

DIGESTÃO SULFÚRICA-PERCLÓRICA DE TECIDOS
VEGETAIS PARA DETERMINAÇÕES DE NITROGÊNIO, FÓSFORO,
E POTÁSSIO NUM ÚNICO EXTRATO

Maria Cristina Passos ¹
Celso Augusto Fessel Graner ²
José Zuanon Netto ²

INTRODUÇÃO E OBJETIVO

Apesar de largamente utilizada na análise de solos, plantas, fertilizantes e outros materiais de interesse agrário, a dosagem de nitrogênio pelo chamado "método de Kjeldhal" ainda retém desvantagens, principalmente no que se refere ao processo de digestão ou mineralização de amostras, para transformar seu conteúdo de nitrogênio em nitrogênio amoniacal. Um ou mais catalisadores são frequentemente utilizados para diminuir o período de digestão, dos quais o melhor deles parece ser o mercúrio (TARAS, 1958); selênio, cobre e associação destes entre si e com o mercúrio também têm sido empregados para esse fim (LOTT et al., 1956; SARRUGE & HAAG, 1974; HORWITZ, 1975; BATAGLIA et al., 1978; TREYBIG & HANEY, 1983). A eliminação de tais catalisadores tem sido tentada devido aos problemas de toxidez que o resíduo das análises apresenta e para evitar suas interferências quando na determinação de fósforo e potássio no mesmo extra-

¹ Conbras Engenharia Ltda. (IAA), Piracicaba, São Paulo.

² Instituto de Química, UNESP, Araraquara, São Paulo.

to; essa eliminação, entretanto, exige o emprego de oxidantes mais enérgicos associados ao ácido sulfúrico no processo de digestão dos quais o mais empregado tem sido o peróxido de hidrogênio (RIERA, 1955; LE POIDEVIN & ROBINSON, 1967; NICHOLS, 1975). Apesar de caracterizado como introdutor de incertezas na análise em questão (PERRIN, 1953), o ácido perclórico foi utilizado por BATEY et al. (1974) para catalisar a digestão sulfúrica de tecidos vegetais, cujos extratos permitiriam então as dosagens de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio; o trabalho desses autores, porém, só apresentou os dados a respeito do nitrogênio determinado.

O objetivo do presente trabalho é verificar da possibilidade do emprego do ácido perclórico na digestão sulfúrica de tecidos vegetais, para obtenção de extrato único para dosagens de nitrogênio, fósforo e potássio. Para tanto os resultados da análise desses elementos em tais extratos serão comparados com aqueles provenientes das mesmas análises em extratos obtidos de formas mais convencionais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de folhas de vegetais, lavadas, secas e moídas adequadamente. Dos equipamentos utilizados merecem menção: micro digestor com temperatura regulável, micro destilador tipo Pregl-Parnas-Wagner, espectrofotômetro Micronal B 295 II, e fotômetro de emissão de chama Corning 400. Dos reagentes e reativos empregados, devem ser citados a mistura salina digestora de sulfato de potássio/óxido de mercúrio (II), na proporção em massa de 10 : 1, e a solução digestora de ácido sulfúrico, sulfato de sódio, selenito de sódio e sulfato de cobre (II), respectiva e aproximadamente 10-0,4-0,06 e 0,04 mol.l⁻¹ nessas substâncias (SARRUGE & HAAG, 1974).

Obtenção dos extratos de tecidos vegetais. a) Extratos sulfúricos: para quatro séries, A, B, C e D, de

frascos Kjeldhal de 100 ml, transferir cerca de 0,25 g (com precisão de 0,1 mg) de tecido vegetal e acrescentar 100 mg da mistura digestora de K_2SO_4/HgO e 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (frascos da série A), 10 ml da solução digestora de ácido sulfúrico, sulfato e selenito de sódio e sulfato de cobre (frascos da série B), e 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (frascos das séries C e D), inclusive nas provas em branco respectivas; deixar em repouso por uma noite e, na manhã seguinte, iniciar o processo de digestão à quente, os frascos das séries A e B até líquido claro e límpido, e os das séries C e D até liquefação do meio, para então esfriá-los e acrescentar duas gotas de peróxido de hidrogênio a 120 volumes (série C) ou uma gota de ácido perclórico concentrado (série D); repetir o resfriamento e adições de peróxido de hidrogênio ou de ácido perclórico até líquido límpido e incolor; esfriar e transferir quantitativamente as soluções obtidas para balões volumétricos de 100 ml, onde os volumes deverão ser completados e homogeneizados com água, e os extratos caracterizados como A, B, C e D, respectivamente; b) extratos nítrico-perclóricos: obtidos pela digestão convencional de cerca de 0,25 g (com precisão de 0,1 mg) de tecido vegetal e 10 ml de ácido nítrico concentrado e posteriores porções adicionais de ácidos nítrico e perclórico concentrados; diluir finalmente a 100 ml, com água, em balões volumétricos, caracterizando tais extratos como E; c) extratos obtidos por via seca: incinerar cerca de 0,25 g (com precisão de 0,1 mg) de tecido vegetal por 1 hora a $500^\circ C$, dissolver as cinzas com ácido clorídrico e diluir a 100 ml com água, para caracterizar tais extratos como F.

Determinações de nitrogênio. Transferir alíquotas de 25 ml dos extratos A, B, C e D (inclusive das respectivas provas em branco) para o micro destilador, alcalinizar o meio com 20 ml de solução de hidróxido de sódio/tiosulfato de sódio $12,5 \text{ mol.l}^{-1}$ nessas substâncias, respectivamente (extratos A e B) ou com 20 ml de solução de hidróxido de sódio $12,5 \text{ mol.l}^{-1}$ (extratos C e D) e destilar a amônia, recebendo-a em 25 ml de solução $0,35 \text{ mol.l}^{-1}$ de ácido bórico contendo verde de bromocresol e

rato com solução $0,025 \text{ mol.l}^{-1}$, padronizada, de ácido sulfúrico. Os resultados obtidos encontram-se no quadro I.

Determinações de fósforo. a) Curva padrão: para uma série de 7 copos descartáveis de polietileno de 50 ml, transferir 0,00 - 3,00 - 6,00 - 12,0 - 18,0 - 24,0 e 30,0 μg de fósforo (como fosfato diácido de potássio de uma solução contendo 6,00 μg P/ml), igualar os volumes a 5,00 ml com água, acrescentar 10,0 ml de solução sulfo-bismuto-molibdica ($0,8-0,0025$ e $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$, respectivamente, em ácido sulfúrico, bismuto e molibdênio) e 3 gotas de solução 1 mol.l^{-1} de ácido ascórbico; homogeneizar, aguardar 30 minutos e ler a absorbância a 645 nm, em tubos de 15,2 mm no espectrofotômetro Micronal B 295 II, contra a prova em branco para estabelecer regressão linear entre massa de fósforo e absorbância; b) Determinações: transferir alíquota de 5 ml dos extratos, D, E ou F, inclusive das respectivas provas em branco, acrescentar 10,0 ml de solução sulfo-bismuto-molibdica e, daqui por diante prosseguir como descrito na obtenção de curva padrão e, através da regressão linear da mesma, chegar ao teor de fósforo nas amostras.

Determinações de potássio. a) Ajuste do equipamento: com água destilada e uma solução $1,00.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ em potássio (obtida por diluição de solução mais concentrada de nitrato de potássio) regular as leituras 0 e 100, respectivamente, do fotômetro de emissão de chama Corning 400. b) Determinações: diluir alíquota de 5 ml dos extratos, D, E ou F a 100 ml com água e obter as leituras das emissões respectivas, com o aparelho regulado para leitura 100 com a solução $1,00.10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ em potássio. Os resultados obtidos encontram-se no quadro II.

RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO

No quadro I encontram-se os resultados da determinação de nitrogênio em amostras de tecido foliar de cinco espécies diferentes, digeridas por ácido sulfúrico au

DRO 1 - Teor de nitrogênio em amostras de tecido foliar de diversos vegetais, digeridas por ácido sulfúrico auxiliado por diferentes substâncias (A,B,C,D). Médias de quatro repetições, com os respectivos desvios padrões relativos (DPR) percentuais.

Material	Teor de nitrogênio (%) - DPR (%)			
	$\text{SO}_4^{2-}/\text{Hg(A)}$	$\text{SO}_4^{2-}/\text{SeO}_3^{2-}/\text{Cu(B)}$	$\text{H}_2\text{O}_2(\text{C})$	$\text{HClO}_4(\text{D})$
ace	4,68 - 2,25	4,61 - 1,13	4,63 - 1,25	4,68 - 2,25
eeiro	2,83 - 0,00	2,84 - 1,48	2,81 - 0,78	2,85 - 0,77
rus	2,63 - 0,73	2,60 - 0,77	2,57 - 1,21	2,57 - 0,49
alipto	1,50 - 1,18	1,49 - 0,64	1,51 - 1,53	1,49 - 2,53
ier	1,19 - 0,84	1,18 - 0,77	1,18 - 1,10	1,18 - 0,49

xiliado por diferentes substâncias, sulfato/mercúrio (A), sulfato/selenito/cobre (B), peróxido de hidrogênio (C), e ácido perclórico (D).

A análise da variância não revelou diferenças entre os mesmos, que não pudessem ser atribuídas ao acaso, ao nível de 5% de probabilidade. Por outro lado, a digestão empregando-se ácido perclórico ao lado do sulfúrico pode caracterizar-se como a melhor dentre as demais testadas, dada a sua rapidez e eficiência, desde que se controle a adição do primeiro ácido. Assim, para se evitar perdas por volatilização do nitrogênio sob formas oxidadas, o ácido perclórico deve ser adicionado com o meio resfriado à temperatura ambiente, e em uma só gota por etapa de resfriamento/adicação, pelo gargalo do frasco Kjeldahl para contornar eventual concentração local do mesmo. Os dados do quadro II, referentes aos resultados das análises de fósforo e de potássio nas mesmas amostras de tecido foliar, em extratos obtidos por digestão sulfúrica/perclórica (D), nítrica/perclórica (E) e por via seca/solubilização com ácido clorídrico (F), também não se mostraram estatisticamente diferentes quando submetidos às análises da variância, e ao nível de 5% de probabilidade.

Pode-se concluir, portanto, que a digestão sulfúrica-perclórica de tecidos vegetais leva a extrato adequado às análises de nitrogênio, fósforo e potássio nesses materiais. Tentativas de dosagens também de cálcio e de magnésio nos mesmos extratos resultaram infrutíferas, pelo menos por complexometria com etilenodiaminotetraacetato.

RESUMO

Conclui-se pela validade do emprego do sistema ácido sulfúrico/ácido perclórico na digestão de tecidos vegetais para análise de nitrogênio, fósforo e potássio num único extrato. Na determinação do nitrogênio, os re

RO 11 - Teores de fósforo e potássio em amostras de tecido foliar de diversos vegetais, e com os extratos obtidos por diferentes processos (D,E,F). Médias de quatro repetições, com os respectivos desvios padrões relativos - (DPR) percentuais.

Material	Elemento	Teores (%) de fósforo ou de potássio - DPR (%)		
		$H_2SO_4/HClO_4$ (D)	$HNO_3/HClO_4$ (E)	Via seca (F)
Cenoura	P	0,28 - 1,45	0,26 - 2,37	0,28 - 2,08
	K	4,32 - 1,12	4,38 - 2,51	4,29 - 1,37
Cebola	P	0,122 - 2,19	0,130 - 1,46	0,125 - 2,13
	K	2,49 - 0,49	2,49 - 0,54	2,49 - 0,54
Alho	P	0,131 - 3,14	0,128 - 2,31	0,125 - 2,08
	K	2,78 - 2,04	2,70 - 1,02	2,75 - 1,85
Alface	P	0,087 - 3,40	0,083 - 2,15	0,091 - 3,04
	K	1,02 - 2,73	1,02 - 0,84	1,05 - 1,94
Cebola	P	0,092 - 3,35	0,101 - 2,85	0,093 - 2,74
	K	1,52 - 1,31	1,48 - 2,37	1,51 - 2,08

tratos sulfúricos obtidos com o auxílio de sulfato/mercúrio, sulfato/selenito/cobre e peróxido de hidrogênio; nas determinações de fósforo e de potássio, os extratos para comparação foram os obtidos via digestão nítrica-perclórica e via seca/solubilização com ácido clorídrico.

SUMMARY

Nitrogen, phosphorus and potassium were determined in plants that was digested with sulphuric-perchloric acids. The results agreed with those come from more conventional procedure for digestion, e.g. Hg, Se/Cu or H_2O_2 as catalysts on sulphuric digestion for nitrogen, or nitric-perchloric acids, and ashing for phosphorus and potassium.

LITERATURA CITADA

- BATAGLIA, D.C., J.P.F. TEIXEIRA, P.R. FURLANI, A.M.C. FURLANI & J.R. GALLO, 1978. *Análise Química de Plantas*, Circular nº 87, Campinas, Instituto Agronômico, 31p.
- BATEY, T., M.S. CRESSER & I.R. WILLET, 1974. Sulphuric-perchloric acid digestion of plant material for nitrogen determination. *Analytica chim. Acta* 69: 484-7.
- HORWITZ, W., 1975. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 12ed. Washington, AOAC, p.34-56.
- LOTT, W.L., J.P. NERY, J.R. GALLO & J.C. MEDCALF, 1956. *A técnica de análise foliar aplicada ao cafeeiro*, New York, IBEC Research Institute, 40p.

- NICHOLS, K.H., 1975. A single digestion procedure for rapid manual determinations of Kjeldahl nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Analytica chim. Acta* 76: 208-12.
- PERRIN, C.H., 1953. Rapid modified procedure for determination of Kjeldahl nitrogen. *Analyt. Chem.* 25: 968-71.
- LE POIDEVIN, N. & L.A. ROBINSON, 1967. Métodos de diagnóstico foliar utilizados nas plantas do Grupo Booker na Guiana Inglesa. Primeira Parte. Amostragem e técnica de análise. *Fertilité* 21: 3-11.
- RIERA, A., 1955. The method of foliar diagnosis as applied to sugarcane, Parte II. The chemical analysis of sugarcane-leaf samples, Bulletin 123. Rio Piedras, University of Puerto Rico, Agricultural Experiment Station, p.23-32.
- SARRUGE, J.R. & H.P. HAAG, 1974. *Análise Química em Plan*tas, Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 56p.
- TARAS, M.J., 1958. Nitrogen. In: BOLTZ, D.F. (ed.), *Co*lorimetric determination of nonmetals, New York, Interscience, p.75-160.
- TREYBIG, D.S. & P.L. HANEY, 1983. Colorimetric determination of total nitrogen in amines with selenium catalyst. *Analyt. Chem.* 55: 983-5.