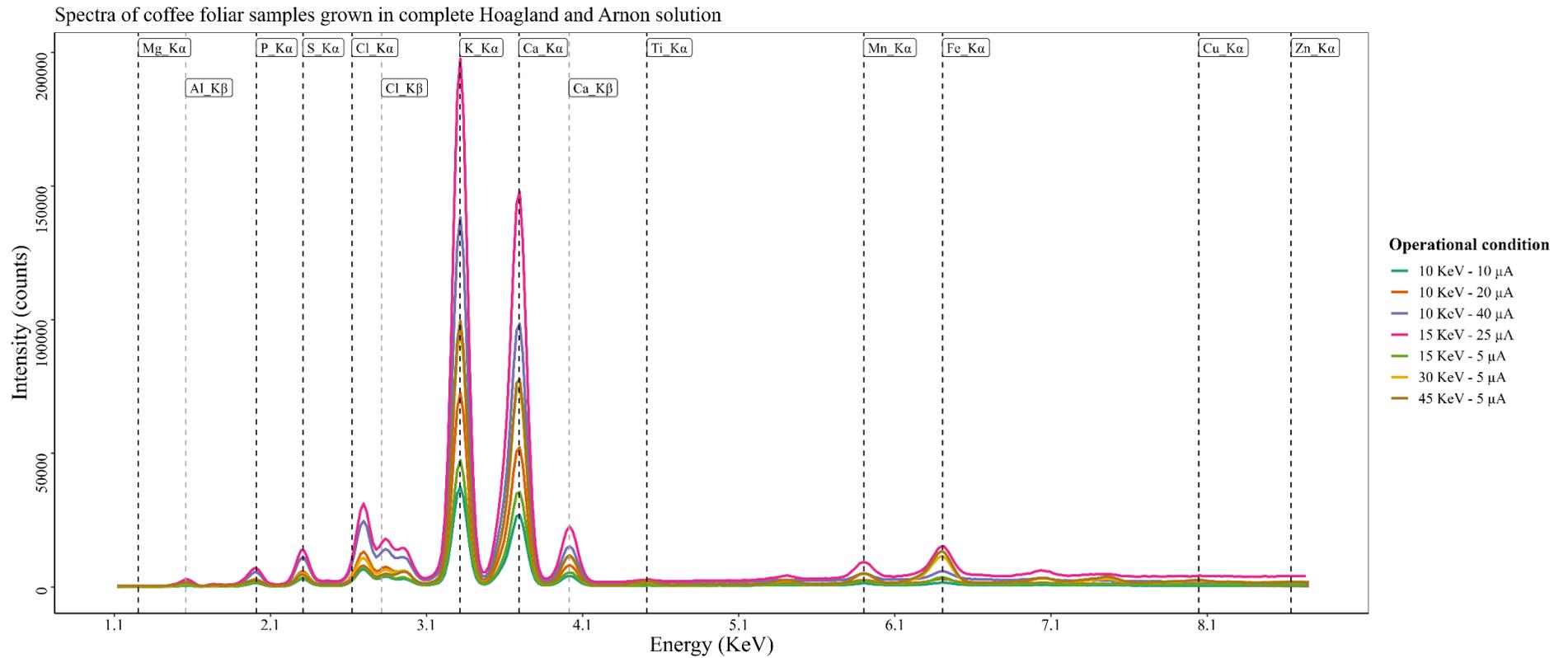


Tabela 3 - Parâmetros estatísticos avaliados para definição das condições operacionais via pXRF utilizando modo *Spectrometer*.

Nutriente	Condição operacional	CV (%)	RMSE	R <sup>2</sup>	Nutriente	Condição operacional	CV (%)	RMSE	R <sup>2</sup>
<b>P</b>	10 KeV - 10 µA	1,21	0,78	0,22	<b>Cu</b>	10 KeV - 10 µA	15,33	4,60	0,34
	10 KeV - 20 µA	1,09	0,77	0,23		10 KeV - 20 µA	20,65	5,58	0,02
	10 KeV - 40 µA	1,12	0,77	0,22		10 KeV - 40 µA	10,24	5,64	0,00
	15 KeV - 5 µA	0,99	0,77	0,22		15 KeV - 5 µA	23,92	1,77	0,90
	<b>30 KeV - 5 µA</b>	<b>0,91</b>	<b>0,77</b>	<b>0,23</b>		30 KeV - 5 µA	4,08	3,01	0,72
	45 KeV - 5 µA	2,13	0,78	0,21		45 KeV - 5 µA	1,85	3,74	0,56
	15 KeV - 25 µA	0,94	0,78	0,21		<b>15 KeV - 25 µA</b>	<b>18,19</b>	<b>1,57</b>	<b>0,92</b>
<b>K</b>	10 KeV - 10 µA	0,32	0,99	0,98	<b>Fe</b>	<b>10 KeV - 10 µA</b>	<b>2,12</b>	<b>32,71</b>	<b>0,82</b>
	<b>10 KeV - 20 µA</b>	<b>0,22</b>	<b>0,98</b>	<b>0,98</b>		10 KeV - 20 µA	1,12	36,67	0,77
	10 KeV - 40 µA	0,17	1,00	0,98		10 KeV - 40 µA	1,19	37,79	0,75
	15 KeV - 5 µA	0,31	1,02	0,97		15 KeV - 5 µA	0,93	38,95	0,74
	30 KeV - 5 µA	0,17	1,06	0,97		30 KeV - 5 µA	0,44	51,31	0,55
	45 KeV - 5 µA	0,20	1,06	0,97		45 KeV - 5 µA	0,41	56,99	0,44
	15 KeV - 25 µA	0,13	1,06	0,97		15 KeV - 25 µA	0,54	42,64	0,69
<b>Ca</b>	10 KeV - 10 µA	0,30	1,14	0,87	<b>Mn</b>	10 KeV - 10 µA	2,06	15,08	0,99
	10 KeV - 20 µA	0,29	1,15	0,87		10 KeV - 20 µA	2,33	19,05	0,98
	10 KeV - 40 µA	0,21	1,25	0,85		10 KeV - 40 µA	1,92	18,36	0,98
	15 KeV - 5 µA	0,24	1,08	0,89		<b>15 KeV - 5 µA</b>	<b>2,18</b>	<b>13,15</b>	<b>0,99</b>
	<b>30 KeV - 5 µA</b>	<b>0,27</b>	<b>1,02</b>	<b>0,90</b>		30 KeV - 5 µA	1,11	13,27	0,99
	45 KeV - 5 µA	0,20	1,26	0,85		45 KeV - 5 µA	1,03	18,22	0,98
	15 KeV - 25 µA	0,14	1,19	0,86		15 KeV - 25 µA	1,08	15,09	0,99
<b>Mg</b>	10 KeV - 10 µA	30,32	0,53	0,82	<b>Zn</b>	<b>10 KeV - 10 µA</b>	<b>16,78</b>	<b>1,19</b>	<b>0,49</b>
	10 KeV - 20 µA	16,15	0,51	0,83		10 KeV - 20 µA	13,62	1,65	0,01
	10 KeV - 40 µA	19,16	0,38	0,91		10 KeV - 40 µA	6,17	1,65	0,01
	15 KeV - 5 µA	26,61	0,68	0,69		15 KeV - 5 µA	29,14	1,58	0,09
	30 KeV - 5 µA	32,43	0,89	0,48		30 KeV - 5 µA	15,87	1,49	0,19
	45 KeV - 5 µA	30,95	0,95	0,40		45 KeV - 5 µA	9,03	1,66	0,00
	<b>15 KeV - 25 µA</b>	<b>8,98</b>	<b>0,30</b>	<b>0,94</b>		15 KeV - 25 µA	14,10	1,33	0,35
<b>S</b>	10 KeV - 10 µA	1,55	0,18	0,57					
	10 KeV - 20 µA	0,82	0,18	0,59					
	10 KeV - 40 µA	0,48	0,18	0,60					
	15 KeV - 5 µA	0,80	0,18	0,61					
	30 KeV - 5 µA	0,95	0,18	0,61					
	<b>45 KeV - 5 µA</b>	<b>1,00</b>	<b>0,17</b>	<b>0,63</b>					
	15 KeV - 25 µA	0,43	0,17	0,62					

### 3.3 Descrição geral dos dados obtidos via pXRF para as condições operacionais selecionadas

Na Tabela 4 é apresentada a estatística descritiva dos resultados obtidos pela análise convencional e via pXRF (*GeoExploration*, 10 KeV - 10 µA e 15 KeV - 25 µA). Doze elementos (P, K, Ca, Mg, S, Cl, Al, Cu, Fe, Mn, Zn e Ti) foram identificados nas condições

operacionais avaliadas via pXRF. As altas variações apresentadas para os elementos quantificados pelo método convencional refletem os níveis nutricionais que foram obtidos em razão do cultivo em solução nutritiva com diferentes concentrações dos nutrientes. Para os elementos K, Ca, Mg, Fe e Mn os resultados obtidos via pXRF acompanharam a variabilidade (CV%) apresentada pelos resultados convencionais, indicando a sensibilidade do equipamento em detectar esses elementos na matriz avaliada, assim como observado em outros trabalhos (ANDRADE et al., 2023; ANTONANGELO; ZHANG, 2021; BORGES et al., 2020). Já para os elementos P, S, Cu e Zn os resultados obtidos via pXRF não acompanharam essa variação. P e S são elementos leves ( $Z < 17$ ) e, apesar de estarem presentes em maiores concentrações (macronutrientes) em amostras foliares, podem ter sua detecção limitada por técnicas de XRF (BORGES et al., 2020; COSTA JUNIOR et al., 2020). Por outro, apesar de Cu e Zn serem elementos mais pesados ( $Z > 29$ ), a baixa faixa de concentração desses elementos em plantas pode ter comprometido sua detecção pelo equipamento (BORGES et al., 2020; EPSTEIN; BLOOM, 2005; COSTA JUNIOR et al., 2020).

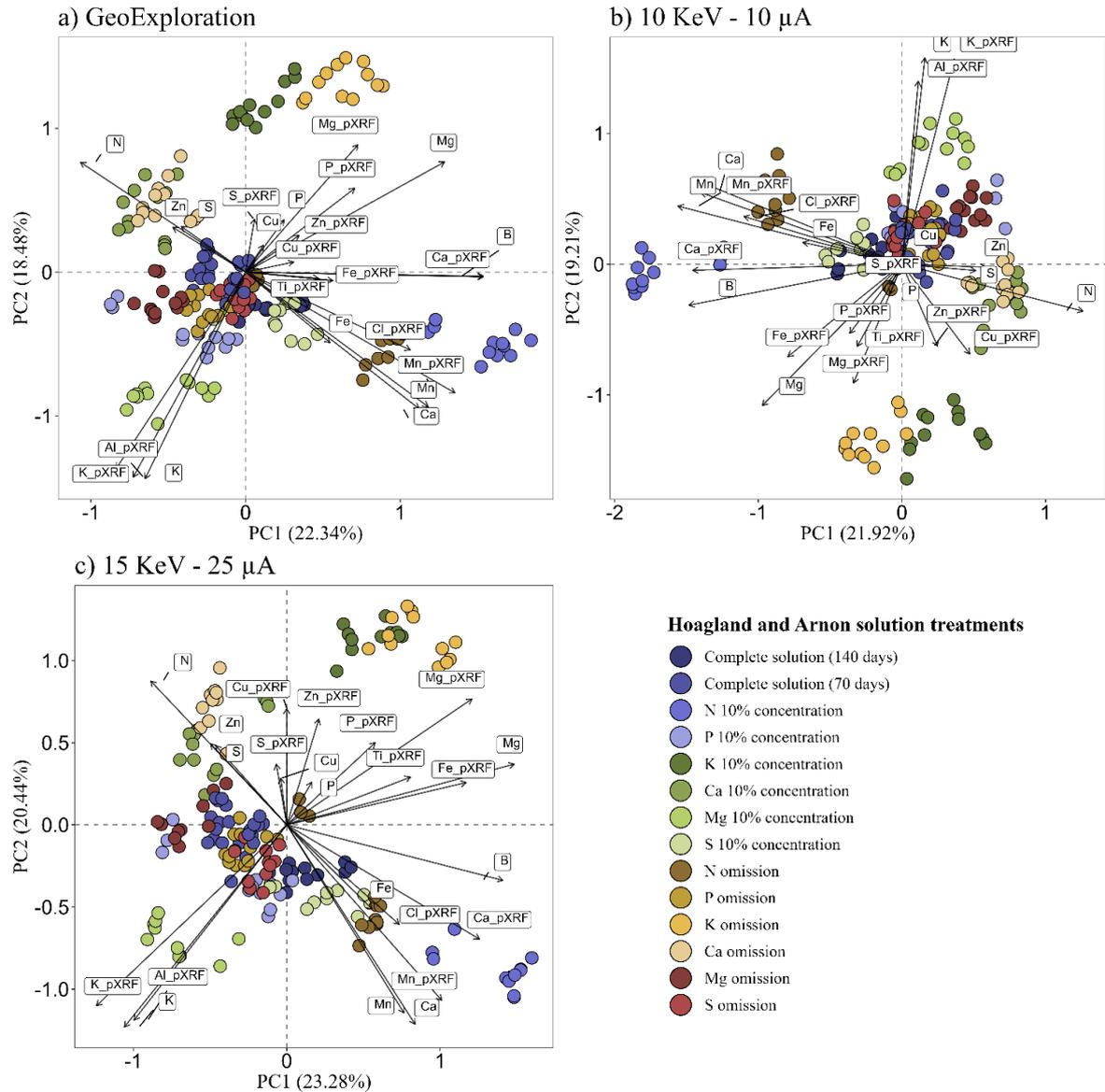
Por meio da análise de componentes principais (PCA), observou-se que todas as condições operacionais avaliadas foram capazes de diferenciar os tratamentos adotados (Figura 5). A PC1 + PC2 para o modo *GeoExploration* (Figura 5a), 10 KeV - 10  $\mu$ A (Figura 5b) e 15 KeV - 25  $\mu$ A (Figura 5c) foram representativas e explicaram 40,82%, 41,13% e 43,72% da variabilidade total do conjunto de dados, respectivamente. De maneira geral, o padrão de distribuição das observações e dos vetores na PCA é similar entre as condições operacionais avaliadas. O ângulo agudo formado entre os vetores de alguns elementos obtidos em análise convencional e via pXRF, como para K, Ca e Mn, indicam uma forte correlação positiva entre os resultados obtidos em ambos os métodos. Por outro lado, o ângulo obtuso formado entre os vetores de outros elementos como K e Mg demonstram uma forte correlação negativa entre esses elementos. A relação de antagonismo entre esses elementos é bem conhecida e pode explicar esse comportamento (XIE et al., 2021). As diversas interações apresentadas pelos elementos nas plantas e que foram exibidas por meio da PCA podem contribuir para o melhor entendimento dos modelos de predição que serão gerados, assim como observado por Andrade et al. (2023) ao avaliar folhas secas e moídas de eucalipto.

Tabela 4 - Estatística descritiva da composição elementar obtida por análise convencional e via pXRF sob diferentes condições operacionais usando folhas secas e moídas de cafeeiro cultivado em solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950).

<b>Parâmetro</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>S</b>	<b>Cl</b>	<b>Al</b>	<b>B</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>	<b>Ti</b>
<b>Unid.</b>	g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>					
<b>Convencional</b>														
Mín	15,8	0,5	8,5	5,8	0,8	1,3	nd	Nd	29,6	1	223	45	5	nd
Máx	43,3	4,7	40,7	18,2	5,4	5,7	nd	Nd	86	18,4	493	557	66	nd
Media	33,6	2,4	28,1	12,5	3,2	2,4	nd	Nd	44,4	6,2	316	223,8	14,9	nd
s.d.	6,9	1,3	7,5	3,1	1	0,8	nd	Nd	13,3	4,6	58,6	112,7	12,7	nd
CV (%)	20,7	52,9	26,7	25	32,8	33,3	nd	Nd	29,9	74,8	18,6	50,4	84,8	nd
<b>GeoExploration</b>														
Mín	nd	2,61	17,18	1,27	< LOD	3,91	1,37	1,84	nd	< LOD	52,00	253,00	9,00	< LOD
Máx	nd	12,70	73,38	36,93	14,78	8,68	14,66	12,27	nd	29,00	1165,00	2424,00	17,00	192,00
Media	nd	8,14	52,41	18,91	7,14	6,95	3,34	8,02	nd	11,22	414,58	934,19	11,79	33,84
s.d.	nd	2,37	14,04	8,14	2,01	1,05	3,00	2,34	nd	6,52	207,83	450,47	1,54	45,00
CV (%)	nd	29,15	26,80	43,05	28,14	15,09	89,96	29,19	nd	58,13	50,13	48,22	13,05	132,95
<b>Unid,</b>	<b>Intensidade – counts per second</b>													
<b>10 KeV - 10 µA</b>														
Mín	nd	2557	70828	57547	30	9574	25896	320	nd	302	5792	1776	336	353
Máx	nd	11430	282278	175325	298	17890	52235	908	nd	1148	10719	10329	1001	1418
Media	nd	7442,23	205887,77	118290,77	150,35	14697,86	29687,45	646,73	nd	594,83	7596,43	4444,73	570,64	771,18
s.d.	nd	2106,32	54009,65	27339,26	52,72	1908,93	5938,90	124,51	nd	136,23	1032,86	1703,82	100,50	199,47
CV (%)	nd	28,30	26,23	23,11	35,07	12,99	20,00	19,25	nd	22,90	13,60	38,33	17,61	25,87
<b>15 KeV - 25 µA</b>														
Mín	nd	12697	377613	322941	183	36221	121008	1859	nd	1569	78267	13883	612	3554
Máx	nd	54595	1536343	985194	1188	74818	247009	4121	nd	6364	127807	90999	2609	8765
Media	nd	35141,57	1108855,23	668225,75	646,25	63448,87	139450,35	3372,43	nd	3285,31	97423,62	36948,09	1572,99	5487,39
s.d.	nd	10006,48	285280,50	150692,84	184,06	8570,90	28844,52	539,35	nd	937,81	12262,09	15739,35	325,85	1054,50
CV (%)	nd	28,47	25,73	22,55	28,48	13,51	20,68	15,99	nd	28,55	12,59	42,60	20,72	19,22

Mín: mínimo; Máx: máximo; s.d.: desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; nd: não determinado.

Figura 5 - Análise de componentes principais (PCA) para os dados obtidos por análise convencional e via pXRF nas condições operacionais avaliadas: a) GeoExploration; b) 10 KeV - 10  $\mu$ A; c) 15 KeV - 25  $\mu$ A.



### 3.4 Predição de macro e micronutrientes usando dados de pXRF

Para todas as condições operacionais, excelentes predições foram alcançadas para os dados de validação da maioria dos macro e micronutrientes avaliados (Tabela 5). Os modelos que utilizaram algoritmos de *machine learning* foram os mais precisos ( $RPD > 2$ ) para todos os nutrientes, com destaque para os modelos gerados pelo algoritmo random forest (RF). Para os modelos gerados por esse algoritmo elevados valores de  $R^2$  (0,67 a 0,99) e RPD (1,74 a 9,03) foram observados em todas as condições operacionais avaliadas. Para os nutrientes P ( $R^2=0,94$ ,  $RPD = 2,85$ ), K ( $R^2 = 0,99$ ,  $RPD = 9,03$ ), Mg ( $R^2 = 0,94$ ,  $RPD = 3,90$ ), S ( $R^2 = 0,87$ ,  $RPD = 2,29$ ), Cu ( $R^2 = 0,92$ ,  $RPD = 3,4$ ), Fe ( $R^2 = 0,85$ ,  $RPD = 2,31$ ) e Zn ( $R^2 = 0,74$ ,  $RPD = 2,10$ ) os modelos utilizando dados obtidos pela calibração do fabricante (*GeoExploration*) foram os mais precisos. Já para N ( $R^2 = 0,89$ ,  $RPD = 2,96$ ), Ca ( $R^2 = 0,97$ ,  $RPD = 5,28$ ), B ( $R^2 = 0,90$ ,  $RPD = 3,17$ ) e Mn ( $R^2 = 0,98$ ,  $RPD = 6,40$ ) os modelos mais precisos foram observados para a condição operacional 15 KeV - 25  $\mu$ A. Como esperado para a hipótese levantada, construir condições operacionais específicas e que mais se adequem para a matriz que será avaliada podem contribuir para que modelos de predição mais precisos sejam obtidos para os elementos ou parâmetros de interesse. A Figura 6 apresenta o gráfico de dispersão dos valores observados e preditos para os modelos mais precisos.

As variáveis mais importantes para o modelo de predição de cada nutriente são mostradas na Figura 6. Exceto para Mg e Zn, as próprias concentrações de todos os elementos que são diretamente detectados pela técnica pXRF (P, K, Ca, S, Cu, Fe e Mn) foram as variáveis mais importantes para as predições, assim como observado por Andrade et al. (2023). Além da construção de condições operacionais, o preparo de amostras secas, moídas e que atinjam a espessura de leitura recomendada atenuam a influência desses fatores no momento da leitura e favorecem que uma melhor determinação desses elementos seja obtida (RIBEIRO et al., 2021; SILVA et al., 2023; ZHOU et al., 2020).

N e B não podem ser diretamente detectados via pXRF, no entanto elementos que possuem alguma relação com esses elementos na nutrição de plantas podem auxiliar na composição de modelos preditivos (ANDRADE et al., 2023). Como é possível observar na Figura 7, a concentração de Cl obtida na condição operacional 15 KeV - 25  $\mu$ A foi a variável mais importantes para a predição desses dois nutrientes e modelos precisos foram gerados (Tabela 5; Figura 6). O Cl é absorvido pelas plantas na forma de ânion ( $Cl^-$ ) e pode apresentar uma forte interação com outros nutrientes absorvidos na forma aniônica, como  $B(OH)_4^-$  e N-

$\text{NO}_3^-$  (MEURER; FERNANDES, 2006; ROSALES et al., 2020). Estudos recentes apontam que o Cl pode melhorar a utilização de  $\text{NO}_3^-$  bem como promover sua maior eficiência de uso (COLMENERO-FLORES et al., 2019; ROSALES et al., 2020). Ramirez-Builes et al. (2023) observaram que até certas concentrações o Cl pode influenciar significativamente a eficiência de uso de nitrogênio em cafeeiro cultivado em casa de vegetação.

Para a predição de Mg as variáveis mais importantes foram as concentrações de Ca e K (Figura 7). Esses nutrientes são absorvidos pelas plantas na forma catiônica e podem apresentar diversas interações (FAGERIA, 2001; JAKOBSEN, 1993; RAMÍREZ-BUILES et al., 2020; XIE et al., 2021). Devido a essa característica, em determinadas condições esses elementos podem competir pelos mesmos sítios de absorção (XIE et al., 2021). Essa interação é mais acentuada principalmente entre K e Mg, onde a absorção e o transporte de Mg podem ser inibidos em condições onde não ocorra um balanço nutricional entre esses elementos (GRANSEE; FÜHRS, 2013; SENBAYRAM et al., 2015; XIE et al., 2021). A utilização de tratamentos envolvendo doses desses nutrientes em solução nutritiva contribuíram para que essas interações fossem mais facilmente observadas na cultura do café (CUNHA et al., 2012; FLORES et al., 2016; RAMÍREZ-BUILES et al., 2020), promovendo modelos de predição mais precisos para esse elemento. Devido às limitações relacionadas a detecção de Mg via pXRF, sua determinação direta continua sendo um desafio para o uso da técnica (ANTONANGELO; ZHANG, 2021; BORGES et al., 2020) e demandavam por condições operacionais específicas, como a realização de leituras em condição de vácuo (TOWETT et al., 2016). Mesmo ao utilizar métodos mais complexos como algoritmos de *machine learning*, uma baixa capacidade preditiva ( $R^2 = 0,30$  a  $R^2 = 0,49$ ) havia sido registrada para esse elemento em amostras foliares de eucalipto (ANDRADE et al., 2023).

As variáveis mais importantes para a predição de Zn foram as concentrações de Ca e Cu (Figura 7). Zn e Cu são metais de transição e podem apresentar comportamentos similares na absorção (GONG et al., 2020; RAI et al., 2021). Para algumas culturas esses elementos são sinérgicos e a presença de um pode promover a absorção de outro (LIU et al., 2021; TANI; BARRINGTON, 2005). As interações entre Ca e Zn também são bem conhecidas e efeitos antagônicos podem ser observados. Tendo em vista que a absorção de Zn pode ser mais favorecida em ambientes com menores concentrações de Ca (FAGERIA, 2001; FAN et al., 2021; SUGANYA et al., 2020), os tratamentos envolvendo doses desse macronutriente em solução nutritiva para o cultivo de cafeeiro podem ter evidenciado essa interação.

Mesmo que os melhores modelos de predição tenham sido obtidos para os métodos utilizando algoritmos de *machine learning* (RF e SVM), para alguns elementos como K, Ca, Cu e Mn as predições obtidas por meio dos métodos de regressão linear (LR e MLR) foram classificadas como precisas ( $RPD > 2$ ) (Tabela 5). Esse resultado demonstra que nas condições avaliadas as concentrações obtidas diretamente via pXRF e submetidas a técnicas estatísticas convencionais puderam apresentar boas correlações com os resultados obtidos por análise convencional para esses elementos. Considerando os princípios da parcimônia (ACREE et al., 2020), a utilização de métodos de regressão linear para a predição desses elementos também pode ser considerada adequada.

Por meio dos resultados obtidos foi possível observar que a utilização de amostras de cafeeiro cultivado em ambiente controlado promoveu a construção de um banco de dados mais diversificado. A variabilidade nutricional apresentada por esse conjunto de dados permitiu que as interações entre diversos elementos fossem observadas para essa cultura, o que favoreceu a criação de modelos de predição mais precisos para todos os nutrientes avaliados, mesmo para aqueles que não são diretamente detectados via pXRF. A definição de condições operacionais que mais se adequassem a essa matriz permitiu melhorias na predição de alguns elementos, com destaque para a predição de N e B. A utilização de amostras com níveis nutricionais construídos (como as utilizadas nesse trabalho) para culturas específicas pode contribuir para que melhores modelos sejam treinados e que boa capacidade preditiva seja atingida.

Tabela 5 - Parâmetros estatísticos (RMSE, R<sup>2</sup> e RPD) para os modelos de predição de macro- e micronutrientes no conjunto de dados de validação (n = 54).

Nutriente	Modelo	GeoExploration			15 KeV - 25 µA			10KeV - 10 µA		
		RMSE	R <sup>2</sup>	RPD	RMSE	R <sup>2</sup>	RPD	RMSE	R <sup>2</sup>	RPD
N	LR	--*	--	--	--	--	--	--	--	--
	MLR	4,36	0,55	1,50	4,40	0,58	1,55	4,71	0,48	1,40
	SVM	4,65	0,49	1,42	4,53	0,55	1,49	4,75	0,47	1,38
	<b>RF</b>	2,73	0,83	2,32	<b>2,26</b>	<b>0,89</b>	<b>2,96</b>	3,77	0,67	1,74
P	LR	1,11	0,34	1,18	1,10	0,31	1,20	1,08	0,37	1,20
	MLR	1,03	0,43	1,26	1,02	0,41	1,31	1,03	0,42	1,27
	SVM	1,04	0,42	1,32	1,05	0,37	1,26	1,04	0,42	1,29
	<b>RF</b>	<b>0,32</b>	<b>0,94</b>	<b>2,85</b>	0,39	0,91	2,74	0,46	0,89	2,40
K	LR	1,77	0,94	4,17	1,60	0,95	4,69	1,78	0,94	4,16
	MLR	1,39	0,96	5,29	1,33	0,97	5,66	1,56	0,95	4,71
	SVM	1,43	0,96	5,16	1,31	0,97	5,75	1,56	0,95	4,73
	<b>RF</b>	<b>0,82</b>	<b>0,99</b>	<b>9,03</b>	0,99	0,98	7,59	1,13	0,98	6,50
Ca	LR	1,92	0,58	1,55	1,40	0,79	2,18	1,44	0,76	2,06
	MLR	0,79	0,93	3,74	0,84	0,92	3,60	0,92	0,90	3,18
	SVM	0,90	0,91	3,31	0,87	0,92	3,46	0,95	0,90	3,04
	<b>RF</b>	0,66	0,95	4,38	<b>0,55</b>	<b>0,97</b>	<b>5,28</b>	0,62	0,96	4,59
Mg	LR	0,80	0,40	1,29	0,61	0,65	1,67	0,89	0,27	1,16
	MLR	0,64	0,62	1,64	0,57	0,69	1,76	0,72	0,51	1,43
	SVM	0,68	0,57	1,52	0,58	0,69	1,73	0,73	0,50	1,42
	<b>RF</b>	<b>0,26</b>	<b>0,94</b>	<b>3,90</b>	0,28	0,93	3,60	0,35	0,89	2,89
S	LR	0,60	0,43	1,30	0,71	0,21	1,14	0,73	0,16	1,09
	MLR	0,52	0,57	1,54	0,56	0,50	1,42	0,68	0,26	1,17
	SVM	0,57	0,48	1,32	0,60	0,43	1,26	0,68	0,26	1,13
	<b>RF</b>	<b>0,29</b>	<b>0,87</b>	<b>2,29</b>	0,37	0,78	1,77	0,44	0,70	1,63
B	LR	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	MLR	7,75	0,55	1,46	7,37	0,62	1,50	8,00	0,52	1,43
	SVM	7,66	0,56	1,49	7,37	0,62	1,56	8,18	0,50	1,41
	<b>RF</b>	4,14	0,87	2,79	<b>3,69</b>	<b>0,90</b>	<b>3,17</b>	5,19	0,80	2,20
Cu	LR	2,03	0,81	2,29	2,73	0,63	1,64	4,60	0,01	1,01
	MLR	2,09	0,79	2,22	2,64	0,66	1,72	3,67	0,37	1,26
	SVM	2,07	0,80	2,22	2,66	0,65	1,71	3,71	0,35	1,21
	<b>RF</b>	<b>1,34</b>	<b>0,92</b>	<b>3,40</b>	1,45	0,90	3,09	1,61	0,88	2,56
Fe	LR	34,14	0,47	1,37	50,56	0,39	1,29	38,52	0,33	1,20
	MLR	31,96	0,54	1,45	37,10	0,67	1,76	32,29	0,53	1,36
	SVM	30,37	0,58	1,50	39,71	0,62	1,61	31,88	0,54	1,32
	<b>RF</b>	<b>19,93</b>	<b>0,85</b>	<b>2,31</b>	27,03	0,83	2,25	22,15	0,78	2,12
Mn	LR	30,09	0,92	3,56	29,62	0,93	3,73	32,22	0,91	3,31
	MLR	23,67	0,95	4,53	20,37	0,97	5,36	23,96	0,95	4,44
	SVM	23,38	0,95	4,53	21,18	0,96	5,11	23,92	0,95	4,39
	<b>RF</b>	19,43	0,97	5,54	<b>17,29</b>	<b>0,98</b>	<b>6,40</b>	17,74	0,97	5,48
Zn	LR	10,55	0,02	1,00	12,93	0,01	1,01	10,62	0,00	1,01
	MLR	8,59	0,35	1,22	10,71	0,32	1,22	9,82	0,15	1,03
	SVM	9,14	0,26	1,07	11,47	0,22	1,06	10,02	0,11	1,00
	<b>RF</b>	<b>4,88</b>	<b>0,79</b>	<b>2,10</b>	7,62	0,65	1,60	6,67	0,61	1,55

--\*: não detectado diretamente via pXRF.

Figura 6 - Valores observados e preditos para os melhores modelos de predição de macro e micronutrientes em amostras foliares de cafeeiro baseado em dados obtidos via pXRF sob diferentes condições operacionais.

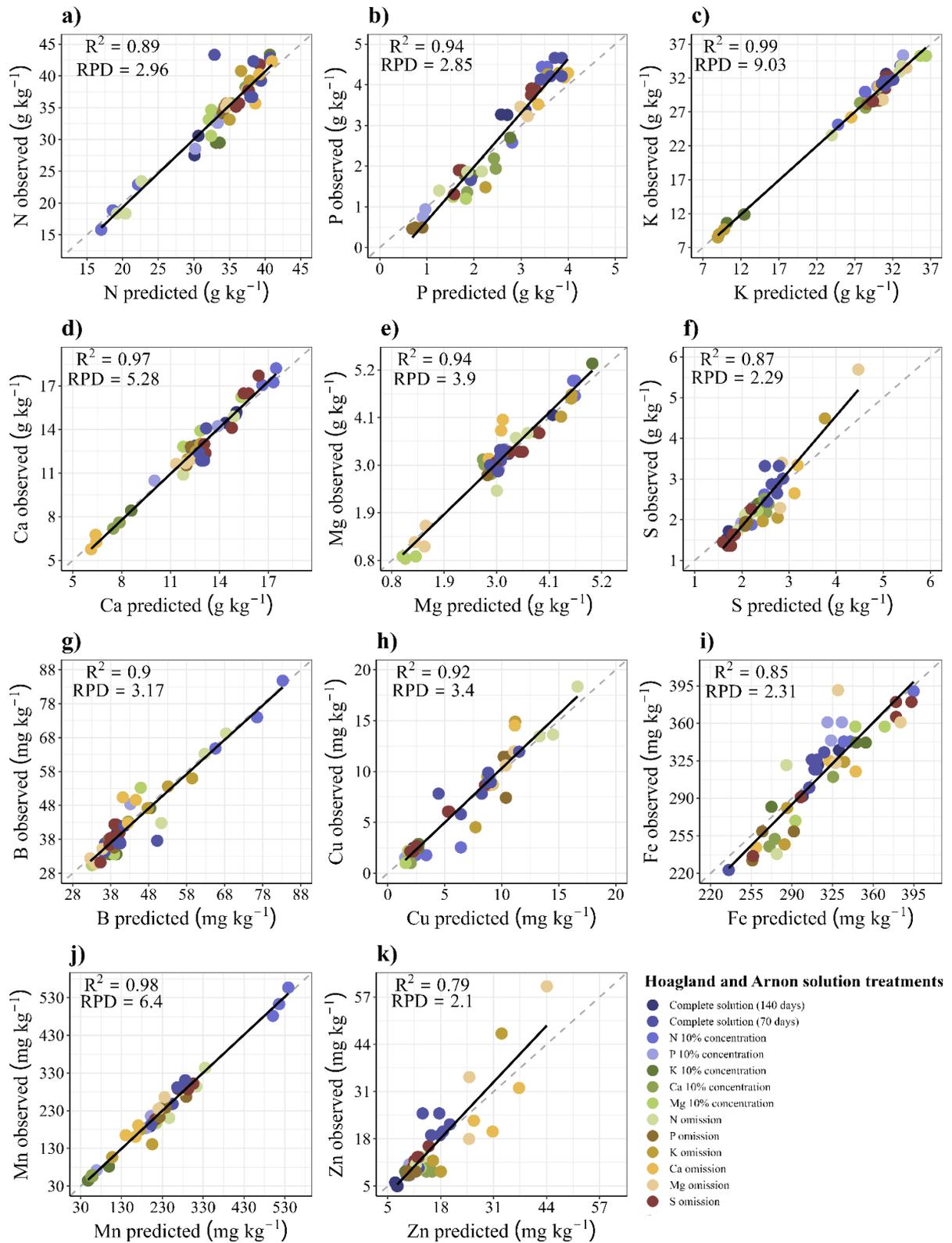
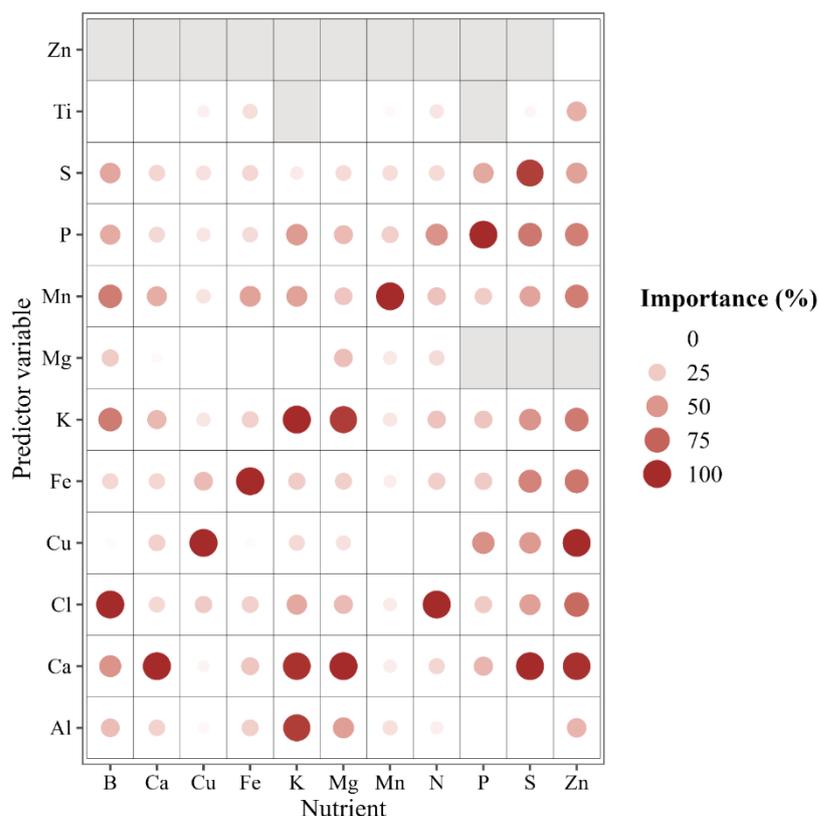


Figura 7 - Variáveis de importância para os modelos de predição de macro e micronutrientes em amostras foliares de cafeeiro. Variáveis em cores cinza não foram usadas no modelo de predição dos nutrientes.



### 3.5 Predição categórica do status nutricional de cafeeiro usando dados de pXRF

Os modelos de predição categórica foram obtidos para os níveis nutricionais dos macronutrientes avaliados no experimento em solução nutritiva (N, P, K, Ca, Mg e S). Na Figura 8 são apresentados os parâmetros de acurácia da predição para as condições operacionais testadas. De maneira geral, foi possível observar que todas as condições avaliadas produziram modelos com boa acurácia de predição (ANDRADE et al., 2021; LANDIS; KOCH, 1977; MANCINI et al., 2019), com valores de coeficiente Kappa de Cohen e Overall accuracy > 0.50 e próximos a 1 para todos os nutrientes. A condição operacional 10 KeV - 10  $\mu$ A apresentou os modelos mais acurados para os elementos N, K, Ca e Mg. Apesar dessa calibração não ter apresentado os melhores modelos de predição numérica (ver sessão 3.4), os erros apresentados nesse tipo de predição nem sempre refletem em classificações incorretas para modelos categóricos (ANDRADE et al., 2023). As condições operacionais *GeoExploration* e 15 KeV - 25  $\mu$ A apresentaram os melhores modelos categóricos para P e S, respectivamente (Figura 8). Assim como observado para a cultura do eucalipto (ANDRADE et al., 2023), os modelos mais acurados foram obtidos para a classificação do nível nutricional de S.

A matriz de confusão apresenta os erros e acertos na classificação dos níveis nutricionais preditos no conjunto de validação para os modelos de maior acurácia (Figura 9). Na Figura 10 são apresentadas as variáveis mais importantes para a construção de cada modelo. Assim como foi observado para os modelos numéricos (ver sessão 3.4), a concentração obtida diretamente via pXRF para os elementos P, K, Ca e S foram as variáveis mais importantes para o modelo categórico desses nutrientes. Do mesmo modo, as concentrações de Ca e K foram as variáveis mais importantes para a predição do nível nutricional de Mg e a concentração de Cl foi a mais importante para o modelo de N.

Esses resultados demonstram que as condições operacionais construídas especificamente para a cultura do café puderam gerar modelos categóricos mais acurados para avaliar o status nutricional dessa cultura. A utilização de dados obtidos diretamente dos espectros de pXRF e modelados via random forest mostrou ser uma alternativa eficiente para a classificação nutricional de macronutrientes. A construção de modelos categóricos é uma alternativa promissora para permitir a avaliação do status nutricional dessa e outras culturas de maneira mais rápida, eficiente e menos onerosa. O acesso mais rápido a essas informações pode contribuir para que o manejo mais adequado seja adotado em campo no momento certo, favorecendo que maiores produtividades sejam alcançadas ao mesmo tempo em que as demandas nutricionais da cultura sejam atendidas. A calibração de modelos que possam fornecer o diagnóstico nutricional de maneira mais rápida pode contribuir para a identificação de fome oculta nas culturas antes mesmo que sintomas visuais sejam manifestados. Dessa maneira, tomadas de decisão mais rápidas e eficientes podem ser favorecidas. A manutenção do equilíbrio nutricional adequado nas áreas de cultivo contribui para que não ocorram faltas e nem excessos no fornecimento desses nutrientes.

Figura 8 - Coeficiente Kappa de Cohen e Overall accuracy dos modelos de classificação do status nutricional de macronutrientes em amostras foliares de cafeeiro baseado em dados obtidos via pXRF sob diferentes condições operacionais.

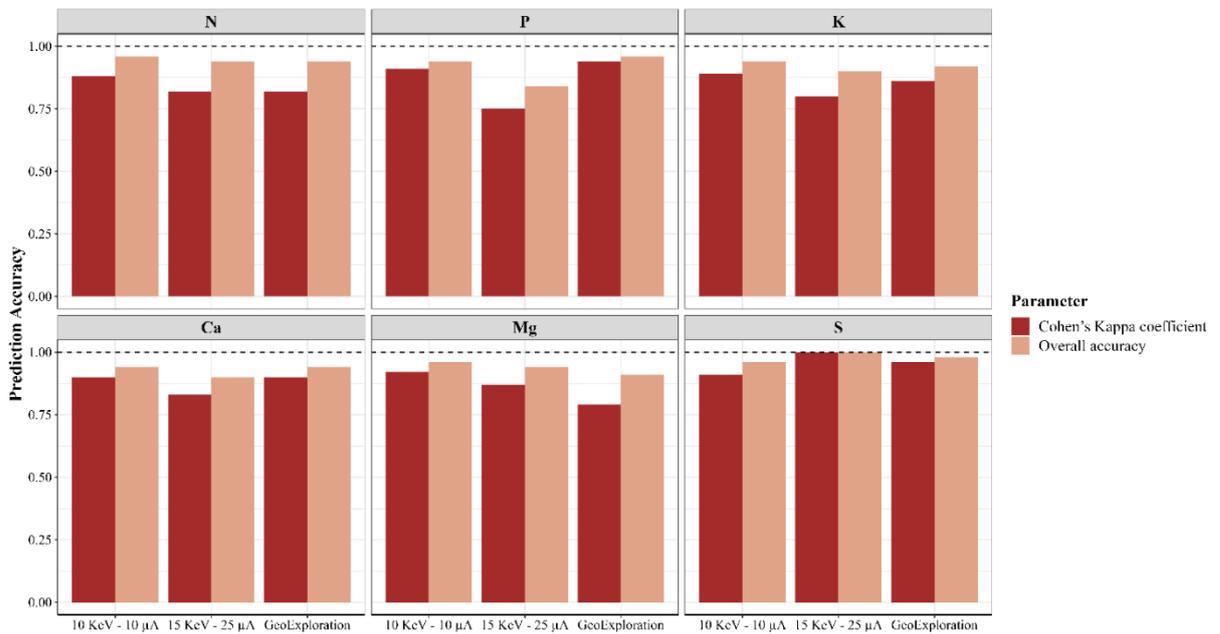


Figura 9 - Matriz de confusão dos melhores modelos de classificação do status nutricional de macronutrientes em amostras foliares de cafeeiro.

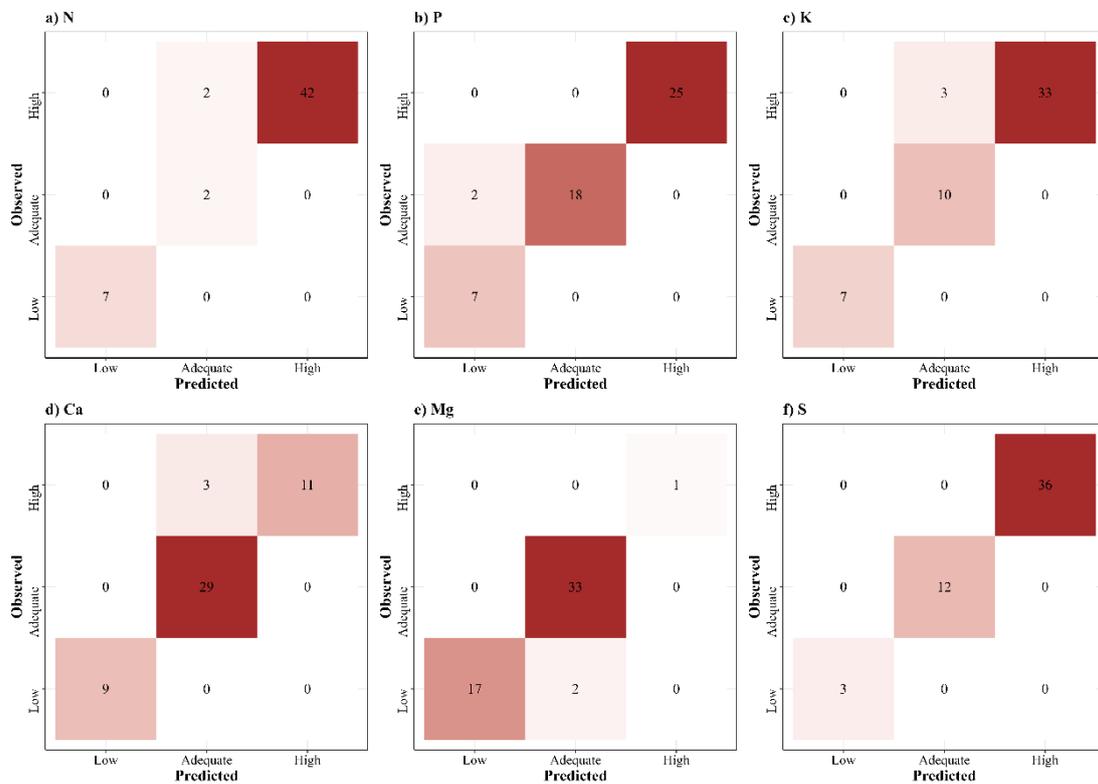
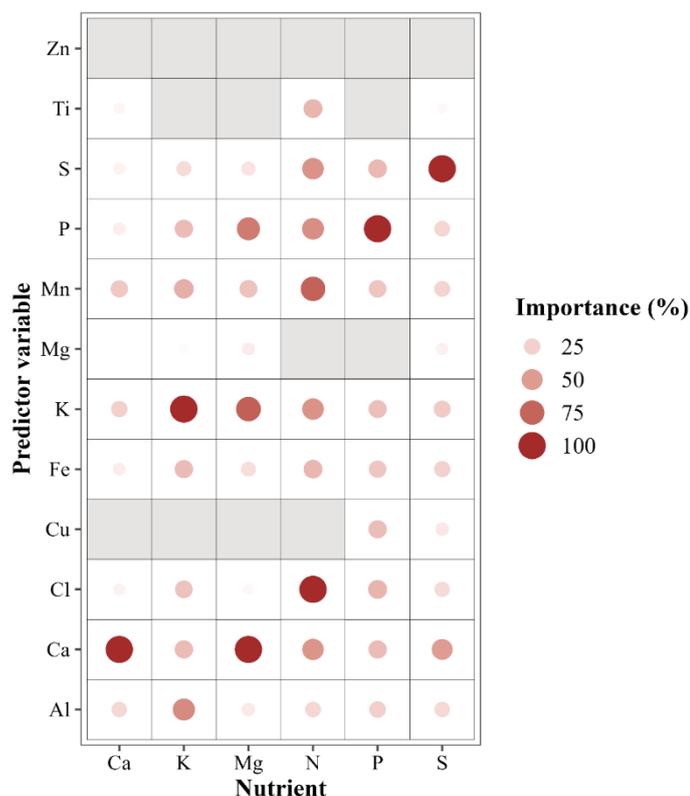


Figura 10 - Variáveis de importância para os modelos de classificação do status nutricional (baixo, adequado e alto) de macronutrientes em amostras foliares de cafeeiro. Variáveis em cores cinza não foram utilizadas no modelo.



#### 4 CONCLUSÕES

Neste estudo amostras foliares de cafeeiro foram caracterizadas com sucesso ao utilizar dados obtidos via pXRF e manipulados por meio de métodos estatísticos convencionais e por algoritmos de *machine learning*, com destaque para os modelados gerados pelo algoritmo random forest. Mesmo ao utilizar métodos estatísticos convencionais (LR e MLR) a determinação dos elementos K, Ca, Cu e Mn pode ser feita de maneira precisa ( $RPD > 2$ ). A construção de condições operacionais mais adequadas para amostras foliares de cafeeiro contribuiu para que modelos de maior capacidade preditiva fossem obtidos utilizando o algoritmo random forest. Nos modelos de predição numérica todos os macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn) foram preditos de maneira precisa ( $RPD > 2$ ). A condição operacional que utilizou a configuração 15 KeV - 25  $\mu$ A gerou modelos precisos incluindo para elementos que não são diretamente quantificados pelo equipamento: N ( $R^2 = 0,89$ ) e B ( $R^2 = 0,90$ ). Para os modelos categóricos o nível nutricional (baixo, adequado e alto) dos macronutrientes também foi predito de maneira acurada (Cohen's Kappa coeficiente  $> 0,75$ ). Os resultados obtidos na condição operacional 10KeV - 10  $\mu$ A geraram os modelos mais

acurados para a predição do nível nutricional de N, K, Ca e Mg; enquanto 15 KeV - 25  $\mu$ A gerou o modelo mais acurado para S.

Os resultados encontrados neste trabalho destacam a importância de construir calibrações que considerem as características específicas da matriz que está sendo analisada. A partir das abordagens adotadas nesse trabalho foi possível observar que as condições operacionais adotadas puderam promover melhores modelos preditivos para diversos parâmetros avaliados. A utilização de amostras cultivadas em ambiente controlado de solução nutritiva se caracterizou como um conjunto de dados mais favorável para a criação de bancos de dados representativos. Amostras cultivadas nessa condição permitem que as interações entre os elementos sejam mais facilmente identificadas pelos algoritmos utilizados de modo que variáveis de importância podem ser identificadas para a construção de modelos mais precisos. As abordagens metodológicas utilizadas nesse trabalho para a criação dos modelos de predição para a cultura do café podem contribuir para que análises mais rápidas, ambientalmente corretas e menos onerosas se tornem possíveis por meio do uso de técnica de espectrometria de fluorescência de raios X portátil.

## REFERÊNCIAS

- ACREE, A. et al. Soil classification in Romanian catenas via advanced proximal sensors. **Geoderma**, v. 377, p. 114587, 2020.
- ANDRADE, R. et al. A Proximal Sensor-Based Approach for Clean, Fast, and Accurate Assessment of the Eucalyptus spp. Nutritional Status and Differentiation of Clones. **Plants**, v. 12, n. 3, p. 561, 2023.
- ANDRADE, R. et al. Micronutrients prediction via pXRF spectrometry in Brazil: Influence of weathering degree. **Geoderma Regional**, v. 27, p. e00431, 2021.
- ANTONANGELO, J.; ZHANG, H. Soil and plant nutrient analysis with a portable XRF probe using a single calibration. **Agronomy**, v. 11, n. 11, p. 2118, 2021.
- BECKHOFF, B. et al. (Ed.). Handbook of practical X-ray fluorescence analysis. Springer Science & Business Media, 2006.

BORGES, C. S. et al. Foliar elemental analysis of Brazilian crops via portable X-ray fluorescence spectrometry. **Sensors**, v. 20, n. 9, p. 2509, 2020.

CANTARELLA et al. BOLETIM 100: Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo. **Instituto Agronômico (IAC)**, SP, 2022.

CHANG, C.-W. et al. Near-infrared reflectance spectroscopy–principal components regression analyses of soil properties. **Soil Science Society of America Journal**, v. 65, n. 2, p. 480-490, 2001.

COLMENERO-FLORES, J. M. et al. Chloride as a beneficial macronutrient in higher plants: new roles and regulation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 19, p. 4686, 2019.

COSTA JUNIOR, G. T. et al. Direct determination of mineral nutrients in soybean leaves under vivo conditions by portable X-ray fluorescence spectroscopy. **X-Ray Spectrometry**, v. 49, n. 2, p. 274-283, 2020.

CUNHA, A. C. M. C. M. da et al. Growth and nutrient uptake of coffee seedlings cultivated in nutrient solution with and without silicon addition. **Revista Ceres**, v. 59, p. 392-398, 2012.

EPSTEIN, E., BLOOM, A.J. Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives, second ed. **Sinauer Associates Publishers**, Sunderland, MA. 400 pp. 2005.

FAGERIA, V. D. Nutrient interactions in crop plants. **Journal of plant nutrition**, v. 24, n. 8, p. 1269-1290, 2001.

FAN, X. et al. Cross-talks between macro-and micronutrient uptake and signaling in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 663477, 2021.

FARIA, A. J. G. et al. Rapid elemental prediction of heterogeneous tropical soils from pXRF data: a comparison of models via linear regressions and machine learning algorithms. **Soil Research**, 2023.

FLORES, R. A. et al. Growth and nutritional disorders of coffee cultivated in nutrient solutions with suppressed macronutrients. **Journal of Plant Nutrition**, v. 39, n. 11, p. 1578-1588, 2016.

GALLHOFER, D.; LOTTERMOSER, B. G. The influence of spectral interferences on critical element determination with portable X-ray fluorescence (pXRF). **Minerals**, v. 8, n. 8, p. 320, 2018.

GONG, B. et al. Interactions of arsenic, copper, and zinc in soil-plant system: Partition, uptake and phytotoxicity. **Science of The Total Environment**, v. 745, p. 140926, 2020.

GRANSEE, A.; FÜHRS, H. Magnesium mobility in soils as a challenge for soil and plant analysis, magnesium fertilization and root uptake under adverse growth conditions. **Plant and Soil**, v. 368, p. 5-21, 2013.

GUIMARÃES, Y. M. et al. Drivers and barriers in sustainable supply chains: The case of the Brazilian coffee industry. **Sustainable Production and Consumption**, v. 34, p. 42-54, 2022.

HALL, G. et al. Quality control assessment of portable XRF analysers: development of standard operating procedures, performance on variable media and recommended uses. CAMIRO Project 10E01 report, 2011.

HANLON, E. A. Elemental determination by atomic absorption spectrophotometry. In: Handbook of reference methods for plant analysis. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1998.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. **California agricultural experiment station**, v. 347, n. 2nd edit, 1950.

JAKOBSEN, S. T. Interaction between plant nutrients: III. Antagonism between potassium, magnesium and calcium. **Acta Agriculturae Scandinavica B-Plant Soil Sciences**, v. 43, n. 1, p. 1-5, 1993.

KIKONGI, P. et al. Curve-fitting regression: improving light element quantification with XRF. **X-Ray Spectrometry**, v. 46, n. 5, p. 347-355, 2017.

KJELDAHL, J. G. C. T. Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. **Zeitschrift für analytische Chemie**, v. 22, n. 1, p. 366-382, 1883.

KNIGHT, R. D. et al An analytical protocol for determining the elemental chemistry of Quaternary sediments using a portable X-ray fluorescence spectrometer. **Applied Geochemistry**, v. 131, p. 105026, 2021.

KUHN, M. *\_caret: Classification and Regression Training\_*. R package version 6.0-92, <https://CRAN.R-project.org/package=caret>, 2022.

LANDIS, J. R.; KOCH, Gary G. The measurement of observer agreement for categorical data. **biometrics**, p. 159-174, 1977.

LIU, Z. et al. Effects of high dose copper on plant growth and mineral nutrient (Zn, Fe, Mg, K, Ca) uptake in spinach. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 37471-37481, 2021.

MALAVOLTA, E. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações/Eurípedes Malavolta, Godofredo Cesar Vitti, Sebastião Alberto de Oliveira. **Piracicaba: Potafos**, 1997.

MANCINI, M. et al. Parent material distribution mapping from tropical soils data via machine learning and portable X-ray fluorescence (pXRF) spectrometry in Brazil. **Geoderma**, v. 354, p. 113885, 2019.

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Valor Bruto da Produção – VBP. Disponível em: [http://www.consorcioesquisacafe.com.br/images/stories/noticias/2021/2022/dezembro/VBP\\_12\\_2022.pdf](http://www.consorcioesquisacafe.com.br/images/stories/noticias/2021/2022/dezembro/VBP_12_2022.pdf). 2022.

MEURER, E. J.; FERNANDES, M. S. Nutrição mineral de plantas. Fernandes, MS, Souza, SR, Santos, LA, Eds, p. 670, 2006.

MILLER, R. Nitric-Perchloric Acid Wet Digestion in an Open Vessel. In Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. Ed.; **CRC Press: Boca Raton, FL, USA**, pp. 57–61. 1998.

MIRON B. K., WITOLD R. R. Feature Selection with the Boruta Package. *Journal of Statistical Software*, 36(11), 1-13, 2010.

NEWLANDER, K. et al. Empirical study of the effect of count time on the precision and accuracy of pXRF data. **Journal of Archaeological Science: Reports**, v. 3, p. 534-548, 2015.

NZEYIMANA, I. et al. Coffee farming and soil management in Rwanda. **Outlook on AGRICULTURE**, v. 42, n. 1, p. 47-52, 2013.

- OKSANEN, J., et al. *\_vegan: Community Ecology Package\_*. R package version 2.6-2, 2022.
- OLIVEIRA, C. T. de et al. Diagnosis of the nutritional status of 'Paluma' guava trees using leaf and flower analysis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 42, 2020.
- POTTS, P. J. Introduction, analytical instrumentation and application overview. **Portable X-ray fluorescence spectrometry: Capabilities for in situ analysis**, p. 1-12, 2008.
- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2022.
- RAI, S. et al. Iron homeostasis in plants and its crosstalk with copper, zinc, and manganese. **Plant Stress**, v. 1, p. 100008, 2021.
- RAMÍREZ-BUILES, V. H. et al. Calcium nutrition in coffee and its influence on growth, stress tolerance, cations uptake, and productivity. **Frontiers in Agronomy**, v. 2, p. 590892, 2020.
- RAMIREZ-BUILES, V. H. et al. Chloride Nutrition Influences the Nitrogen Use Efficiency in Coffee. 2023.
- RIBEIRO, A. C. Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a. aproximação. **Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais**, 1999.
- RIBEIRO, B. T. et al. Foliar analysis via portable X-ray fluorescence spectrometry: Experimental considerations. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 186, p. 106320, 2021.
- RIBEIRO, B. T. et al. Portable X-ray fluorescence (pXRF) applications in tropical Soil Science. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, p. 245-254, 2017.
- RIEDEL, W. E. Mineral-nutrient synergism and dilution responses to nitrogen fertilizer in field-grown maize. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 173, n. 6, p. 869-874, 2010.
- ROSALES, M. A. et al. Chloride improves nitrate utilization and NUE in plants. **Frontiers in Plant Science**, p. 442, 2020.

SÁ, R. T. S. et al. Detailed characterization of iron-rich tailings after the Fundão dam failure, Brazil, with inclusion of proximal sensors data, as a secure basis for environmental and agricultural restoration. **Environmental Research**, p. 115858, 2023.

SAPKOTA, Y. et al. Portable X-ray fluorescence spectroscopy for rapid and cost-effective determination of elemental composition of ground forage. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 317, 2019.

SENBAYRAM, M. et al. Role of magnesium fertilisers in agriculture: plant–soil continuum. **Crop and Pasture Science**, v. 66, n. 12, p. 1219-1229, 2015.

SIEVERT, C. Interactive Web-Based Data Visualization with R, plotly, and shiny. Chapman and Hall/CRC Florida, 2020.

SILVA, A. C. et al. Portable x-ray fluorescence calibrations: Workflow and guidelines for optimizing the analysis of geological samples. **Chemical Geology**, v. 623, p. 121395, 2023.

SILVA, S. H. G. et al. pXRF in tropical soils: Methodology, applications, achievements and challenges. **Advances in Agronomy**, v. 167, p. 1-62, 2021.

SOUSA, J. S. et al. Relationship between coffee leaf analysis and soil chemical analysis. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 42, 2018.

SUGANYA, A. et al. Role of zinc nutrition for increasing zinc availability, uptake, yield, and quality of maize (*Zea mays* L.) grains: An overview. **Commun. Soil Sci. Plant Anal**, v. 51, n. 15, p. 2001-2021, 2020.

TANI, F. H.; BARRINGTON, S. Zinc and copper uptake by plants under two transpiration rates. Part I. Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Environmental Pollution**, v. 138, n. 3, p. 538-547, 2005.

TOWETT, E. K. et al. Plant elemental composition and portable X-ray fluorescence (pXRF) spectroscopy: quantification under different analytical parameters. **X-Ray Spectrometry**, v. 45, n. 2, p. 117-124, 2016.

USDA - United States Department of Agriculture. Coffee: World Markets and Trade. Disponível em: < <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/coffee.pdf>>. 2022.

CONAB - Companhia Nacional de Acompanhamento Abastecimento. da safra brasileira de café, v. 9 – Safra 2022, n.4 - Quarto levantamento, Brasília, p. 1-52, dezembro 2022.

WANG, D. et al. Synthesized use of VisNIR DRS and PXRF for soil characterization: Total carbon and total nitrogen. **Geoderma**, v. 243, p. 157-167, 2015b.

WANG, N. et al. Evaluating coffee yield gaps and important biotic, abiotic, and management factors limiting coffee production in Uganda. **European Journal of Agronomy**, v. 63, p. 1-11, 2015a.

WELTJE, G. J. et al. Prediction of geochemical composition from XRF core scanner data: a new multivariate approach including automatic selection of calibration samples and quantification of uncertainties. **Micro-XRF Studies of Sediment Cores: Applications of a non-destructive tool for the environmental sciences**, p. 507-534, 2015.

WICKHAM, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York, 2016.

XIE, K. et al. Synergistic and antagonistic interactions between potassium and magnesium in higher plants. **The Crop Journal**, v. 9, n. 2, p. 249-256, 2021.

YUAN, Z. et al. Spatial patterns of geochemical elements measured on rock surfaces by portable X-ray fluorescence: application to hand specimens and rock outcrops. 2014.

ZHOU, S. et al. Elemental assessment of vegetation via portable X-ray fluorescence: sample preparation and methodological considerations. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 174, p. 105999, 2020.