



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MANEJO DE SOLO E ÁGUA

ANA KALINE DA COSTA FERREIRA

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISES QUÍMICAS
DE NUTRIENTES EM TECIDO VEGETAL

MOSSORÓ – RN
FEVEREIRO DE 2014

ANA KALINE DA COSTA FERREIRA

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISES QUÍMICAS
DE NUTRIENTES EM TECIDO VEGETAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), como parte dos requisitos para obtenção do título de “Mestre em Manejo de Solo e Água”.

Orientador: Prof. Fábio Henrique Tavares de Oliveira

**MOSSORÓ – RN
FEVEREIRO DE 2014**

O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade de seus autores

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência**

F383a Ferreira, Ana Kaline da Costa.

Avaliação de métodos de análises químicas de nutrientes em tecido vegetal. / Ana Kaline da Costa Ferreira -- Mossoró, 2014
88f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Henrique Tavares de Oliveira.

Dissertação (Mestrado em Manejo de solo e Água) –
Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-
Graduação.

1. Fertilidade do solo. 2. Análise foliar. 3. Métodos de
digestão. 4. Métodos de extração. I. Título.

RN/UFERSA/BCOT /383-14

CDD: 631.42

Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza Borba
CRB-15/452

ANA KALINE DA COSTA FERREIRA

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISES QUÍMICAS
DE NUTRIENTES EM TECIDO VEGETAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), como parte dos requisitos para obtenção do título de “Mestre em Manejo de Solo e Água”.

Aprovada em: 18 / 02 / 2014

Banca examinadora:

Prof. Fábio Henrique Tavares de Oliveira – UFERSA
Orientador

Prof^a Eulene Francisco da Silva – UFERSA
Examinadora

Dra. Welka Preston Leite Batista da Costa – CAPES/UFERSA
Examinadora

Dr. Gerônimo Ferreira da Silva – CAPES/UFRPE
Examinador

Primeiro lugar ao meu Deus por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente, aos meus pais, Maurílio Pinheiro da Costa e Maria de Fátima da Costa, pela dedicação que dispensaram a minha pessoa, a meu esposo Alexandre por sempre está comigo, minha filha Anne Caroline pela alegria diuturnamente oferecida, enfim, a todos meus amigos pela indispensável companhia.

Dedico

O temor do Senhor é o princípio do conhecimento; mas os insensatos desprezam a sabedoria e a instrução (Provérbios 1.7).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter derramado a sua graça por toda a minha vida.

Agradeço a toda a minha família nas pessoas da minha mãe, Maria de Fátima da Costa, e do meu pai, Maurílio Pinheiro da Costa, por terem me ensinado a caminhar pelo caminho da honestidade e da ética cristã.

Agradeço ao meu esposo, Alexandre, pela paciência e por ter aguentado meu mau humor e reclamações (a respeito da dissertação) nos dias de trabalho, e a minha filha, Caroline, que a cada dia tem me dado alegria sem medida.

Agradeço ao professor Fábio Henrique Tavares de Oliveira, pela valiosa orientação, sendo de fundamental importância para o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço aos meus amigos de trabalho, em especial as amigas Ana Cecília da Costa Sinclair Marinho, Elídio Andrade e Antônia Édna por sempre terem me ajudado, e pela força em tudo que precisei nessa caminhada.

Agradeço ao meu amigo Gerônimo Ferreira da Silva e as minhas amigas Jeane Cruz Portela e Ana Cláudia Medeiros por estarem disponíveis sempre que precisei. Obrigada pela rica troca e cumplicidade.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Manejo de Solo e Água da UFERSA pela oportunidade que me foi dada para ingressar no curso.

BIOGRAFIA

ANA KALINE DA COSTA FERREIRA, filha de Maurílio Pinheiro da Costa e Maria de Fátima da Costa, nasceu em Mossoró – RN, em 09 de novembro de 1978.

Graduou-se em Química/Licenciatura pela Universidade Estadual do Rio Grande do Norte em março de 2001.

Graduou-se em Matemática/Licenciatura pela Universidade Estadual do Rio Grande do Norte em março de 2004.

Fez especialização em Química e Biologia pela Universidade Kurios/Ceará em 2007.

Em março de 2012 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
APÊNDICE	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Avaliação do estado nutricional das plantas.....	3
2.2 Diagnose visual.....	4
2.3 Análise química de tecido vegetal.....	5
2.3.1 Análise química de tecido foliar.....	5
2.4 Métodos de análises químicas de tecido vegetal.....	6
2.4.1 Extração com soluções de ácidos diluídos (métodos sem digestão)	7
2.4.2 Digestão seca (incineração/calцинаção).....	8
2.4.3 Digestão úmida em sistemas aberto e fechado com o uso de micro-ondas.....	8
2.5 Aspectos gerais dos métodos de análises químicas de nutrientes em tecido vegetal.....	10
2.5.1 Método de extração via solubilização com adição de HCl.....	11
2.5.2 Método de extração via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com adição de HCl 1 mol/L.....	12
2.5.3 Digestão via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO ₃ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca.....	12
2.5.4 Digestão via úmida em sistema aberto e a mistura de H ₂ SO ₄ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca.....	13
2.5.5 Digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO ₃ para digerir a matéria seca.....	14

2.5.6 Digestão via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO ₃ + HClO ₄ (3:1) para digerir a matéria seca.....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Descrição dos métodos de digestão da matéria seca e de extração dos nutrientes do tecido vegetal.....	20
3.1.1 Extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1mol/L.....	20
3.1.2 Digestão via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com HCl 1 mol/L.....	20
3.1.3 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de HNO ₃ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca.....	21
3.1.4 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de H ₂ SO ₄ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca.....	21
3.1.5 Digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO ₃ concentrado para digerir a matéria seca.....	22
3.1.6 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de HNO ₃ + HClO ₄ (3:1) para digerir a matéria seca.....	22
3.2 Métodos de dosagem dos nutrientes nos extratos provenientes da digestão ou da extração.....	23
3.3 Índices de exatidão e de precisão dos métodos analíticos comparados para avaliar os teores de nutrientes em tecido vegetal.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1 Extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1 mol/L.....	25
4.2 Digestão via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com HCl 1 mol/L.....	30
4.3 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de HNO ₃ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca.....	35
4.4 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de H ₂ SO ₄ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca.....	39

4.5 Digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO_3 para digerir a matéria seca.....	43
4.6 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) para digerir a matéria seca.....	47
5. CONCLUSÕES.....	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
7. APÊNDICE.....	57

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 01 - Resultados das análises químicas das amostras padrão fornecidos pelo Programa Interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal.....	18
Quadro 02 - Classificação da exatidão de métodos analíticos utilizados para a análise química de tecido vegetal.....	24
Quadro 03 - Classificação do coeficiente de variação dos métodos analíticos utilizados para a análise química de tecido vegetal.....	24
Quadro 04 - Índice de exatidão dos métodos analíticos comparados para avaliar os teores de nutrientes em tecido vegetal.....	27
Quadro 05 - Índice de precisão dos métodos analíticos comparados para avaliar os teores de nutrientes em tecido vegetal.....	29

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 01 - Teores mínimos e máximos esperados de nitrogênio (A), fósforo (B), potássio (C), cálcio (D), magnésio (E) e enxofre (F) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1 mol/L.....	26
Figura 02 - Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1 mol/L.....	28
Figura 03 - Teores mínimos e máximos esperados de nitrogênio (A), fósforo (B), potássio (C), cálcio (D), magnésio (E) e enxofre (F) nas amostras padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração via seca (incineração) com adição de HCl 1 mol/L	31
Figura 04 - Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração via seca (incineração) com adição de HCl 1 mol/L.....	33
Figura 05 - Teores mínimos e máximos esperados de fósforo (A), potássio (B), cálcio (C), magnésio (D) e enxofre (E) nas amostras padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração via úmida em sistema aberto com a mistura de HNO ₃ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca.....	36
Figura 06 - Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração via úmida em sistema aberto com a mistura de HNO ₃ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca	38
Figura 07 - Teores mínimos e máximos esperados de nitrogênio (A), fósforo (B), potássio (C), cálcio (D) e magnésio (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema aberto com a mistura de H ₂ SO ₄ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca.....	40
Figura 08 - Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), manganês (B), zinco (C) e boro (D) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema aberto com a mistura de H ₂ SO ₄ + H ₂ O ₂ para digerir a matéria seca.....	42

Figura 09 -	Teores mínimos e máximos esperados de fósforo (A), potássio (B), cálcio (C), magnésio (D) e boro (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO ₃ para digerir a matéria seca.....	44
Figura 10 -	Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO ₃ para digerir a matéria seca.....	46
Figura 11 -	Teores mínimos e máximos esperados de fósforo (A), potássio (B), cálcio (C), magnésio (D) e enxofre (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema aberto com a mistura de HNO ₃ + HClO ₄ (3:1) para digerir a matéria seca.....	48
Figura 12 -	Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema aberto com a mistura de HNO ₃ + HClO ₄ (3:1) para digerir a matéria seca extração dos nutrientes da matéria seca.....	50

APÊNDICE

	Página
1. Métodos de dosagem aplicados na obtenção dos macro e micronutrientes do tecido vegetal.....	58
1.1. Determinação de B (boro).....	58
1.2. Determinação de Ca (cálcio) e Mg (magnésio) por espectrofotometria de absorção atômica (EAA).....	60
1.3. Determinação de Cu (cobre), Fe (ferro), Zn (zinco) e Mn (manganês) por espectrofotometria de absorção atômica (EAA).....	63
1.4. Determinação de P (fósforo) – método da espectrofotometria com azul de molibdênio.....	65
1.5. Determinação de S (enxofre).....	68
1.6. Determinação de K (potássio) por fotometria de chama.....	71
1.7. Determinação de N (nitrogênio) total – método kjeldahl.....	73

RESUMO

ANA KALINE DA COSTA FERREIRA. **Comparação de Métodos de Análise Química de Nutrientes em Tecido Vegetal**. Mossoró - RN, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Fevereiro de 2014. 88 p.il. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Manejo de Solo e Água. Orientador: Professor Dr. Fábio Henrique Tavares de Oliveira.

A busca por métodos analíticos rápidos, exatos, precisos, de custo reduzido e que descarte pouco resíduos após análise, implica no aprimoramento dos métodos de análises químicas de nutrientes em tecido vegetal, fazendo-se necessário a comparação de métodos novos com aqueles tradicionalmente utilizados nos laboratórios de rotina. Com este trabalho objetivou-se comparar a eficiência de seis métodos de análises químicas de tecido vegetal, os quais diferem entre si quanto aos procedimentos de digestão ou extração dos nutrientes da matéria seca. Foram utilizadas dez amostras padrão de tecido vegetal (anos 2011 e 2012) fornecida pelo Programa Inter laboratorial de Análise de Tecido Vegetal (PIATV), coordenado pela ESALQ/USP, cujos resultados foram previamente conhecidos. Foram determinados os teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, boro, ferro, cobre, manganês e zinco. Os métodos analíticos comparados foram: 1) Extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1 mol/L; 2) Digestão via seca (incineração) em forno mufla e dissolução posterior do resíduo inorgânico (cinzas) com HCl 1 mol/L; 3) Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca; 4) Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca; 5) Digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO_3 para digerir a matéria seca e 6) Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) para digerir a matéria seca. A eficiência de cada método foi avaliada comparando-se os resultados obtidos para cada nutriente com os resultados fornecidos pelo PIATV. As análises foram efetuadas no Laboratório de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), cada uma das dez amostras padrão foi analisada em quintuplicata pelos seis métodos analíticos e foram utilizados os mesmos métodos de dosagem para cada nutriente. Os resultados evidenciaram que, de modo geral, todos os métodos apresentaram boa à excelente precisão, porém nem todos apresentaram uma exatidão aceitável. Para a extração do K todos os métodos apresentaram exatidão excelente. A incineração (calcinação) foi o único método exato, dentre os testados, para a extração de B. A digestão sulfúrica foi o único método exato, dentre os testados, para a extração de N total. Para a extração de S os métodos que apresentaram maior exatidão foram a digestão em sistema fechado usando micro-ondas e o método de digestão nitroperclórica. À exceção dos nutrientes N e B, o método mais exato para a extração dos macro e micronutrientes avaliados foi nitroperclórico, seguido pelo método de digestão usando o forno micro-ondas e HNO_3 para digerir a matéria seca e pelo método da digestão usando H_2SO_4 e H_2O_2 . Para a extração de N, P, K, Ca e Mg pode ser utilizado o método da digestão sulfúrica. Para a extração de Fe, Cu, Mn e Zn pode ser utilizado o método da digestão úmida em forno micro-ondas com uso do HNO_3 .

Palavras Chaves: Análise foliar, métodos de digestão, métodos de extração.

ABSTRACT

ANA KALINE DA COSTA FERREIRA, **Comparison Methods of Chemical Analysis of Nutrients in Tecido Vegetable**. Mossoró - RN , Federal Rural University of the Semi - Arid , February 2014. 88 p.il. Dissertation. Graduate Program in Management of Soil and Water . Advisor: Professor Dr. Fábio Henrique Tavares de Oliveira .

The search for rapid analytical methods, accurate, precise, cost-effective and low-waste disposal after analysis, implies the improvement of methods of chemical analysis of nutrients in plant tissue, making it necessary to compare new methods with those traditionally used in routine laboratories. This work aimed to compare the efficiency of six methods of chemical analysis of plant tissue, which differ in how to nutrient digestion or extraction of the dry matter. Ten standard plant tissue (years 2011 and 2012) provided by Inter Laboratory Program Analysis of Plant Tissue (PIATV), coordinated by ESALQ / USP, whose results were previously known samples were used. Were determined the concentrations of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, sulfur, boron, iron, copper, manganese and zinc. The analytical methods were compared : 1) extraction of the dry matter of the nutrients with the use of HCl 1 mol/L, 2) via Digestion dried (incineration) in a muffle furnace and subsequent dissolution of the inorganic residue (ash) with HCl 1 mol/L ; 3) Digestion wet processing in open system using block digester as a heat source and a mixture of $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ to digest dry matter; 4) Digestion wet processing in open system using block digester as a heat source and a mixture of $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ to digest dry matter, 5) via wet digestion in a closed system using microwave oven as a heat source and HNO_3 to digest dry matter and 6) via wet digestion in an open system using block digester as a heat source and a mixture of $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) to digest dry matter . The efficiency of each method was assessed by comparing the results obtained for each nutrient with the results provided by PIATV. The analyzes were performed at the Laboratory of Soil Fertility and Plant Nutrition, Federal Rural University of the Semi -Arid (UFERSA) , each of the ten standard samples was analyzed in quintuplicate by the six analytical methods and the same methods were used for each dose nutrient. The results showed that, in general, all methods showed good to excellent accuracy, but not all showed an acceptable accuracy. For the extraction of K all methods showed excellent accuracy. Incineration (calcination) was the only accurate method among those tested for the extraction of sulfuric B. The digestion was the only accurate method among those tested for extraction of total N. For the extraction of S methods that were more accurate were the digestion in a closed system using microwave digestion and method nitroperchloric. Except for the N and B, the most accurate method for the extraction of macro and micronutrient nitroperclóric was followed by a digestion method using the microwave oven and HNO_3 to digest dry matter and the digestion method using H_2SO_4 and H_2O_2 . For the extraction of N, P, K, Ca and Mg of sulfuric acid digestion method can be used. For the extraction of Fe, Cu, Mn and Zn wet digestion method in the microwave oven using HNO_3 may be used.

Key Words: Analysis leaf, digestion methods, extraction methods.

1. INTRODUÇÃO

A avaliação do estado nutricional de uma planta é feita comparando-se os teores de nutrientes no tecido vegetal diagnosticado nessa planta com valores padrão ou de referência que são considerados ideais ou recomendados para essa mesma espécie vegetal. Assim, se os teores dos nutrientes nessa planta forem iguais ou superiores aos teores considerados padrão ou ideais, considera-se que essa planta está adequadamente nutrida.

A quantificação dos nutrientes no tecido vegetal diagnóstico é feita mediante a realização da análise química da matéria seca desse tecido vegetal, sendo utilizados diferentes métodos de análises químicas de tecido vegetal. E a busca por métodos analíticos rápidos, exatos, precisos, de custo reduzido e que descarte pouco resíduos após análise, implica no aprimoramento desses, fazendo-se necessário a comparação de métodos novos com aqueles tradicionalmente utilizados nos laboratórios de rotina.

Todo método de análise química de tecido vegetal é composto de duas etapas. Em primeiro lugar, realiza-se a digestão ou mineralização da amostra de matéria seca de tecido vegetal para que todos os nutrientes passem para a solução. Nesse caso, todo o material orgânico vegetal é digerido ou mineralizado. Alternativamente, alguns métodos não digerem a matéria seca totalmente, mas faz apenas uma extração ácida dos nutrientes presentes na matéria seca do tecido vegetal. Na segunda etapa de qualquer método de análise química de tecido vegetal, procede-se a dosagem ou quantificação da concentração dos nutrientes na solução obtida após a digestão ou extração realizada na amostra.

A digestão ou mineralização da amostra pode ser realizada por via seca ou úmida (Almeida, 2007), e ainda por extração. A digestão via seca é mais utilizada para análise de boro, na qual primeiramente transforma-se a matéria seca vegetal em cinzas mediante a incineração em mufla e, posteriormente, adiciona-se ácido para dissolver as cinzas e manter todos os nutrientes em solução. Quanto à digestão via úmida, esta pode ser feita com o auxílio de ácido (digestão ácida), base (digestão básica) ou fótons (micro-ondas), usando-se diferentes combinações de substâncias (ácidos, bases, oxidante), temperatura, tempo, entre outros (Morgano et al., 2002). As digestões via úmida mais utilizadas são a sulfúrica, a nitroperclórica e a nítrica em micro-ondas. Na extração de nutrientes da matéria seca de tecido vegetal, o procedimento é feito com a utilização de ácidos diluídos, usa-se principalmente o ácido clorídrico. Esse tipo de mineralização apresenta vantagens em relação aos outros métodos de digestão, pois não polui o ambiente do laboratório com gases e vapores tóxicos ou

corrosivos, devido à utilização de ácidos com concentrações diluídas para extrair os nutrientes da matéria seca.

Quanto aos métodos de dosagem de nutrientes em solução que são adotados, não há muita variação entre os laboratórios de análise química de tecido vegetal. No entanto, não há uniformidade de procedimentos analíticos, assim a grande variação de equipamentos laboratoriais encontrados no mercado, e as pequenas adaptações desses métodos utilizados pelos laboratórios podem contribuir para a obtenção de resultados muitas vezes divergentes. Embora existam diferentes métodos analíticos, cada um desses apresentam vantagens e desvantagens, e há muita controvérsia quanto ao melhor método para a solubilização das amostras (Jones & Case, 1990; Hoening, 1995), um ideal para ser adotado nos laboratórios de rotina, seria aquele exato, preciso, de baixo custo e que descarte poucos resíduos.

Portanto, nos últimos anos, os laboratórios de rotina de análise química de tecido vegetal têm utilizado novas técnicas de dosagem de nutrientes em extratos de plantas, como também novos equipamentos e procedimentos para digestão e/ou extração de nutrientes (Carneiro et al., 2006). Invariavelmente, essas mudanças influenciam diversas características dos métodos analíticos, como simplicidade, rapidez, exatidão, precisão, custo e geração de resíduos que causam impactos ambientais.

Diante do exposto, neste trabalho objetiva-se comparar a eficiência de seis métodos de análises químicas de nutrientes em tecido vegetal, os quais diferem entre si quanto aos procedimentos de digestão ou extração dos nutrientes da matéria seca, para efeito, foram utilizadas amostras padrão cujos resultados foram previamente conhecidos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Avaliação do estado nutricional das plantas

Avaliar o estado nutricional das plantas é conhecer e diagnosticar as suas condições sob o aspecto da nutrição mineral. O manejo preciso da adubação beneficia o meio ambiente, diminuindo os níveis de acidificação do solo, eutrofização das águas, poluição do lençol freático e salinização de áreas. Além disso, os produtores e consumidores se beneficiam com maior produtividade e qualidade (Fontes, 2001).

A caracterização do desenvolvimento das folhas e dos sintomas de deficiência pode auxiliar na diagnose de desordens nutricionais e na diferenciação de danos causados por patógenos, danos químicos ou outros tipos de estresse (Yeh et al., 2000).

O estado nutricional da planta pode ser avaliado utilizando-se procedimentos diretos e indiretos. Os indiretos estimam a concentração de um nutriente por meio de uma característica cujos valores possam ser correlacionados com as concentrações do nutriente na planta. Os diretos são aqueles em que a análise visual e/ou real (análise da massa seca) é determinada. A análise da massa seca da folha através de procedimentos químicos é denominada análise foliar (Fontes, 2001).

Para o elemento químico, ou nutriente vegetal, ser considerado essencial ao crescimento e reprodução da planta, ele precisa satisfazer os seguintes critérios de essencialidade: a) a planta não é capaz de completar seu ciclo vital na ausência do elemento; b) a função do elemento não pode ser substituída por outro elemento e, c) o elemento deve participar diretamente do metabolismo vegetal, fazendo parte de algum constituinte vegetal ou ser requerido em alguma etapa específica do metabolismo (Arnon e Stout, 1939; Marschner, 1995).

Segundo Barker & Pilbeam, 2007, são conhecidos 14 elementos essenciais, classificados em macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Cu, Zn, Fe, Mn, B, Cl, Mo e Ni). Porém, a presença do elemento na composição da planta (tecido vegetal) não implica em essencialidade.

Na análise do tecido vegetal, a concentração do nutriente está diretamente relacionada com a produção de matéria seca ou produto comercial, e se essa concentração estiver abaixo do valor adequado para o crescimento ótimo, a planta é dita deficiente (Marschner, 1995).

A deficiência nutricional produz alterações no metabolismo e crescimento da planta, inicialmente, retarda os processos metabólicos em que o nutriente participa diretamente e, se a

deficiência for agravada, outras etapas do metabolismo serão afetadas indiretamente. Deficiências severas apresentam sintomas típicos. Entretanto, distúrbios no metabolismo vegetal, redução de crescimento e de produtividade podem acontecer mesmo sem a manifestação de sintomas visuais (Epstein & Bloom, 2006).

A diagnose nutricional pode ser feita por meio da observação visual dos sintomas de distúrbios nutricionais (diagnose visual) ou por meio de procedimentos envolvendo, análise química de partes particulares da planta. Em ambos os casos há necessidade de se observarem determinados princípios para que os resultados possam ser devidamente interpretados e resultem em recomendações com resultados econômicos para os produtores (Malavolta et al., 1997).

2.2 Diagnose visual

A diagnose visual é um tipo de avaliação do estado nutricional da planta, que consiste em comparar o aspecto da amostra em questão com uma amostra padrão (Miyazawa et al., 1992). Havendo falta ou excesso de determinado elemento isto será refletido no aspecto anormal e visível da planta em relação a uma planta típica (Epstein & Bloom, 2006). Lembrando que, antes de apresentar sintomas visíveis de deficiência, a planta pode estar com carência, que pode gerar comprometimento no desenvolvimento e na produção, denominada fome oculta (Malavolta, 2006).

A análise visual pode ser realizada no campo e não necessita de equipamentos sofisticados. No entanto, sintomas visuais de toxidez e deficiência observados no campo são difíceis de serem interpretados devido a interferências e interações diversas. Na maioria das vezes só é possível diagnosticar sintomas que ocorrem de forma aguda, quando já houve comprometimento do plantio (Fontes, 2001). Além disso, em condições de campo comumente tem-se deficiência de mais de um elemento ao mesmo tempo, dificultando ainda mais a diagnose. Porém são vantagens do método visual: o custo reduzido, a rapidez do diagnóstico e a pouca dispendiosidade.

De acordo com Bennet (1993), os sintomas foliares podem ser divididos em cinco classes: a) clorose, uniforme ou interneval; b) necrose, nas pontas, margens ou entre as nervuras das folhas; c) perda da dominância apical, com morte da gema apical e, ou, superbrotamento; d) acúmulo de antocianina e desenvolvimento de coloração avermelhada e, e) deformação, com coloração normal ou amarelecimento.

Os sintomas de deficiências aparecem primeiro nas folhas velhas, quando os elementos são de alta mobilidade, e nas folhas novas, quando os elementos são de baixa mobilidade. Caso o elemento seja intermediário, a manifestação dos sintomas poderá ocorrer

nas folhas novas ou velhas, dependendo de fatores como grau de deficiência, taxa de crescimento da planta e espécie. A localização dos sintomas de carência nas folhas, novas ou velhas depende da mobilidade do nutriente na planta (Fontes, 2001).

São considerados elementos de alta mobilidade: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), magnésio (Mg), cloro (Cl), sódio (Na) e enxofre (S); intermediária: zinco (Zn), cobre (Cu), molibdênio (Mo), ferro (Fe) e boro (B) e baixa: cálcio (Ca) e manganês (Mn) (Marschner, 1995).

Para obtenção de melhores resultados durante a diagnose visual, devem ser observados e analisados os fatores bióticos e/ou abióticos, que podem alterar o estado nutricional da planta ou induzir padrões de danos que são similares à deficiência ou toxidez de nutrientes. Os principais fatores são: déficit hídrico ou excesso do suprimento de água, textura e compactação do solo, variações bruscas de temperatura, reações entre misturas de produtos fitossanitários, toxidez causada por herbicidas, senescência natural de folhas, ataque de pragas e doenças e práticas de cultivo inadequadas (Malavolta et al., 1997).

2.3 Análise química de tecido vegetal

A análise de tecidos objetiva a determinação da concentração de nutrientes de uma porção particular da planta, em determinada ocasião ou estágio de desenvolvimento morfológico definido. Assim encontra-se quantitativamente e qualitativamente o nutriente, onde o resultado é expresso com base na matéria seca.

Na análise química de tecido vegetal podem ser empregados os órgãos como folhas, flores, frutos ou pecíolos. No entanto, a folha surge como o órgão mais indicado para a maioria das culturas, por ser o fisiologicamente mais ativo, responsável pela produção de assimilados, e assim nela há maior correlação entre os teores dos nutrientes e a produtividade das culturas (Cantarutti et al., 2007).

Quando se analisa a parte particular da planta, deve ser definido o método de diagnose nutricional. O sucesso dessa diagnose depende da escolha do método mais econômico e apropriado para análise dos nutrientes de interesse, da obtenção de padrões de referência, da normatização da amostragem, do preparo das amostras, da qualidade das análises químicas do tecido e da interpretação dos resultados analíticos (Jones, 1981).

2.3.1 Análise química de tecido foliar

O desenvolvimento de um vegetal é muito afetado pela sua nutrição, assim é possível prevenir morte devido a deficiências ou excessos de nutrientes pela correção dos solos usando a análise química como critério para recomendação de corretivos e fertilizantes. No entanto,

atualmente, é possível usar a própria planta como objetivo de diagnóstico (Bataglia et al., 1992; Bataglia et al., 1996).

Os diagnósticos nutricionais das plantas são feitos através da análise química das folhas pela técnica, que de forma ampla, se denomina de diagnose foliar ou, também, análise química de tecido foliar (Bataglia et al., 1996; Terblanche & Du Plessis, 1992).

Através da análise química de tecido foliar é possível à avaliação do estado nutricional das plantas, isto é, a identificação do nível de comprometimento da produtividade, em função da situação nutricional, principalmente em casos extremos (Bataglia, 1996).

A análise química de tecido foliar é uma “ajuda para solução de problemas nutricionais das plantas crescendo em condições de campo” e, que atualmente é usada em conjunto com outros métodos, em particular a análise de solo (Malavolta, 2006). Esse tipo de análise tem sido usado com sucesso, em alguns países, como método para diagnose do estado nutricional e para a formulação de recomendações de adubação de diversas culturas de interesse econômico. No Brasil, a utilização desse método, somada à de análise de solo, tem possibilitado a adubação mineral ou orgânica, com macro e micronutrientes, mais racional para todas as culturas de exploração comercial (Terra, 2000).

A segurança da análise química de tecido foliar reside no fato desta está baseada no princípio de que a concentração de nutrientes na planta é um valor integral de todos os fatores que interagem entre si para afetá-la (Ulrich, 1976; Fregoni, 1980). E a interpretação correta dos resultados da análise depende de muita experimentação para o estabelecimento de índices de calibração que reflitam o estado nutricional das plantas (Bataglia, 1996).

2.4 Métodos de análises químicas de tecido vegetal

Na organização de um laboratório devem ser considerados alguns fatores como: tipo de análises a serem realizadas, métodos analíticos a serem usados, quais os equipamentos disponíveis, o número de amostras a serem analisadas, o seu custo associado, entre outros (Tedesco et al., 1995).

A análise química foliar tradicional tem as vantagens de ser rápida e acessível, pois as rotinas analíticas são relativamente simples e, por isso, são efetuadas por muitos laboratórios, uma vez que, consiste no preparo dos extratos pela digestão completa da amostra via úmida ou via seca, com posterior quantificação dos nutrientes no extrato inorgânico (Cazetta et al., 2010).

No transcorrer dos últimos anos, pesquisas e trabalhos têm avançado significativamente no que diz respeito à análise química de tecidos. Os procedimentos atendem a uma gama maior de elementos e, as técnicas de determinação ganharam em agilidade e confiabilidade, tornaram-se mais rápidas e mais precisas (Carneiro et al., 2006).

Atualmente os métodos analíticos podem ser caracterizados como digestão de amostras, ou técnicas de extração, este procedimento pode ser realizado via úmida ou seca, e o procedimento é realizado com auxílio de ácido (digestão ácida), base (digestão básica) e fótons (micro-ondas) (Almeida, 2007). O processo por via seca é caracterizado pela transformação do material em cinzas através da incineração e posterior adição de ácido e a via úmida é realizada através da utilização dos compostos sem incineração, por métodos com utilização de ácidos ou bases (Morgano et al., 2002).

Vários métodos de extração foram desenvolvidos a fim de se obter os teores disponíveis de nutrientes para as plantas (Baumgarten, 2002). Inicialmente, os métodos utilizados para extração de macro e micronutrientes em extratos (substratos) baseavam-se nos métodos empregados para solos. Esses métodos foram utilizados por muito tempo, entretanto as correlações entre as quantidades extraídas dos elementos e as quantidades absorvidas pelas plantas muitas vezes não foram significativas (Alt, 2001).

Os métodos clássicos utilizados para a extração de elementos químicos do tecido vegetal são: digestão seca, digestão úmida, digestão úmida em forno micro-ondas e solubilização em HCl 1mol/L (Silva, 2009).

2.4.1 Extração com soluções de ácidos diluídos (métodos sem digestão)

Os elementos químicos do tecido vegetal são solubilizados na solução de HCl 1 mol/L. A solução é capaz de extrair elementos químicos do tecido vegetal sem oxidação da matéria orgânica. O método é aplicável para a determinação total de B, Ca, Cd, Co, Cu, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb e Zn. É possível determinar também o NO_3^- nesse extrato. A solução de HCl 1 mol/L pode ser substituída por HNO_3 1 mol/L, sendo, nesse caso, possível a determinação além dos elementos citados do Cl^- . O método apresenta as seguintes vantagens: não polui o ambiente do laboratório com gases e vapores tóxicos ou corrosivos; dispensa materiais e aparelhos específicos, como capelas, mufla, bloco digestor, cadinho e tubo digestor; é simples, rápido e adaptável em sistema em série; pode utilizar o HCl comercial; tem baixo custo de extração. A principal desvantagem do método é a extração parcial dos elementos Al, Fe e S (Miyazawa et al., 1984).

É importante frisar que o método escolhido deve proporcionar segurança e confiabilidade dos resultados. Adicionalmente, as condições do laboratório devem permitir o uso seguro para o operador com base nas instalações adequadas que cada método requer. Somam-se a isto, os aspectos ambientais, como por exemplo, disposição de resíduos sólidos, líquidos e gasosos (Zagato et al., 1981).

2.4.2 Digestão seca (incineração/calцинаção)

A digestão seca é a técnica mais antiga e simples de análise de tecido vegetal. Nesta técnica a matéria orgânica do tecido vegetal é incinerada em mufla elétrica sob temperatura de 450 a 550 °C, e o resíduo inorgânico (cinza) são dissolvidos na solução de ácido diluído, podendo-se determinar os seguintes elementos nessa solução: Al, B, Ca, Cd, Cl, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Se, Si e Zn.

As principais vantagens dessa técnica são: simplicidade de execução, possibilidade da determinação de vários elementos no material digerido e a não poluição do ambiente do laboratório com gases ou vapores tóxicos. Entretanto, como desvantagens, o método mostra-se: lento (gasta mais de 24 horas), trabalhoso (filtração), dificuldade de automação, com possibilidade de perdas de elementos por volatilização, mais sujeito à contaminação externa e mais exigente quanto a materiais especiais (mufla, cadinho de porcelana, cadinho de platina e outros) (Silva, 2009).

No método da via seca, o oxigênio atmosférico serve como oxidante para a queima da matéria orgânica, produzindo um resíduo inorgânico. Posteriormente esse resíduo é então dissolvido por ácidos (Christian, 1994). A via seca, preferida por Bataglia et al., (1983), é um método simples e permite que se trabalhe com uma quantidade maior de amostra e um melhor controle das contaminações provenientes de ácidos. No entanto, ela apresenta limitações, pois muitos elementos podem ser volatilizados, como o enxofre, o arsênio, o selênio o mercúrio (Jones et al., 1991) e o chumbo, em temperatura superior a 500 °C (Christian, 1994). A calcinação é também, muitas vezes, limitada, devido a possíveis perdas de elementos voláteis, a reações dos analitos com o material do cadinho, pela formação de resíduos de combustão de difícil dissolução e, ainda, a problemas oriundos da contaminação das amostras (Nascentes et al., 2001).

2.4.3 Digestão úmida em sistemas aberto e fechado com o uso de micro-ondas

O método da via úmida é o mais bem aceito para dissolução de materiais vegetais, consistindo na destruição da matéria orgânica através da digestão ácida, em alta temperatura. Os ácidos oxidam a matéria orgânica a dióxido de carbono, água e outros compostos voláteis, que são eliminados, deixando apenas os sais ou ácidos dos constituintes inorgânicos (Christian, 1994).

A combinação de um ácido oxidante e outro agente oxidante tem sido bastante empregada, pois o segundo potencializa o poder de oxidação do ácido. Em geral se emprega o peróxido de hidrogênio como oxidante devido ao seu alto poder de oxidação e ao seu alto grau de pureza, resultando em baixos valores das amostras em branco. Além disso, o produto final da sua decomposição é a água. A mistura entre o ácido perclórico e a água oxigenada é também empregada para amostras de plantas (Clément, 1995), nas quais a água oxigenada é utilizada na pré-digestão, conforme Abreu (1997).

Com o desenvolvimento da tecnologia de micro-ondas tem havido um crescente interesse na utilização desse princípio como fonte de aquecimento alternativo na abertura de amostras. Os resultados têm-se mostrado equivalentes ou melhores que os métodos tradicionais (Jassie & Kingston, 1988). Um ponto negativo para a análise utilizando micro-ondas é a pequena massa de amostra que se utiliza para digestão, menos de 1,0 g, devido às altas pressões obtidas por massas superiores. Mas, este valor pode variar um pouco, dependendo da natureza da amostra. Como é realizado em ambiente fechado, esse procedimento minimiza riscos de contaminação pela atmosfera e pelos reagentes utilizados para decomposição, pois estes são requeridos em pequenas quantidades (Korn et al., 2003; Buldini et al., 2002).

As vantagens da amostra líquida em relação à sólida são: facilidade no preparo de curvas analíticas com soluções padrão, maior precisão, diluição facilitada, permissão de análise em fluxo, possibilidade de separar os analitos dos interferentes e/ou concentrados com solvente orgânico e maior velocidade analítica (Sarruge & Haag, 1974 e Miyazawa et al., 1992).

Assim um reagente ideal, para dissolução dos elementos das plantas, deve: apresentar capacidade de dissolução de todos os constituintes químicos do tecido vegetal; ser não agressivo, não corrosivo e não aderente à superfície dos materiais; oferecer processo simples, rápido e com o mínimo de etapas analíticas; ser de fácil aquisição no mercado, fácil purificação e baixo custo; ser de fácil manuseio, não tóxico e não poluente (sem produção de gases ou vapores tóxicos) Miyazawa et al., 1984; Krug, 1996). Não se conhece, porém até o momento, um reagente que atenda a todas essas exigências (Silva, 2009).

Em geral, as técnicas convencionais de dissolução por via úmida consomem muito tempo e algumas marchas analíticas são potencialmente suscetíveis à contaminação e à perda de elementos químicos por volatilização. A digestão assistida por micro-ondas apresenta vantagens, pois reduz o tempo de preparação, bem como os riscos associados aos métodos clássicos, tais como contaminação e perda dos elementos químicos voláteis (Azcue et al., 1994). Por outro lado, os sistemas abertos de digestão permitem a análise simultânea de um

número maior de amostras, facilita a evaporação de ácido, a secagem dos extratos digeridos e reduzem os problemas analíticos em etapas subsequentes à digestão (Sastre et al., 2002).

Um procedimento de digestão pode consumir até 61% do tempo total gasto no processamento analítico, podendo ser responsável por até 30% do erro total da análise (Oliveira, 2003). Outro fator que se deve levar em consideração é que os sistemas abertos não fornecem interação entre a temperatura e pressão, sendo inferior o poder de digestão para amostras com alto teor de matéria orgânica (Hurt & Gibbins, 1995).

2.5 Aspectos gerais dos métodos de análises químicas de nutrientes em tecido vegetal

De acordo com Kingston & Jassie (1988) e Krug et al. (2000), os ácidos mais comumente empregados, na digestão de tecido foliar, são:

- a) Nítrico (HNO_3), ponto de ebulição, 86°C , agente oxidante mais utilizado na digestão de amostras orgânicas, libera os elementos na forma de nitratos solúveis e é normalmente comercializado em forma bastante pura, a 65 – 69% ($> 69\%$, HNO_3 “fumegante”);
- b) Clorídrico (HCl), ponto de ebulição, 110°C , comercializado com alto grau de pureza a 36 – 38% (11,6 a 12,4 mol l⁻¹). Apesar de ser um ácido forte, não possui propriedades oxidantes e reage com a maioria dos cátions metálicos de transição, formando complexos bastante fortes com Au, Tl e Hg e mais fracos com Fe, Ga, In e Sn;
- c) Sulfúrico (H_2SO_4), ponto de ebulição 338°C , comercializado como 98% de pureza, apresenta o ponto de ebulição mais alto entre os ácidos minerais concentrados mais comuns;
- d) Perclórico (HClO_4), ponto de ebulição 203°C , comercializado a 60 - 72% de pureza (nuca se deve utilizar em concentrações superiores) – a altas temperaturas, é um forte agente oxidante para matéria orgânica, apresenta baixo poder complexante;
- e) Fluorídrico – HF, ponto de ebulição 112°C , ácido fraco, não oxidante, comercializado entre 38 – 48% de pureza, é empregado para a dissolução de silicatos, pois o HF é um poderoso ânion complexante, reage com os elementos que forma óxidos refratários difíceis de serem dissolvidos;

As seguintes observações devem ser lembradas para a decomposição de materiais orgânicos e biológicos, quanto à escolha do ácido ou mistura ácida (Krug, 1999):

- a) É muito difícil oxidar amostras completamente utilizando somente HNO_3 (este ácido tem o menor ponto de ebulição, sendo o mais moderado dos três ácidos oxidantes). Se por um lado o baixo ponto de ebulição do azeótropo (86°C) facilita a remoção do ácido nítrico após a oxidação, por outro a baixa temperatura limita a sua eficiência oxidativa. Altas temperaturas

são necessárias para possibilitar maior eficiência nas quebras das ligações carbono-carbono das moléculas orgânicas;

b) HClO_4 apresenta alto poder de oxidação, mas quando utilizado isoladamente, torna-se muito perigoso devido ao risco iminente de explosão, pela formação de percloratos instáveis. Na prática, recomenda-se usar sempre o ácido perclórico em combinação com outro ácido (em geral utiliza-se após a adição de ácido nítrico);

c) H_2SO_4 seria o mais útil dos três ácidos para ser usado sozinho, face ao seu elevado ponto de ebulição, mas o processo de oxidação é bastante lento. Na maioria dos casos H_2SO_4 é utilizado em combinação com HNO_3 , HClO_4 ou H_2O_2 . As misturas ácidas mais usadas em digestão por via úmida são: nítrico-perclórica, nítrico-sulfúrica, nítrico-peróxida, nítrico-clorídrica, nítrico-perclórica-peróxido (Knapp, 1998).

Na prática, a maioria dos métodos de dissolução de amostras inorgânicas é realizada com o emprego de dois ou três ácidos, pois diferentes propriedades úteis podem ser combinadas: um ácido oxidante e um ácido complexante; ácidos podem reagir, formando produtos com maior reatividade do que qualquer um deles separadamente; uma propriedade indesejável de um determinado ácido pode ser moderada pela presença de outro ácido e a amostra pode ser dissolvida com um ácido que a seguir pode ser separado da mistura por outro ácido (Kingston & Jassie, 1988; Krug et al., 2000).

2.5.1 Método de extração via solubilização com adição de HCl

O uso da extração via solubilização de elementos químicos, aparece como uma promissora alternativa para análises químicas, sendo metodologia que apresenta pequeno risco operacional e produz resíduos de fácil neutralização, minimizando impactos ao meio ambiente. No entanto, há necessidade de se comparar os resultados obtidos, com aqueles oriundos da análise, com outras metodologias correntes na área da nutrição mineral de plantas (Carneiro et al., 2006).

E ainda, (Carneiro et al, 2006) afirmaram que a extração com HCl, na concentração de 1 mol/L, e mesmo diluído (0,33 mol/L), proporcionou excelentes valores de solubilização, sempre acima de 80% ou próximo da máxima solubilidade alcançada e os resultados obtidos com esta metodologia, além disso, mostraram estreita correlação com as outras técnicas comparadas – digestão via úmida nítrico-perclórica, via seca em cadinhos de porcelana e via seca em cadinhos de platina, (exceção feita aos valores de Ca) e apresentaram baixos coeficientes de variação.

Estes aspectos todos, associados ao fato de ser metodologia de simples execução rotineira, e de baixo risco operacional e ambiental, conferem a esta metodologia um potencial de utilização na rotina analítica para caracterizar K, Mg e Al em folhas de erva-mate (Carneiro et al., 2006).

2.5.2 Método de extração via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com adição de HCl 1 mol/L

Na decomposição por via seca a queima da amostra normalmente é realizada em forno mufla, no entanto, esta queima é inadequada quando o analito é um elemento volátil, que pode ser perdido total ou parcialmente devido às altas temperaturas envolvidas. Essas temperaturas podem variar de 450- 550 °C. Para evitar estas perdas, podem-se utilizar temperaturas menores, mas, em contrapartida, corre-se o risco da amostra não ser decomposta e dar origem a resultados inexatos (Ferrarini, 2006).

As recomendações da concentração de ácidos para a solubilização das cinzas variam. É sugerido que a concentração final da solução atinja até 1 mol/L no caso da água régia ou uma dissolução das cinzas em solução ácida contendo 3% de HCl e 1% de HNO₃ v/v (Jones & Case, 1990).

Nesse tipo de decomposição a fração orgânica da amostra é queimada a elevadas temperaturas pelo oxigênio do ar (que atua como agente oxidante), obtendo-se um resíduo inorgânico na forma de cinza solúvel em ácido diluído. É comum também a utilização de reagentes auxiliares de queima antes da decomposição da amostra. Estes reagentes podem acelerar a oxidação, prevenir a volatilização de certos componentes das cinzas e evitar reações entre os componentes da cinza e o material do cadinho (Krug, 2006).

2.5.3 Digestão via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO₃ + H₂O₂ para digerir a matéria seca

A mistura HNO₃ + H₂O₂ é adequada a amostras que contenham alto teor de carbono, tais como, sementes de mamona, gergelim e outros, (Silva, 2009).

A utilização individual do ácido ou da mistura depende da natureza da amostra e do elemento a ser determinado. Esse método é recomendado para determinação dentre outros, dos elementos K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Al, Na, Cr, Ni, V, Pb, Cd, Co, Mo. Pode também ser usado para a determinação de P e S, entre os não metais. Alguns elementos podem ser

perdidos completa ou parcialmente por volatilização, aqui podendo ser incluídos os halogênios, além de Sb, As, B, Hg e Se, se for empregado sistemas abertos de decomposição (bloco digestor, sistema por micro-ondas focalizadas), sendo nesses casos recomendado o uso de fornos com micro-ondas fechado (Nogueira, 2003).

2.5.4 Digestão via úmida em sistema aberto e a mistura de $H_2SO_4 + H_2O_2$ para digerir a matéria seca

Existem muitas variações deste método de extração incluindo o uso de misturas digestoras com ácido sulfúrico concentrado com adição de sais para aumentar a temperatura de ebulição do ácido, catalisadores e agentes oxidantes, outros que não o permanganato de potássio que foi sugerido originalmente por Kjeldahl. Para amostras em que o N está na forma oxidada, como os nitratos e nitritos, é necessário efetuar um pré-tratamento antes da digestão da amostra. Os nitratos são reduzidos à amônia; a adição de ferro reduzido em meio ácido libera H^+ e reduz o NO_3^- à amônia; os nitritos são primeiramente oxidados com permanganato a nitrato e este é posteriormente reduzido à amônia com adição do ferro reduzido em meio ácido. O sulfato de potássio é adicionado ao ácido sulfúrico para elevar a temperatura de digestão. Os catalisadores usados são selênio, óxido de mercúrio (II) e sulfato de cobre para promover a oxidação da matéria orgânica. Vários agentes oxidantes são usados, um deles já referido é o permanganato de potássio. O agente oxidante mais usado é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e tem mostrado ser melhor nas digestões que não requerem pré-tratamento da amostra (Trivelin, 1973).

A mistura $H_2SO_4 + H_2O_2$ é utilizada na digestão do tecido vegetal para a determinação de N total ou proteína total e P total. O nitrato encontrado na planta não é determinado nesse extrato digerido. Nesse extrato digerido também se pode determinar os metais Al, Cr, Fe, Ni e Pb. Entretanto, frequentemente a contaminação dos reagentes por esses metais dificulta suas determinações (Silva, 2009).

O ácido sulfúrico diluído não tem praticamente poder oxidante, a não ser o proveniente dos íons hidrogênio, que podem ser reduzidos a hidrogênio gasoso pela ação dos metais em solução. O ácido concentrado, por outro lado, quando aquecido, oxida muitos elementos, sendo ele próprio reduzido a SO_3 , enxofre elementar ou H_2S . Quase todos os compostos orgânicos são parcialmente oxidados ou completamente destruídos pelo ácido concentrado a quente (Bock, 1979).

2.5.5 Digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ para digerir a matéria seca

Um recente desenvolvimento em termos de digestão por via úmida a elevadas pressões (e conseqüentemente a elevadas temperaturas) se baseia na decomposição de amostras por micro-ondas, utilizando ácido nítrico e outros ácidos minerais em recipientes de Teflon selados. O equipamento utilizado é um forno de micro-ondas, especialmente projetado para uso em laboratório, com paredes revestidas de material anticorrosivo, sensores de temperatura e pressão nos recipientes. A eficiência da decomposição é citada na literatura como sendo dramaticamente maior com o uso deste tipo de equipamento em relação aos métodos tradicionais de abertura de amostras. Por exemplo, aberturas que levam várias horas em condições atmosféricas são completadas em poucos minutos pela técnica de micro-ondas. Outra vantagem é que a quantidade de reagente necessária para a digestão é muito menor, diminuindo os níveis do branco significativamente (Kingston & Jassie, 1986).

A abertura de amostras em forno micro-ondas vem sendo cada vez mais utilizada devido às vantagens frente aos métodos de digestão tradicionais, pois não há perda do analito por volatilização, permitindo menor consumo de reagente e menor tempo de digestão, com mínima contaminação externa e sem desprendimento de gases e vapores tóxicos. O uso de micro-ondas nos processos de digestão de amostras, inclusive para a decomposição de silicatos, tem despertado grande interesse (Boaventura, 1996).

Em geral, os procedimentos realizados em frascos fechados são mais rápidos e eficientes, enquanto que a utilização de sistemas abertos implica em etapas trabalhosas e tediosas, possibilitando, ainda, perdas de analitos por volatilização e/ou contaminação das amostras (Oliveira, 2003; Luque-Garcia & Castro, 2003; Capelo et al., 2005).

A digestão ácida empregando aquecimento induzido por energia de micro-ondas é uma metodologia atualmente bem estabelecida para o tratamento de amostras visando à determinação de metais (Bernmejo-Barreira et al., 2001).

Esta técnica de digestão, assim como os procedimentos convencionais, requer, na grande maioria dos casos, o uso de ácidos concentrados. Embora a introdução dos fornos de micro-ondas tenha permitido abreviar os tempos de digestão, a principal limitação desta técnica está relacionada ao alto custo dos instrumentos empregados. Outras dificuldades associadas ao pré-tratamento de amostras usando radiação na faixa de micro-ondas são: (1) os altos tempos de resfriamento requeridos até a abertura dos frascos de alta pressão, embora esta limitação possa ser contornada pelo uso de fornos de micro-ondas com radiação focalizada,

que trabalham sob pressão atmosférica e (2) a geração de vapores nocivos, muitas vezes cancerígenos, como consequência da destruição da matriz da amostra (Soriano, 2006).

2.5.6 Digestão via úmida em sistema aberto e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) para digerir a matéria seca

O método da decomposição por via úmida com a mistura ácida nítro-perclórica é o mais utilizado na dissolução de tecidos vegetais por solubilizar quase totalmente a amostra. No entanto ele apresenta algumas limitações, como a emissão de vapores tóxicos, a necessidade de utilização de equipamentos especiais (capelas de gases e blocos digestores) e de reagentes de difícil aquisição (controlados pelo Ministério do Exército, pela Polícia Civil e Polícia Federal), além do perigo de explosão pelo emprego do ácido perclórico na forma oxidada e a quente (Miyazawa et. al., 1984).

Os métodos que utilizam HClO_4 , por sua vez, são criticados (apesar de serem considerados eficientes) por consumirem horas, às vezes dias, de tratamento, por envolver a adição repetitiva de ácidos fortes nos frascos de reação. Além disso, pela natureza explosiva do HClO_4 anidro, é necessário o uso de capelas especiais e manuseio muito cuidadoso (Krishnamurti, 1994).

A mistura $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) é a mais utilizada para a digestão do tecido vegetal, sendo aplicável a quase todos os tipos de amostras: folhas, sementes, raízes, caules, cascas e outros. Nesse material digerido, é possível determinar Al, B, Ca, Cd, Cl, Cr, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P, Pb, S, Se, Si e Zn. Para sementes com alto teor de óleo (mamona, gergelim, amendoim e outros) recomenda-se efetuar a pré-digestão com $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, para prevenir a possível explosão do ClO_4^- na presença de carbono. O método é rápido (o tempo da digestão é de 1 a 2 horas) e permite análise em série. Entretanto, a grande inconveniência do método é o desprendimento de gases e vapores tóxicos de NO, NO_2 , HNO_3 , HClO_4 durante a digestão. Esses vapores são também altamente corrosivos, atacando principalmente o bloco digestor e a capela, o que cria a possibilidade de explosão pelo acúmulo dos vapores de HClO_4 na capela (Silva, 2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

De modo geral, as ações descritas a seguir tiveram como pressupostos resultados de investigações científicas, onde para a realização da pesquisa foram avaliados seis métodos de análise química de tecido vegetal, utilizando amostras de tecido vegetal fornecidas pelo Programa Interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal (PIATV), coordenado pela ESALQ/USP. O Programa baseia-se no envio de 16 amostras prontas (amostras padrão) de tecido vegetal, identificadas apenas por uma numeração. Essas amostras, a cada ano, são analisadas por laboratórios em todo mundo e a avaliação dos resultados é realizada através de um procedimento estatístico elaborado especialmente para o programa.

Das 16 amostras recebidas, referentes aos anos 2011 e 2012, com os resultados previamente conhecidos, foram selecionadas 10 amostras para serem utilizadas na pesquisa. A seleção seguiu o critério de diversidade em relação aos teores de nutrientes encontrados, cujos resultados (valores máximos, mínimos e a média) são apresentados no quadro 1.

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), onde foram utilizadas duas etapas na obtenção dos teores de nutrientes no tecido vegetal.

1ª etapa – Mineralização ou digestão das amostras

Cada uma das dez amostras padrão foi analisada em quintuplicata pelos seis métodos analíticos de digestão ou extração dos nutrientes da matéria seca de tecido vegetal: 1) Extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1 mol/L; 2) Digestão via seca (incineração) em forno mufla e dissolução posterior do resíduo inorgânico (cinzas) com HCl 1 mol/L; 3) Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca; 4) Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca; 5) Digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO_3 para digerir a matéria seca; 6) Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) para digerir a matéria seca.

Em cada método foi obtido um extrato, o qual recebeu uma nomenclatura de extrato 1. Esses extratos foram armazenados em coletores para serem utilizados na etapa 2.

2ª etapa – Dosagem

Na etapa de dosagem dos elementos químicos nos extratos obtidos, foram utilizados os mesmos métodos de dosagem desses elementos químicos. Os nutrientes analisados foram: Nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, cobre, manganês, zinco e boro.

Os procedimentos analíticos adotados em cada um dos seis métodos analíticos avaliados, bem como os procedimentos de dosagem são descritos a seguir.

Quadro 1 – Resultados das análises químicas das amostras-padrão fornecidos pelo Programa Interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal

Amostra padrão	Medida estatística	Resultados das análises ⁽¹⁾										
		N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
		g kg ⁻¹						mg kg ⁻¹				
1	Média	19,11	1,92	16,91	35,91	3,00	2,15	89,89	6,73	278,26	24,81	16,05
	Mínimo	16,67	1,58	13,83	27,41	2,43	1,54	61,96	4,61	200,55	16,15	10,26
	Máximo	21,55	2,25	20,00	44,41	3,57	2,77	117,83	8,84	355,98	33,47	21,85
3	Média	16,99	0,93	6,49	7,23	2,16	0,83	28,49	7,64	211,62	222,44	16,63
	Mínimo	14,45	0,69	4,81	5,22	1,71	0,54	20,82	5,28	153,71	179,74	11,3
	Máximo	19,53	1,16	8,17	9,24	2,61	1,11	36,16	10,01	269,53	265,14	21,96
6	Média	32,07	3,38	24,75	16,88	3,47	2,08	82,32	12,36	759,22	78,29	63,16
	Mínimo	28,00	2,75	19,73	13,11	2,72	1,55	58,18	9,23	509,16	62,06	50,18
	Máximo	36,15	4,00	29,78	20,65	4,23	2,61	106,46	15,49	1009,28	94,52	76,13
7	Média	5,90	1,09	2,94	1,24	0,74	0,57	6,58	5,09	72,94	215,47	19,63
	Mínimo	4,27	0,69	1,76	0,60	0,52	0,35	3,12	3,42	43,87	166,89	14,04
	Máximo	7,54	1,48	4,11	1,87	0,95	0,79	10,03	6,75	102,01	264,06	25,23
8	Média	14,70	2,40	3,15	0,34	0,81	0,82	4,85	2,81	20,90	4,89	18,58
	Mínimo	12,58	1,74	2,16	0,13	0,57	0,53	2,45	1,54	9,81	2,96	12,77
	Máximo	16,81	3,07	4,13	0,55	1,05	1,12	7,25	4,09	31,99	6,81	24,39

Continuação...

Continua na próxima página...

Amostra padrão	Medida estatística	Resultados das análises ⁽¹⁾										
		N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
				g kg ⁻¹				mg kg ⁻¹				
9	Média	25,16	1,73	25,81	7,48	3,53	1,80	24,60	7,49	275,57	377,33	17,02
	Mínimo	22,67	1,39	19,95	5,86	2,83	1,15	17,52	5,40	222,03	305,34	11,71
	Máximo	27,65	2,07	31,67	9,10	4,23	2,44	31,68	9,57	329,12	449,32	22,34
10	Média	31,26	3,03	51,14	9,50	2,70	2,36	27,98	8,88	477,78	59,42	46,13
	Mínimo	26,90	2,33	33,79	7,57	1,98	1,57	19,43	6,03	371,68	43,19	36,08
	Máximo	35,61	3,74	68,49	11,42	3,41	3,16	36,53	11,73	583,87	75,65	56,18
13	Média	16,90	3,34	33,53	5,39	2,27	1,75	18,03	9,61	149,13	40,76	85,37
	Mínimo	13,98	2,68	25,16	4,17	1,88	1,29	12,04	7,50	103,05	30,87	64,80
	Máximo	19,83	4,00	41,90	6,60	2,66	2,21	24,02	11,71	195,20	50,65	105,94
14	Média	15,37	1,33	8,99	6,02	1,32	1,53	12,84	5,32	256,97	94,31	15,81
	Mínimo	13,82	1,07	6,93	4,88	1,10	1,17	8,39	3,36	186,29	74,99	11,65
	Máximo	16,92	1,59	11,05	7,16	1,55	1,89	17,29	7,28	327,66	113,63	19,97
16	Média	28,99	2,07	13,25	12,22	3,58	1,97	42,97	10,40	345,64	72,52	21,51
	Mínimo	25,68	1,69	10,34	9,82	2,91	1,37	27,83	7,24	269,97	58,18	16,52
	Máximo	32,29	2,46	16,15	14,61	4,24	2,57	58,11	13,57	421,31	86,86	26,51

⁽¹⁾Resultados obtidos a partir da terceira rodada de cálculos realizados com os dados fornecidos por 110 laboratórios de análises de tecido vegetal do Brasil. O valor mínimo é igual à média menos duas vezes o desvio padrão e o valor máximo é igual à média mais duas vezes o desvio padrão.

3.1. Descrição dos métodos de digestão da matéria seca e de extração dos nutrientes do tecido vegetal

Todos esses procedimentos de digestão ou extração foram adaptados do manual de análises de solo, plantas e fertilizantes da Embrapa, (Silva, 2009).

3.1.1 Extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1 mol/L

Transferiu-se 0,5 g de matéria seca para frasco de vidro comum de 50 mL ou erlenmeyer de 125 mL, adicionou-se 25 mL de HCl 1 mol/L, tampou-se os frascos e anotou-se o peso total (frasco + matéria seca + solução de HCl).

Após a pesagem, aqueceu-se por 15 minutos em banho-maria a 80°C, agitou-se por 15 minutos no agitador horizontal a 250 rpm. Após o resfriamento foi verificado se ocorreu alguma evaporação, no caso não ocorreu, pois os frascos estavam tampados. Caso tivesse ocorrido, seria necessário repor a água evaporada até o peso inicial com água destilada e depois filtrar com papel de filtro.

Para cada bateria de amostras, a serem analisadas, foi realizado uma prova em branco adotando os mesmos procedimentos das demais amostras, excluindo-se apenas a colocação da matéria seca para extração.

3.1.2 Digestão via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com HCl 1 mol/L

Esse método de digestão compreendeu duas etapas: a de incineração da matéria seca e a de dissolução das cinzas em meio ácido.

Adicionou-se 0,5 g de matéria seca em cadinho de porcelana e levou-os à mufla elétrica. Aumentou-se a temperatura gradativamente até atingir 500 °C, permaneceu nessa temperatura durante 3 horas e em seguida desligou-se a mufla e deixou ocorrer o resfriamento.

O resíduo da matéria seca de tecido vegetal (cinzas) que permaneceu em cada cadinho foi dissolvido adicionando-se 25 mL de HCl 1 mol/L, para obtenção do Extrato₁, a partir do qual foram dosados os teores dos nutrientes.

Para cada bateria de amostras, a serem analisadas, foi realizado uma prova em branco adotando os mesmos procedimentos das demais amostras, excluindo-se apenas a colocação da matéria seca para incineração.

3.1.3 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca

Transferiu-se 0,3 g de matéria seca para tubo digestor de 80 mL. Levou-os para o bloco digestor que se encontrava na capela de exaustão de gases e, em cada tubo digestor, adicionou-se 6 mL de HNO_3 65% p.a. O bloco digestor foi ligado e aquecido até alcançar a temperatura de 80 °C, e permaneceu nesta temperatura por 1 hora.

Em seguida, acrescentou-se 3 mL de H_2O_2 30 % p.a e aumentou-se gradativamente a temperatura para 160 °C, a qual foi alcançada em aproximadamente 1 hora, permaneceu nesta temperatura por mais uma hora e meia. Em seguida desligou o bloco digestor, deixou ocorrer o resfriamento e depois se adicionou água destilada até completar o volume para 50 mL. Este foi o extrato 1.

Para cada bateria de amostras, a serem analisadas, foi realizado uma prova em branco adotando os mesmos procedimentos das demais amostras, excluindo-se apenas a colocação da matéria seca para digestão.

3.1.4 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca

Nesse método de digestão, utilizou-se uma “mistura digestora” de três reagentes puros para análise, preparada da seguinte maneira. Pesou-se 100 g de Na_2SO_4 , 10 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e 1 g de Se, separadamente. Moeu cada reagente em almofariz, um por vez, até obtenção de um pó fino. Misturaram-se bem os três reagentes e moeu novamente no almofariz.

Na preparação da “mistura digestora”, o Na_2SO_4 pode ser substituído por K_2SO_4 , mas com essa substituição o potássio não poderá ser analisado nesse extrato devido à alta concentração desse elemento com a adição de K_2SO_4 na mistura digestora. Geralmente, o Se já é adquirido em pó.

Transferiu-se 0,4 g de matéria seca para tubo digestor de 100 mL e adicionou 2 mL de H_2O_2 30% p.a. Na capela, foi adicionado vagarosamente 4 mL de H_2SO_4 98% p.a e depois adicionou-se 0,7 g da “mistura digestora”. Ao adicionar o H_2SO_4 no tubo digestor, é necessário cuidado, pois a reação é rápida.

Colocaram-se os tubos no bloco digestor e aqueceu por 30 minutos a 250 °C e aumentou-se a temperatura á 350 °C, até obtenção de um líquido viscoso esverdeado, o que durou em média 3 horas. O bloco digestor foi desligado e deixou ocorrer o resfriamento, mas

mantendo a capela ligada para liberação dos vapores tóxicos. Em seguida, adicionou-se água destilada até completar o volume de 50 mL, o que se constituiu no extrato 1.

Para cada bateria de amostras, a serem analisadas, foi realizado uma prova em branco adotando os mesmos procedimentos das demais amostras, excluindo-se apenas a colocação da matéria seca para digestão.

3.1.5 Digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ concentrado para digerir a matéria seca

Para aplicação dessa técnica de digestão com aquecimento por micro-ondas em tubos de teflon pressurizados, utilizou-se o Digester MARS™ fabricado pela CEM Corporation.

Transferiu-se 0,5 g de matéria seca para tubo de teflon de 100 mL, adicionou-se 5 mL de HNO₃ 65% p.a. Colocou os tubos no cilindro de aço de segurança do equipamento. Introduziu-se o tubo no Digester MARS™ e submeteu-o à temperatura de 170 a 180 °C, pressão de 20 a 25 bar e potência de 600 a 1000 W por 20 minutos, manteve-se nesta temperatura por mais 15 minutos. Após desligar o Digester MARS™ e esfriar os extratos, adicionou-se água destilada até completar o volume de 25 mL (extrato 1).

Para cada bateria de amostras, a serem analisadas, foi realizado uma prova em branco adotando os mesmos procedimentos das demais amostras, excluindo-se apenas a colocação da matéria seca para digestão.

3.1.6 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de HNO₃ + HClO₄ (3:1) para digerir a matéria seca

Na preparação da solução digestora ácida, misturaram-se três partes (em volume) de ácido nítrico concentrado (HNO₃ 65% p.a) mais uma parte (em volume) de ácido perclórico concentrado (HClO₄ 72% p.a).

Transferiu-se 0,5 g de matéria seca para tubo digestor de 80 mL, adicionou-se 8 mL da solução digestora ácida e levou-os para o bloco digestor desligado, mantendo esse material em pré-digestão à temperatura ambiente pelo período de 4 horas. Após esse período, ligou-se o bloco digestor e aqueceu-o lentamente até atingir a temperatura de 120 °C e permaneceu com o material nessa temperatura até cessar o desprendimento do vapor castanho de NO₂.

Em seguida, aumentou-se a temperatura para 200 °C e manteve-se até cessar o desprendimento do vapor branco de HClO₄, o que durou, em média, de 3 a 4 horas. Desligou

o bloco digestor e deixou esfriar o material e depois complete o volume até 25 mL com água destilada, para obtenção do extrato 1.

Para cada bateria de amostras, a serem analisadas, foi realizado uma prova em branco adotando os mesmos procedimentos das demais amostras, excluindo-se apenas a colocação da matéria seca para digestão.

3.2 Métodos de dosagem dos nutrientes nos extratos provenientes da digestão ou da extração

O B e o P foram determinados por espectrometria de absorção molecular, sendo o primeiro com a utilização de azometina-H (460 nm) e o segundo pelo método do azul de molibdênio (660 nm). O S foi dosado pelo método da turbidimetria do sulfato de bário, lendo-se as amostras no espectrofotômetro a 420 nm. Os elementos Ca, Mg, Fe, Cu, Mn e Zn foram determinados por espectrometria de absorção atômica e o K por fotometria de chama. Todos esses procedimentos de dosagem foram realizados de acordo com Embrapa (2009).

A concentração de N total nos extratos foi medida pelo método kjeldahl, destilando-se todo o amônio do extrato em meio fortemente alcalino e retendo a amônia em uma solução de ácido bórico, que depois foi titulada com ácido sulfúrico (Tedesco et al., 1995; Silva, 2009).

3.3 Índices de exatidão e de precisão dos métodos analíticos comparados para avaliar os teores de nutrientes em tecido vegetal.

A eficiência de cada método analítico comparado foi com base em critérios de exatidão e de precisão. A exatidão de cada método foi avaliada a partir dos resultados das concentrações dos nutrientes obtidos em cada método, observando se os valores situavam-se dentro do intervalo de confiança dos valores reais das concentrações de nutrientes das amostras padrão.

A estimativa da exatidão de cada método foi calculada utilizando-se a seguinte expressão:

$$IE = \frac{\text{Nº de acertos}}{10} \times 100$$

IE = Índice de exatidão do método analítico para determinado nutriente (%);

Nº de acertos = número de amostras cujos resultados observados ficaram dentro do intervalo de confiança para os valores reais das concentrações de nutrientes nas amostras padrão;

Os seis métodos analíticos, a partir dos resultados das concentrações de cada nutriente, foi classificado, em relação à exatidão, de acordo com o quadro abaixo:

Quadro 2 – Classificação da exatidão de métodos analíticos utilizados para a análise química de tecido vegetal

Índice de exatidão	Exatidão
$90\% \leq IE \leq 100\%$	Excelente
$70\% \leq IE < 90\%$	Boa
$60\% \leq IE < 70\%$	Regular
$IE < 60\%$	Ruim

A precisão, como está relacionada com a repetibilidade ou variabilidade do método analítico, foi estimada por meio do coeficiente de variação, determinado a partir dos resultados obtidos para as cinco repetições. Dessa forma, calculou-se um coeficiente de variação para cada método, dentro de cada nutriente.

Os seis métodos analíticos, a partir dos resultados das concentrações de cada nutriente, foi classificado, em relação à precisão, de acordo com o quadro abaixo:

Quadro 3 – Classificação do coeficiente de variação dos métodos analíticos utilizados para a análise química de tecido vegetal

Índice de precisão	Precisão
$CV \leq 10\%$	Excelente
$10\% < CV \leq 30\%$	Boa
$30\% < CV \leq 40\%$	Regular
$CV > 40\%$	Ruim

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1 mol/L

A utilização do método de extração de nutrientes com HCl 1 mol/L resultou em concentrações baixas de nitrogênio (Figura 1a), fósforo (Figura 1b), cálcio (Figura 1d) e enxofre (Figura 1f), ao contrário do observado para as concentrações de potássio (Figura 1c) e magnésio (Figura 1e) que se mantiveram dentro do intervalo de confiança. Resultados semelhantes para o cálcio também foram encontrados por Vila Nova et al. (2012), ao avaliarem a eficiência da extração de nutrientes da matéria seca de tomate utilizando a solução de HCl 1mol/L. Esses autores também verificaram que a solução de HCl 1 mol/L só extraiu parte do Ca total presente na matéria seca vegetal.

Comparando cinco métodos de análise química foliar e suas relações para análise de K, Ca, Mg e Al, Carneiro et al. (2006) verificaram que a extração com ácido clorídrico resultou em maiores valores de K e Mg, tendo ainda os resultados mostrado estreita correlação com as outras técnicas de extração comparadas (exceção feita aos valores de Ca).

Infere-se que, apesar desse método mostrar ser um dos mais promissores, pela rapidez e simplicidade, aliado ao baixo nível de risco no manuseio e contaminação ambiental, ser de simples execução rotineira e, apresentar potencial de utilização na rotina analítica para caracterizar alguns nutrientes, como o K e o Mg (Carneiro et al., 2006), apresenta uma exatidão ruim, para a maioria dos macronutrientes, com exceção de K e Mg, com 100% e 90% respectivamente (Quadro 4).

Para o nitrogênio (Figura 1a), verifica-se que o método foi totalmente ineficiente, com 0% de exatidão (Quadro 4), visto que, praticamente não houve extração de nitrogênio, pois todas as concentrações de N foram iguais ou bem próximos à zero. Provavelmente isso ocorreu devido à função estrutural que o nitrogênio ocupa na planta, assim um método sem digerir totalmente a matéria seca não seria capaz de extrair tal nutriente.

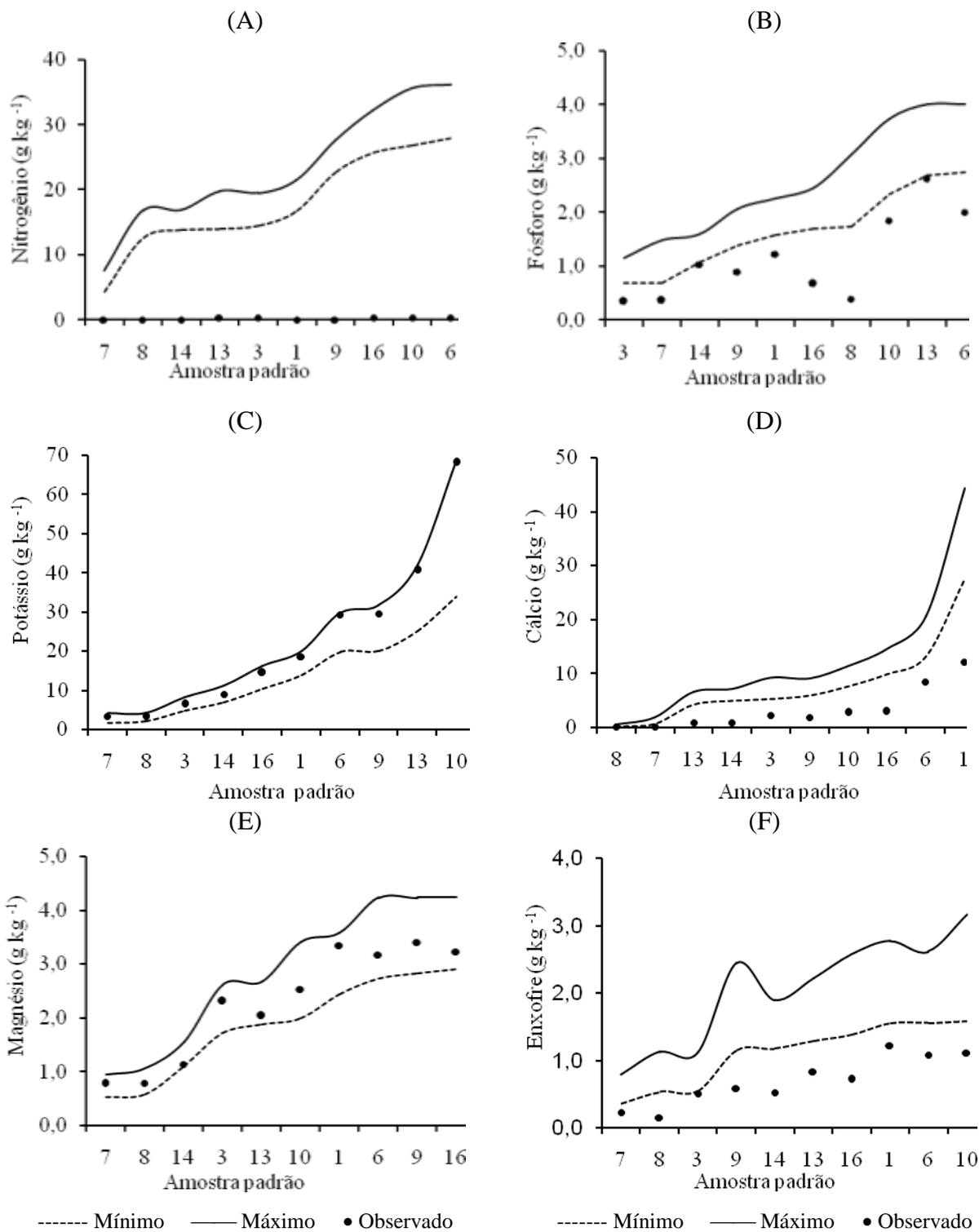


Figura 1 – Teores mínimos e máximos esperados de nitrogênio (A), fósforo (B), potássio (C), cálcio (D), magnésio (E) e enxofre (F) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1 mol /L.

Quadro 4 – Índice de exatidão dos métodos analíticos comparados para avaliar os teores de nutrientes em amostras padrão de tecido vegetal

Método	Nutrientes										
	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Mn	Zn	B
	----- % -----										
Extração com HCl	0	0	100	0	100	0	20	90	90	20	0
Extração via seca	0	90	60	50	100	40	10	40	30	50	100
Digestão nítrica com peróxido	-	40	100	60	30	40	90	70	100	80	0
Digestão sulfúrica	100	80	100	100	90	-	70	-	70	60	0
Digestão nítrica (micro-ondas)	-	80	100	100	90	70	90	80	90	90	10
Digestão nitro-perclórica	-	100	100	100	100	70	90	100	100	90	0

Para os micronutrientes, verificou-se que a utilização desse método, na extração dos nutrientes, resultou em concentrações inferiores para o ferro (Figura 2a) e superiores para o Zinco (Figura 2d) e o Boro (Figura 2e), em relação às concentrações desses nutrientes nas amostras padrão (Quadro 1). No caso dos micronutrientes cobre e manganês, os valores observados estão dentro do intervalo de confiança para as concentrações esperadas desses nutrientes nas amostras padrão (Figuras 2b e 2c).

Os resultados para os micronutrientes Fe, Cu, Mn e Zn (Figura 2), no presente trabalho, divergem daqueles observados no trabalho de Vila Nova et al. (2012), onde verificaram menores valores para os elementos Cu, Mn e Zn. Além disso, esses autores verificaram que, para o ferro, o método de extração com HCl se equivaleu ao método da digestão nitroperclórica.

O coeficiente de variação para os micronutrientes analisados apresentou níveis baixos, de bom a excelentes, para a maioria desses nutrientes (Quadro 5) com exceção do boro (CV = 49,3%). Estes valores adequados de CV vêm a demonstrar a precisão das análises realizadas, nesse método, mesmo esse apresentando elevado índice de exatidão apenas para Cu e Mn (Quadro 4).

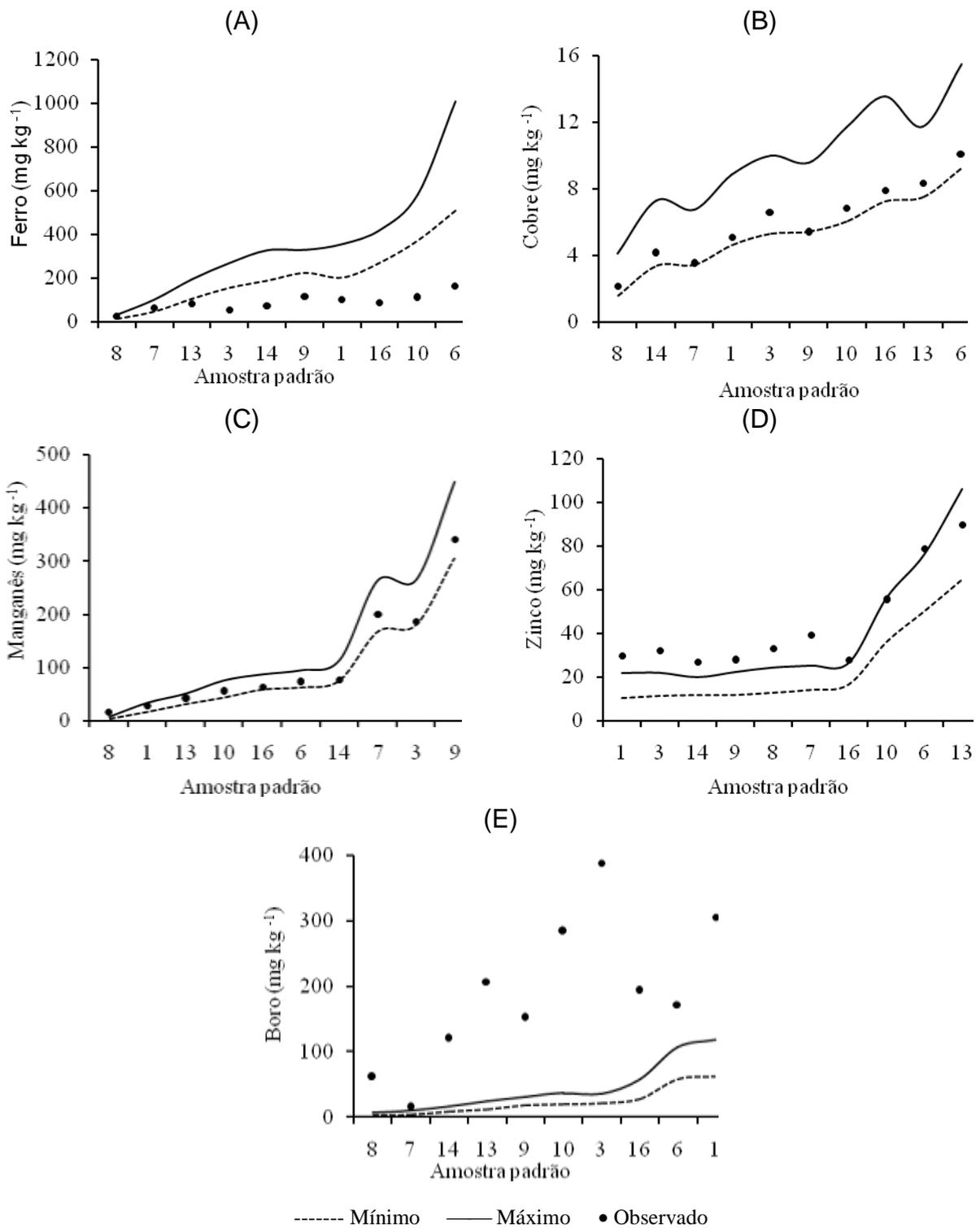


Figura 2 – Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração dos nutrientes da matéria seca com o uso de HCl 1 mol/L.

Quadro 5 – Coeficientes de variação dos métodos analíticos comparados para avaliar os teores de nutrientes em amostras padrão de tecido vegetal

Método	Nutrientes										
	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Mn	Zn	B
	----- % -----										
Extração com HCl	-	9,6	2,6	16,8	6,9	9,0	6,9	5,2	7,8	7,6	49,3
Extração via seca	12,5	6,2	3,7	10,8	6,7	3,3	10,8	12,3	7,9	7,1	23,5
Digestão nítrica com peróxido	-	11,1	2,0	7,4	5,5	3,5	6,4	13,8	3,5	5,5	12,5
Digestão sulfúrica	1,7	3,1	4,3	5,6	5,6	-	9,9	-	5,9	5,5	27,0
Digestão nítrica (micro-ondas)	-	4,5	3,4	4,2	3,2	4,7	5,0	4,5	2,0	3,2	49,5
Digestão nitroperclórica	-	5,2	5,5	4,8	5,2	5,2	7,1	2,9	4,8	5,6	107,6

A solução de HCl 1 mol/L extraiu poucos nutrientes da matéria seca vegetal (Figuras 1 e 2) provavelmente por causa da baixa concentração de ácido dessa solução e da ausência de substâncias oxidantes que poderiam contribuir para a oxidação total da matéria seca vegetal. Por este motivo, esse método não deve ser usado para avaliação do estado nutricional das plantas, até mesmo porque os níveis críticos dos nutrientes nas folhas das plantas foram definidos (Malavolta et al., 1997) com base em métodos que digerem totalmente a matéria seca vegetal.

Para melhorar a eficiência do método de extração com HCl, sugere-se o aumento da concentração de HCl e, ou, o tempo de agitação, combinado ou não com uma pré-digestão da amostra com a solução extratora durante um pernoite.

4.2 Digestão via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com HCl 1 mol/L

De modo geral, diante dos resultados obtidos, infere-se que esse método mostra-se mais eficiente na extração do fósforo e magnésio, com 90% e 100% de exatidão, respectivamente (Quadro 4), classificada como exatidão excelente (Quadro 2). E tem uma excelente precisão para a maioria dos macronutrientes, com exceção do nitrogênio (CV = 12,5%) e o cálcio (CV = 10,8%). Para esses apresenta uma boa precisão.

Para o nutriente Mg (Figura 3e) as concentrações em todas as amostras analisadas, mantiveram-se dentro do intervalo de confiança estabelecido, e ainda um coeficiente de variação considerado excelente com 6,7% (Quadro 5). Para as concentrações de P (Figura 3b), constatou-se que 90% das amostras analisadas mantiveram-se dentro do intervalo de confiança estabelecido, apresentando um CV de 6,2% (Quadro 5), classificado como excelente (Quadro 2). Por outro lado, para as concentrações de K (Figura 3c), a exatidão foi de apenas 60%, no entanto o CV foi igual a 3,7% (Quadro 5), classificado como excelente.

Resultados equivalentes, para a extração do potássio, foram encontrados em Carneiro et al. (2006), que comparando cinco métodos de extração de nutrientes, verificaram que a digestão via seca com ácido clorídrico foi aquela que se mostrou menos eficiente na extração de K, e o método foi cerca de 20% inferior àquele mais elevado.

Embora as concentrações das amostras 3, 1, 6 e 10 na análise de potássio, fiquem um pouco acima do limite superior do intervalo de confiança, esses valores não foram discrepantes ao ponto de se descartar a possibilidade de utilização desse método de extração de nutrientes para a quantificação dos teores de K em tecido vegetal, considerando que é possível extrair quantidades substanciais de K, apenas com água quente (Heinrichs & Malavolta, 2001; Reissmann et al., 1994).

O referido método proporcionou valores de Ca abaixo do intervalo de confiança para 50% das amostras analisadas (Figura 3d), provavelmente isso ocorreu devido o cálcio ser um elemento estrutural, e ácidos com concentrações diluídas não são capazes de romper as ligações estruturais que integram as paredes celulares do tecido vegetal, e portanto, extrair tal nutriente. Para as concentrações de enxofre (S) essa proporção foi de 60% (Figura 3f). Carneiro et al. (2006) constataram que a extração de Ca por via seca com adição de HCl resultaram em solubilizações baixas, em relação ao máximo obtido na digestão nitroperclórica e na extração via solubilização com adição HCl 1 mol/L.

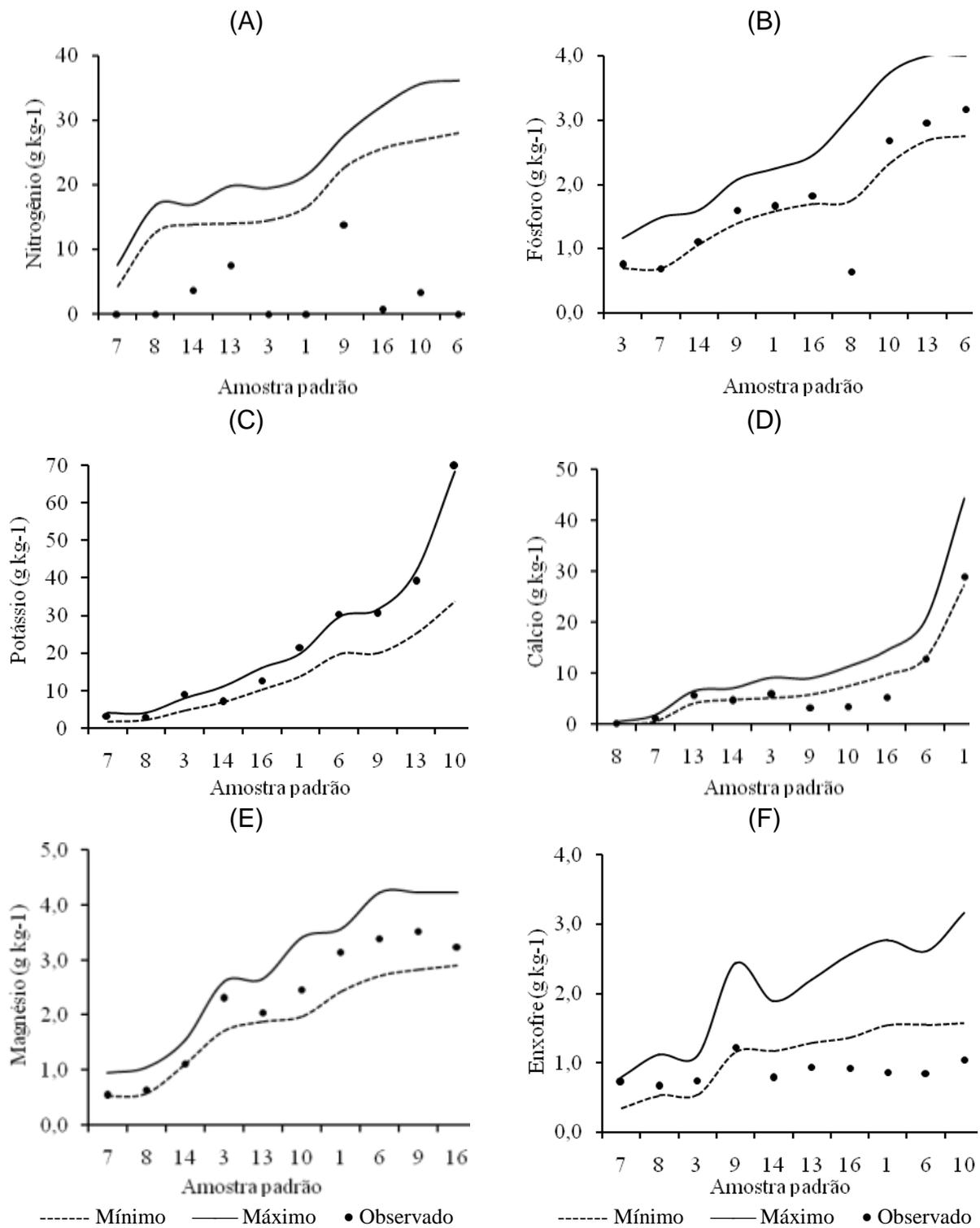


Figura 3 – Teores mínimos e máximos esperados de nitrogênio (A), fósforo (B), potássio (C), cálcio (D), magnésio (E) e enxofre (F) nas amostras padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração via seca (incineração) com adição de HCl 1 mol/L.

Para a extração dos micronutrientes, ferro (Fe), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn), o método mostrou-se ineficiente em relação às análises das amostras padrão, constatou-se que, em maior proporção, os resultados ficaram abaixo dos intervalos de confiança indicados (Figura 4), no entanto, os coeficientes de variação para esses micronutrientes analisados foram classificados de bom a excelente (Quadro 5).

De acordo com a Figura 4b, verifica-se que 60% das amostras padrão analisadas apresentaram concentrações de cobre abaixo do intervalo de confiança indicado pelo PIATV, sendo as amostras 14 e 7 àquelas que mais se distanciaram do intervalo de confiança.

Para as concentrações de ferro (Figura 4a), os resultados foram mais discrepantes, 90% das amostras analisadas manteve-se fora do intervalo de confiança, tendo, ainda, 70% das amostras distando com maiores magnitudes dos valores mínimos indicados, apresentando apenas 10% de exatidão (Quadro 4).

Com relação ao manganês, apesar de apresentar apenas 30% de exatidão (Quadro 4), as amostras analisadas que ficaram abaixo do intervalo de confiança, não se distanciaram de forma acentuada dos valores mínimos indicados (Quadro 1). Para o Zn (Figura 4d), foi verificado uma exatidão de 50% (Quadro 4).

Esses dados corroboram com Souza et al. (2012), os quais observaram inferioridade significativa da recuperação dos elementos Fe, Zn e Mn em relação à outro método (via úmida), onde esse efeito foi mais intenso para o Fe, cuja estimativa correspondeu a 27% do valor médio determinado, comparada com as estimativas para o Zn e Mn, que estiveram entre 8 e 10% dos respectivos valores médios.

Em contrapartida, as concentrações de boro (B), em todas as amostras analisadas, mantiveram-se dentro do intervalo de confiança estabelecido para as amostras padrão (Figura 4e), isto significa que, este método é eficiente na extração desse micronutriente, com 100% das amostras analisadas dentro do intervalo de confiança indicado pelo PIATV (Quadro 1), e ainda, constatou-se um CV igual a 23,5% (Quadro 5), classificado como bom. Portanto o método mostra-se tanto exato como preciso na extração desse nutriente.

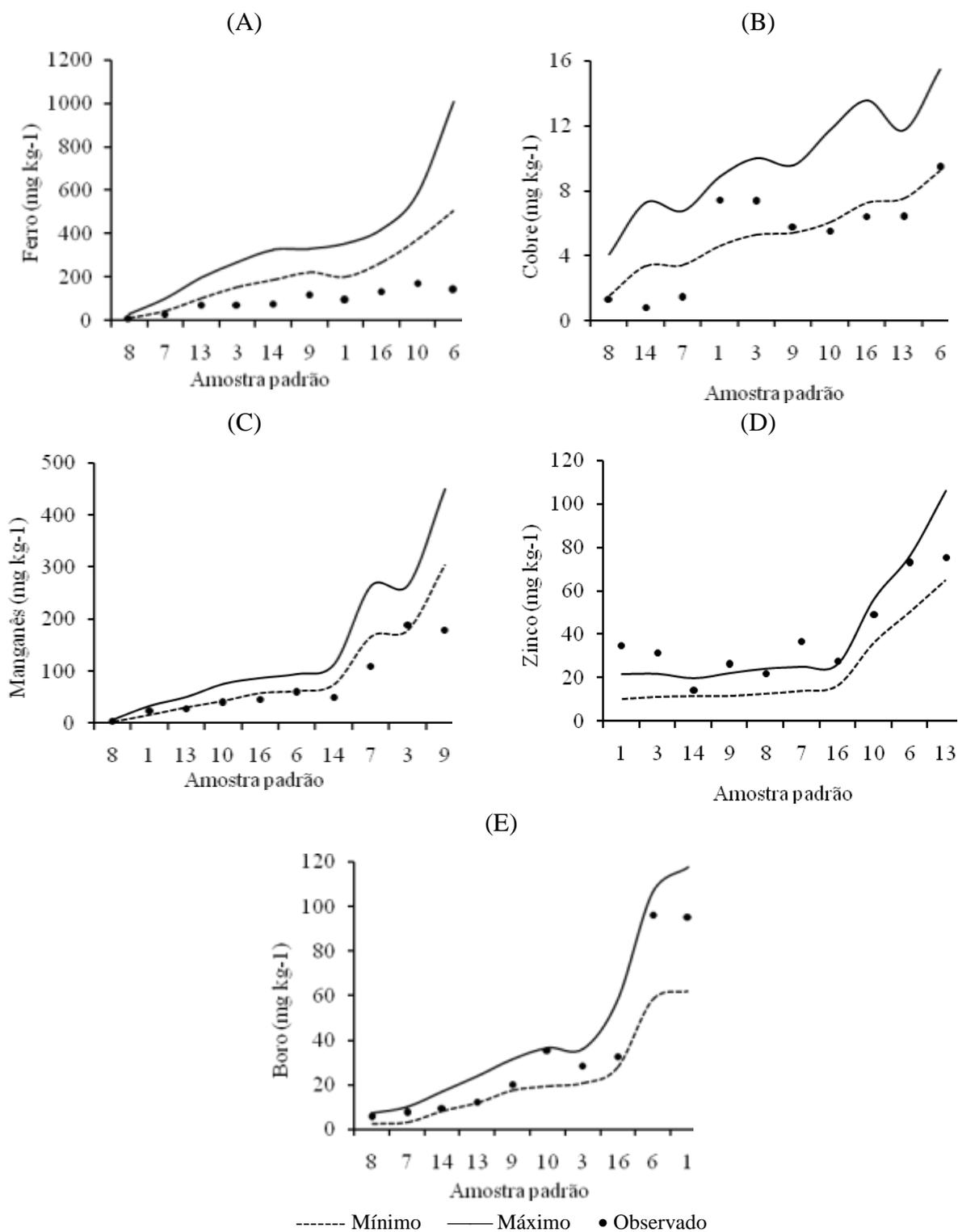


Figura 4 - Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração via seca (incineração) com adição de HCl 1 mol/L.

A extração por via seca, com uso da mufla e temperatura de 500 °C, proporcionou níveis de concentrações baixas para vários nutrientes (Figuras 3 e 4), provavelmente, devido a altas temperaturas a qual a amostra foi submetida na mufla, ocasionando talvez possíveis perdas por volatilização, e ainda, pode ter ocorrido contaminação por meio de reações entre os analitos e o material do cadinho, formando resíduos de difícil combustão e pouco solúveis.

Para melhorar a eficiência do referido método de extração sugere-se a diminuição da temperatura na digestão, combinado ou não, com o aumento da concentração da solução extratora de HCl.

4.3 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca

Verificou-se, com a utilização desse método, que a maioria das amostras, nas análises dos macronutrientes, apresentou exatidão classificada como ruim (Quadro 2), com 40% na análise de fósforo, 30% na análise de magnésio e 40% na análise de enxofre (Quadro 4).

Com relação ao cálcio, observa-se que 60% das amostras analisadas mantiveram-se dentro do intervalo de confiança, mesmo com a exatidão de 60%, constatou-se um coeficiente de variação classificado como excelente ($\text{CV} = 7,4\%$).

Para a extração de potássio (K), o método foi tanto exato, quanto preciso, com 100% das amostras analisadas dentro do intervalo de confiança, e ainda, um coeficiente de variação igual a 2,0%, classificado como excelente (Quadro 3).

Observou-se no método, coeficientes de variação no intervalo de bom a excelente (Quadro 3), na análise de todos os macronutrientes (Quadro 5). Estes valores adequados de CV vêm a demonstrar a precisão das análises realizadas nesse método, mesmo esse não sendo exato para os nutrientes P, Ca, Mg e S (Quadro 4).

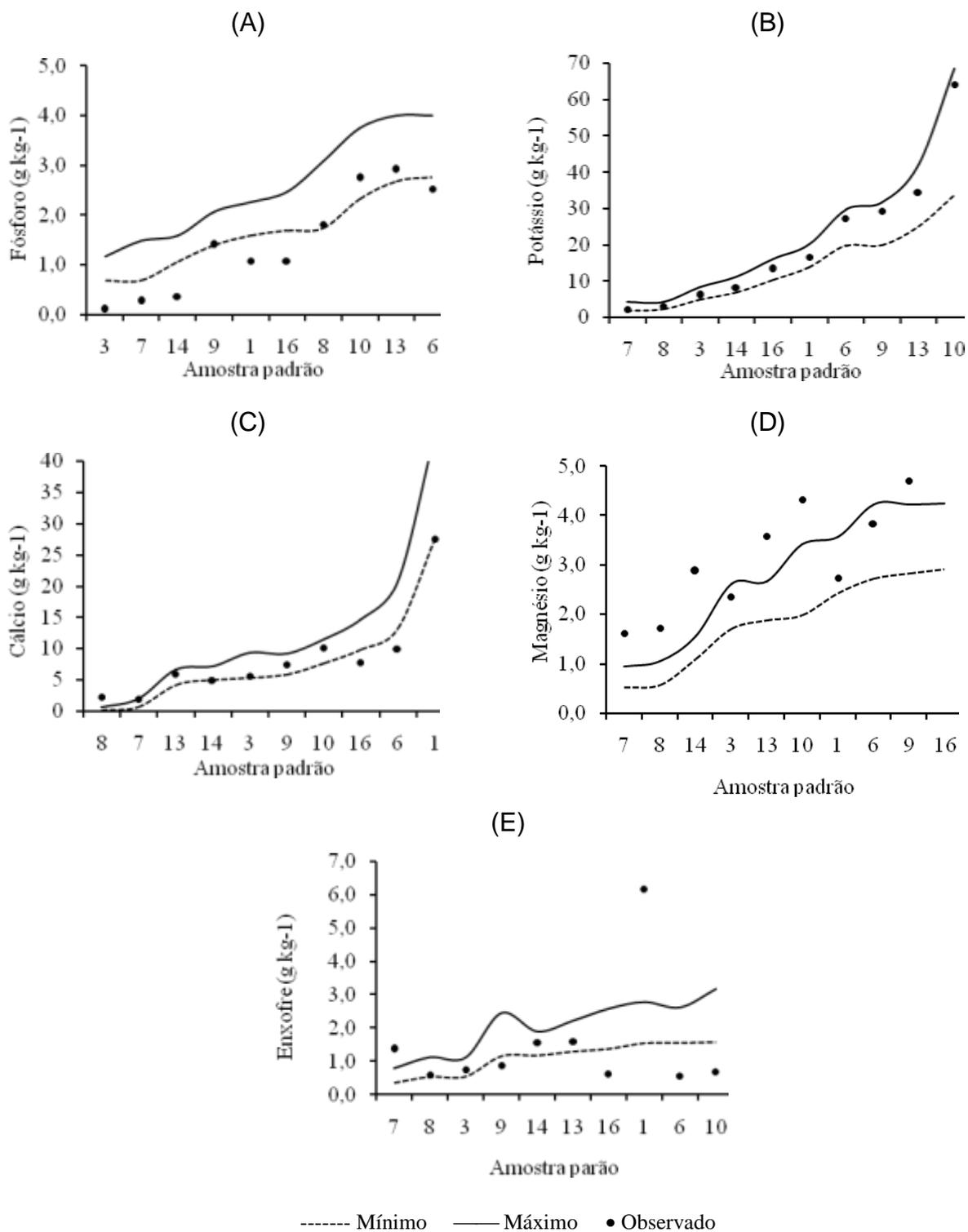


Figura 5 – Teores mínimos e máximos esperados de fósforo (A), potássio (B), cálcio (C), magnésio (D) e enxofre (E) nas amostras padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração via úmida em sistema aberto com a mistura de HNO₃ + H₂O₂ para digerir a matéria seca.

Ainda na análise do método de digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca, em relação aos micronutrientes, observou-se que esse apresenta um índice de exatidão variando de bom a excelente (Quadro 4), com exceção do boro, e coeficientes de variação classificados também de bom a excelente (Quadro 5) para esses nutrientes, inclusive o boro.

Observou-se no método, 70% de exatidão nas análises das amostras padrão, na extração de ferro, 90% na extração de cobre, 100% na extração de manganês e 80% na extração de zinco.

Resultados equivalentes para o cobre e ferro também foram encontrados em Morgano et al. (2002), na determinação de minerais em café cru, onde o referido método de digestão por via úmida apresentou melhor recuperação apenas na determinação desses elementos comparado com outra técnica de extração.

Em contrapartida, as concentrações de boro (B), em todas as amostras, mantiveram-se fora do intervalo de confiança estabelecido para as amostras padrão (Figura 6e), e com valores discrepantes comparados aos resultados do intervalo de confiança indicado pelo PIATV (Quadro 1). Constatou-se 0% de exatidão no método nas análises das amostras padrão na extração de boro (Quadro 4). Os resultados elevados (Figura 6e) talvez sejam devido à contaminação do extrato com boro proveniente da vidraria utilizada, a qual é constituída de borossilicato.

Este método proporcionou baixa extração para alguns nutrientes analisados (Figuras 5 e 6), provavelmente, devido esses elementos apresentarem função estrutural na planta, e as baixas temperaturas utilizadas não serem suficientes para oxidar a matéria orgânica, ocasionando a incompleta digestão do tecido, e, portanto, os elementos não ficam solúveis e disponíveis no extrato.

Para melhorar a eficiência do referido método de digestão, sugere-se o aumento da temperatura do bloco, bem como um maior tempo de digestão, combinado ou não com uma pré-digestão da amostra com a solução extratora durante um pernoite.

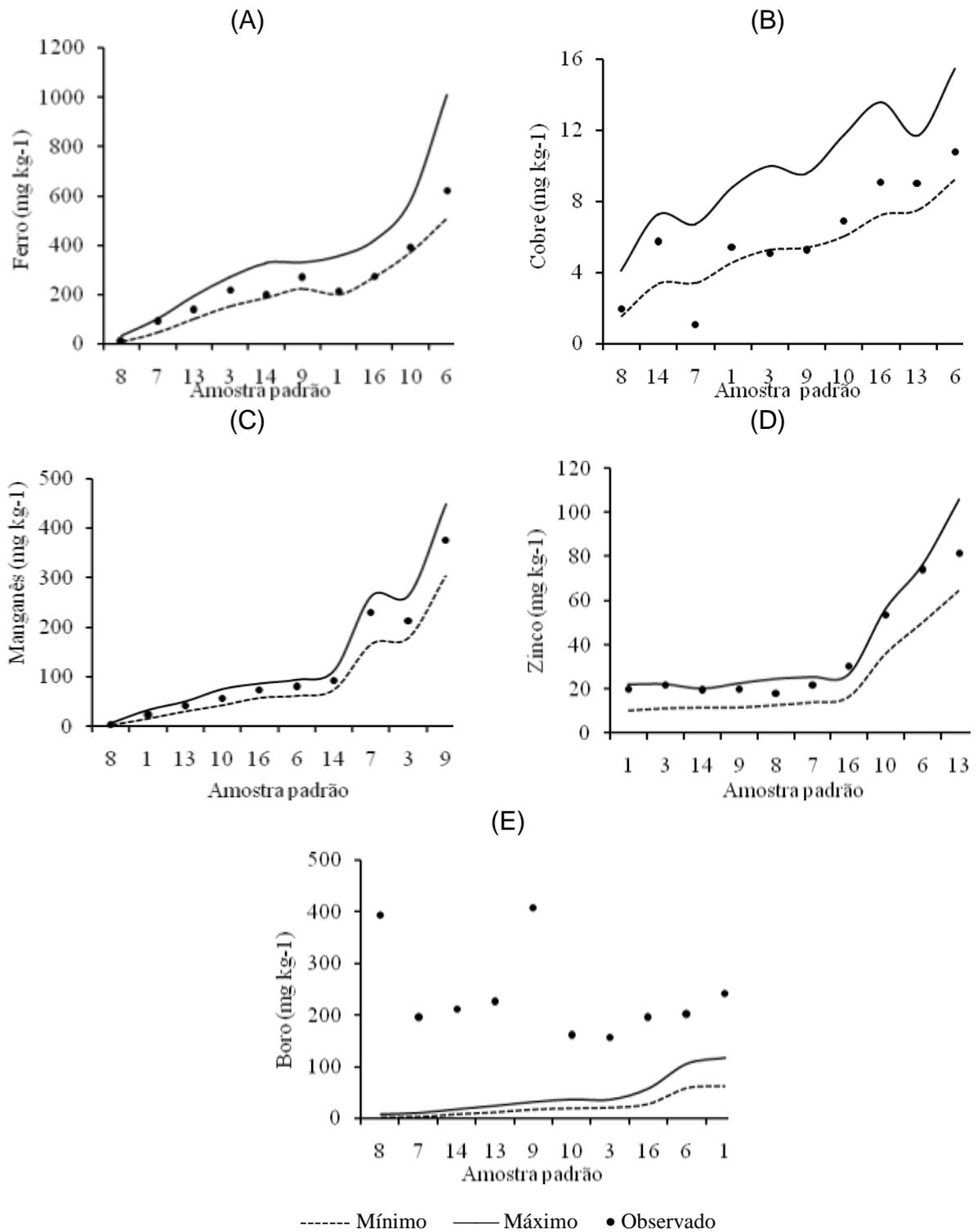


Figura 6 – Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da extração via úmida em sistema aberto com a mistura de HNO₃ + H₂O₂ para digerir a matéria seca.

4.4 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $H_2SO_4 + H_2O_2$ para digerir a matéria seca

Na análise do método, foi verificado com a análise das amostras padrão, que se mantiveram dentro do intervalo de confiança para a extração de N, K e Ca com 100% das amostras analisadas (Figura 7), refletindo uma exatidão excelente (Quadro 4). Os resultados para a análise das amostras padrão na extração de Mg, mantiveram-se dentro do intervalo de confiança em 90% das amostras (Figura 7e) e na análise de P, 80% (Figura 7b).

Conforme os resultados encontrados para a digestão sulfúrica com adição de H_2O_2 , verificou-se valores baixos de coeficientes de variação (Quadro 5) para todos os macronutrientes analisados no método, refletindo uma precisão excelente (Quadro 3). Isso implica, segundo Tedesco et al. (1995), que a referida metodologia permite a determinação de até 5 macro-elementos em uma única digestão.

É relevante destacar a análise de nitrogênio (N) com esse método, onde foi verificado uma exatidão de 100% (Quadro 4) e um CV de 1,7% (Quadro 5), o menor observado em todas as análises realizadas.

A digestão sulfúrica foi um método aplicado com sucesso, mostrando-se eficiente e satisfatório na determinação de N, P, K, Ca e Mg, sendo exato e preciso.

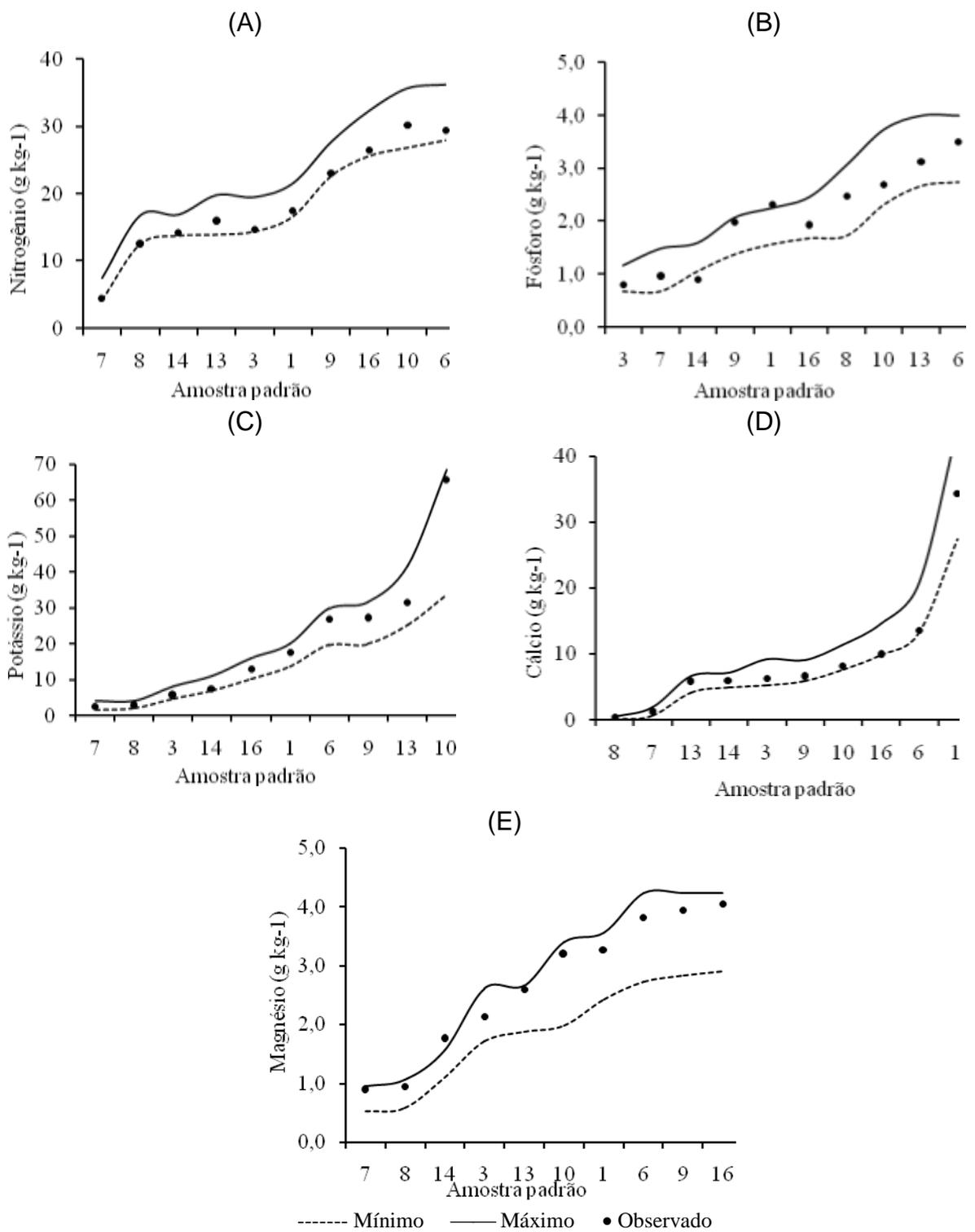


Figura 7 – Teores mínimos e máximos esperados de nitrogênio (A), fósforo (B), potássio (C), cálcio (D) e magnésio (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema aberto com a mistura de H₂SO₄ + H₂O₂ para digerir a matéria seca.

De acordo com a Figura 8, verifica-se que 70% das amostras padrão na análise de ferro, 70% das amostras na análise de manganês e 60% das amostras na análise de zinco, apresentaram concentrações dentro do intervalo de confiança indicado pelo PIATV, e os coeficientes de variação, para esses micronutrientes analisados, demonstraram níveis adequados, sendo classificados como excelentes (Quadro 5), evidenciando a precisão das análises realizadas nesse método.

Por outro lado, para as concentrações de boro (Figura 8d), os resultados observados foram discrepantes, com 100% das amostras analisadas fora do intervalo de confiança, isso implica que o método de digestão sulfúrica não é indicado para analisar esse micronutriente, no entanto foi verificado um coeficiente de variação igual a 27%, classificado como bom (Quadro 3). Esses resultados elevados na extração do boro, talvez sejam devido à contaminação do extrato com boro proveniente da vidraria, a qual é constituída de borossilicato.

O método proporcionou resultados significativos, nas análises das amostras padrão, nas extrações dos nutrientes N, P, K, Ca, Mg, Fe e Mn (Figuras 7 e 8), principalmente para o nitrogênio (Figura 7a), em comparação aos métodos citados anteriormente.

Os resultados significativos, provavelmente são devidos o uso do ácido sulfúrico concentrado e do peróxido de hidrogênio como agente oxidante, essa mistura combinada com o calor e com catalisadores que aceleram o processo de digestão, provocam a destruição da matéria orgânica deixando os elementos disponíveis em solução. Quase todos os compostos orgânicos são parcialmente oxidados ou completamente destruídos pelo ácido concentrado a quente (Bock, 1979).

Para melhorar a eficiência do método de digestão sulfúrica, sugere-se a busca de catalisadores que promovam menos contaminação no analito combinado ou não com uma pré-digestão da amostra com a solução extratora durante um pernoite.

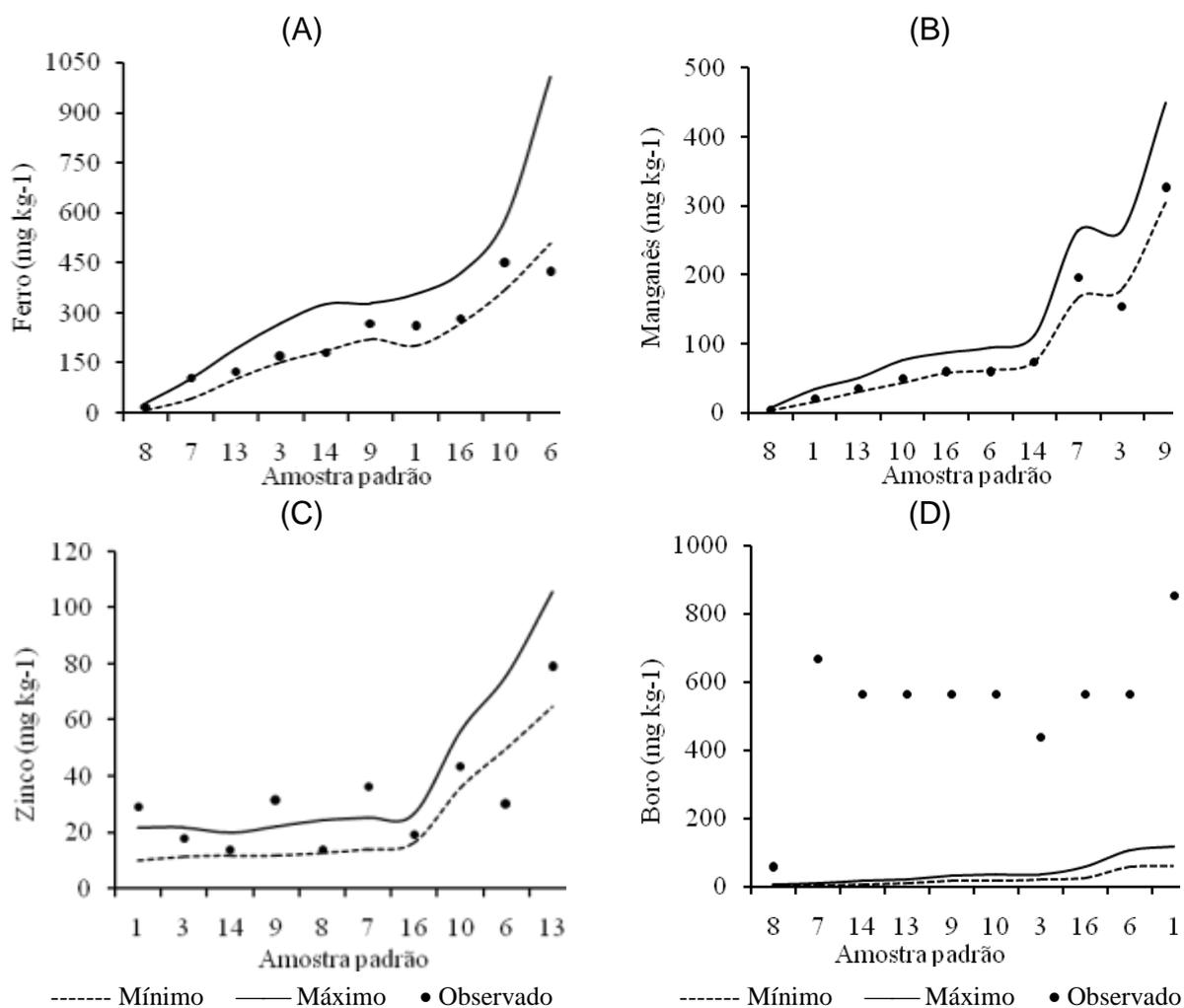


Figura 8 – Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), manganês (B), zinco (C) e boro (D) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema aberto com a mistura de $H_2SO_4 + H_2O_2$ para digerir a matéria seca.

4.5 Digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ para digerir a matéria seca

Comparando os resultados das concentrações dos nutrientes das amostras padrão, obtidas pela extração com o método digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ para digerir a matéria seca, com os intervalos de confiança estabelecidos para essas amostras, verifica-se que para as extrações dos nutrientes K (Figura 9b) e Ca (Figura 9c) em todas as amostras analisadas, as concentrações mantiveram-se dentro do intervalo de confiança estabelecido pelo PIATV, com 100% de exatidão. Para os nutrientes S (Figura 9e), P (Figura 9a) e Mg (Figura 9d), constatou-se a exatidão de 70, 80 e 90%, respectivamente.

De acordo com os resultados obtidos para as amostras padrão em relação aos intervalos de confiança estabelecidos pelo PIATV e, em detrimento dos coeficientes de variação encontrados para as amostras analisadas 4,5% para o P, 3,4% para o K, 4,2% para o Ca, 3,2% para o Mg e 4,7% para o S (Quadro 5), pode-se inferir que esse método de digestão é altamente preciso na extração desses macronutrientes, visto que para todos os nutrientes os CVs foram inferiores a 10%, classificados como excelentes (Quadro 3).

A eficiência deste método de extração de nutrientes em relação a outros mais convencionais, como o método calcinação, o método de digestão sulfúrica e o nitroperclórico, foi, também, evidenciada por Silva et al. (2008), com os resultados analíticos da determinação de macro e micronutrientes em folhas de tecido vegetal, a partir dos métodos de extração de nutrientes, digestão seca, digestão úmida em sistema aberto e digestão úmida em sistema fechado em forno de micro-ondas, concluíram que os extratos provenientes da digestão úmida em sistema fechado em forno de micro-ondas foram aqueles que apresentaram maior eficiência de extração e menor variação em relação aos demais métodos avaliados.

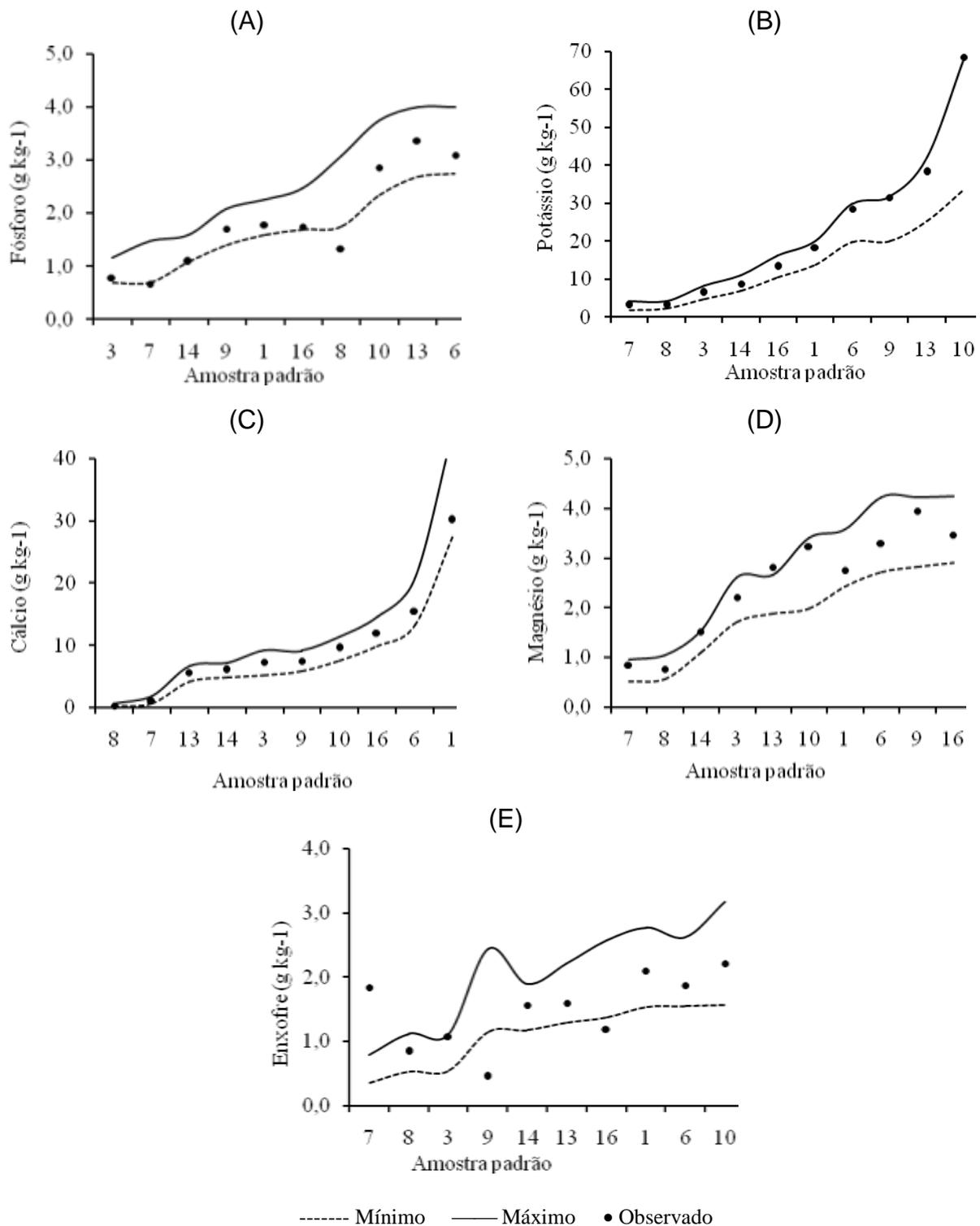


Figura 9 – Teores mínimos e máximos esperados de fósforo (A), potássio (B), cálcio (C), magnésio (D) e boro (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ para digerir a matéria seca.

Com relação aos teores de micronutrientes (Figura 10), verificou-se que o método testado foi altamente preciso, tendo obtido coeficiente de variação abaixo de 10% (Quadro 5) para todos os micronutrientes analisados, exceção feita ao boro que apresentou um CV de 49,5%, classificado como ruim (Quadro 3).

Infere-se desta forma que o método testado não é preciso e nem exato na determinação do nutriente boro, visto ter apresentado 90% das amostras padrão fora do intervalo de confiança indicados pelo PIATV (Figura 10e).

Em contrapartida, verificou-se no referido método, que os CVs foram classificados como excelentes na extração de Fe, Cu, Mn e Zn (Quadro 5), além de preciso foi também exato para 80% dos micronutrientes analisados, tendo constado uma exatidão de 80% para o nutriente Cu (Figura 10b) e de 90% para os nutrientes Fe (Figura 10c), Mn (figura 10d) e Zn (Figura 10e).

Silva et al. (2008) verificaram que os extratos provenientes da digestão úmida em sistema fechado em forno de micro-ondas foram aqueles que apresentaram maior eficiência de extração e menor variação em relação aos demais métodos avaliados para os micronutrientes.

A digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO_3 para digerir a matéria seca, proporcionaram resultados significativos na extração de praticamente todos os nutrientes analisados (Figura 9 e 10), com exceção do boro (Figura 10e). Esses valores significativos, provavelmente são devidos o uso do ácido nítrico concentrado, combinado com o sistema fechado e pressões maiores e constantes, que reduz o tempo de digestão, implicando na ausência de possíveis perdas de analitos por volatilização.

Para melhorar a eficiência do referido método de digestão sugere-se a adição de um agente oxidante combinado ou não com uma pré-digestão da amostra com a solução extratora durante um pernoite.

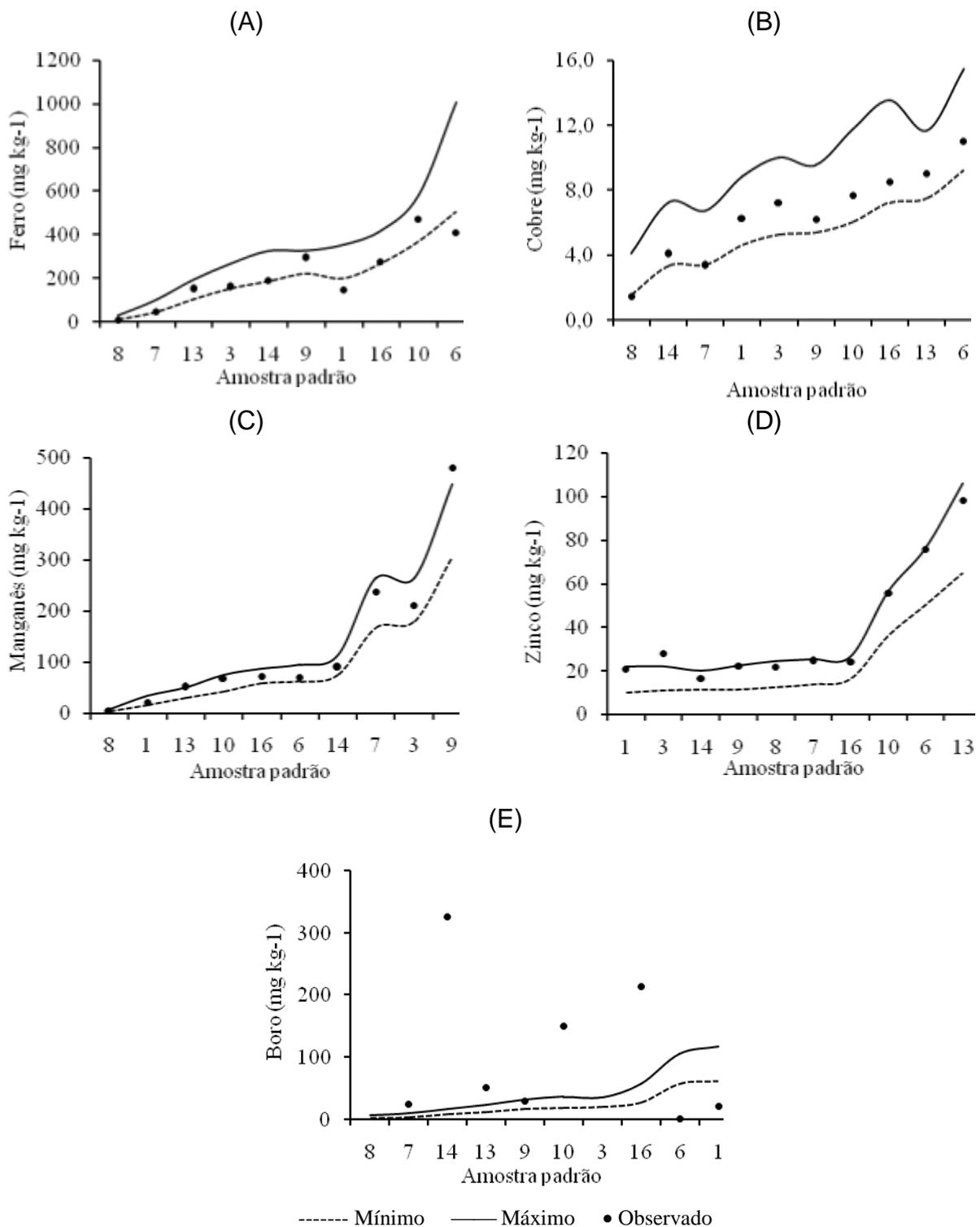


Figura 10 – Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ para digerir a matéria seca.

4.6 Digestão via úmida em sistema aberto usando bloco digestor como fonte de calor e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) para digerir a matéria seca

Este método de digestão proporcionou excelentes resultados para todos os macronutrientes analisados (Figura 11), onde foi observado que 100% das amostras padrão na análise de P, K, Ca e Mg ficaram dentro do intervalo de confiança indicados pelo PIATV e para S, 70% das amostras analisadas apresentaram concentrações dentro do intervalo de confiança, caracterizando a exatidão do método na análise desses nutrientes. E ainda os coeficientes de variação demonstraram níveis excelentes, com todos os valores abaixo de 10% (Quadro 5), evidenciando também a precisão das análises realizadas com esse método.

Esses dados corroboram com Vaccaro et al (2004), quando comparando três métodos de análise química de tecido vegetal, observaram que a extração de Ca e Mg, com o uso da digestão nitroperclórica, foi muito superior à outras técnicas estudadas.

Vila Nova et al. (2012), empregando o método de digestão via úmida nitroperclórica, digestão por via seca em cadinho de porcelana e digestão por via úmida em HCl 1mol/ para determinação de vários nutrientes em amostras secas de tomates orgânicos, observaram que para o elemento Ca e Mg, os maiores valores foram obtidos após digestão nitroperclórica.

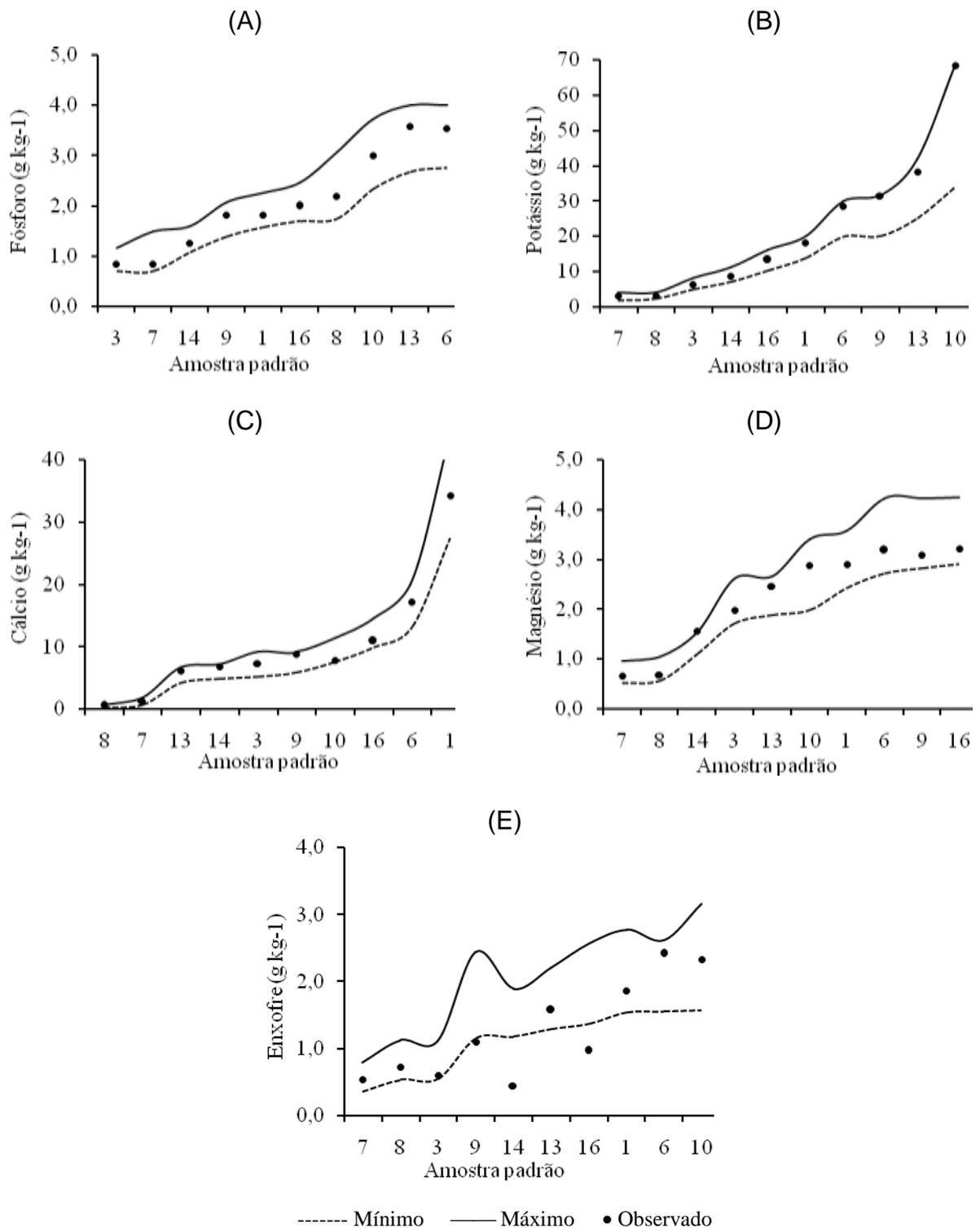


Figura 11 - Teores mínimos e máximos esperados de fósforo (A), potássio (B), cálcio (C), magnésio (D) e enxofre (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema aberto com a mistura de HNO₃ + HClO₄ (3:1) para digerir a matéria seca.

No resultado das análises dos micronutrientes (Figura 12) foi observado que 90% das amostras padrão na análise de Fe e Zn, 100% das amostras na análise de Cu e Mn, apresentaram concentrações dentro do intervalo de confiança indicado pelo PIATV, comprovando a exatidão do método na análise desses nutrientes, e os coeficientes de variação (Quadro 5) demonstraram níveis excelentes, evidenciando também a precisão das análises realizadas com esse método.

Resultados semelhantes foram encontrados por Souza et al (2012), observaram a superioridade significativa da recuperação na digestão por via úmida com a mistura de ácido nítrico e perclórico, para os elementos Fe, Zn e Mn.

Para as concentrações de boro (Figura 12e), os resultados foram contrários aos observados nas análises de Fe, Cu, Mn e Zn (Figura 12), pelo fato de 100% das amostras analisadas terem ficado fora do intervalo de confiança, apresentando ainda um coeficiente de variância bastante alto (107,6%), o maior entre os métodos testados. Assim o método de digestão nitroperclórica não é indicado para a análise desse micronutriente, apresentando 0% de exatidão, e precisão classificada como ruim (Quadro 3). Isso talvez seja devido à contaminação do extrato com boro proveniente da vidraria utilizada, a qual é constituída de borossilicato.

Este método de digestão resultou em valores ótimos para praticamente todos os nutrientes avaliados (Figura 11 e 12), exceção do boro (Figura 12e). Esses resultados significativos ocorreram provavelmente devido à combinação de dois ácidos concentrados com alto poder de destruição da matéria orgânica, oxidando vários elementos e deixando-os disponíveis em solução.

Constatou-se, a partir dos índices de exatidão (Quadro 4), e através dos coeficientes de variação (Quadro 5), a eficiência da oxidação nitroperclórica em digestões, no entanto, sua utilização, de acordo com Jones et al. (1990), só não é maior devido às restrições na manipulação dos ácidos, principalmente do ácido perclórico, pois o mesmo possui elevado poder oxidante quando empregado na forma concentrada e a quente, podendo ocorrer explosões.

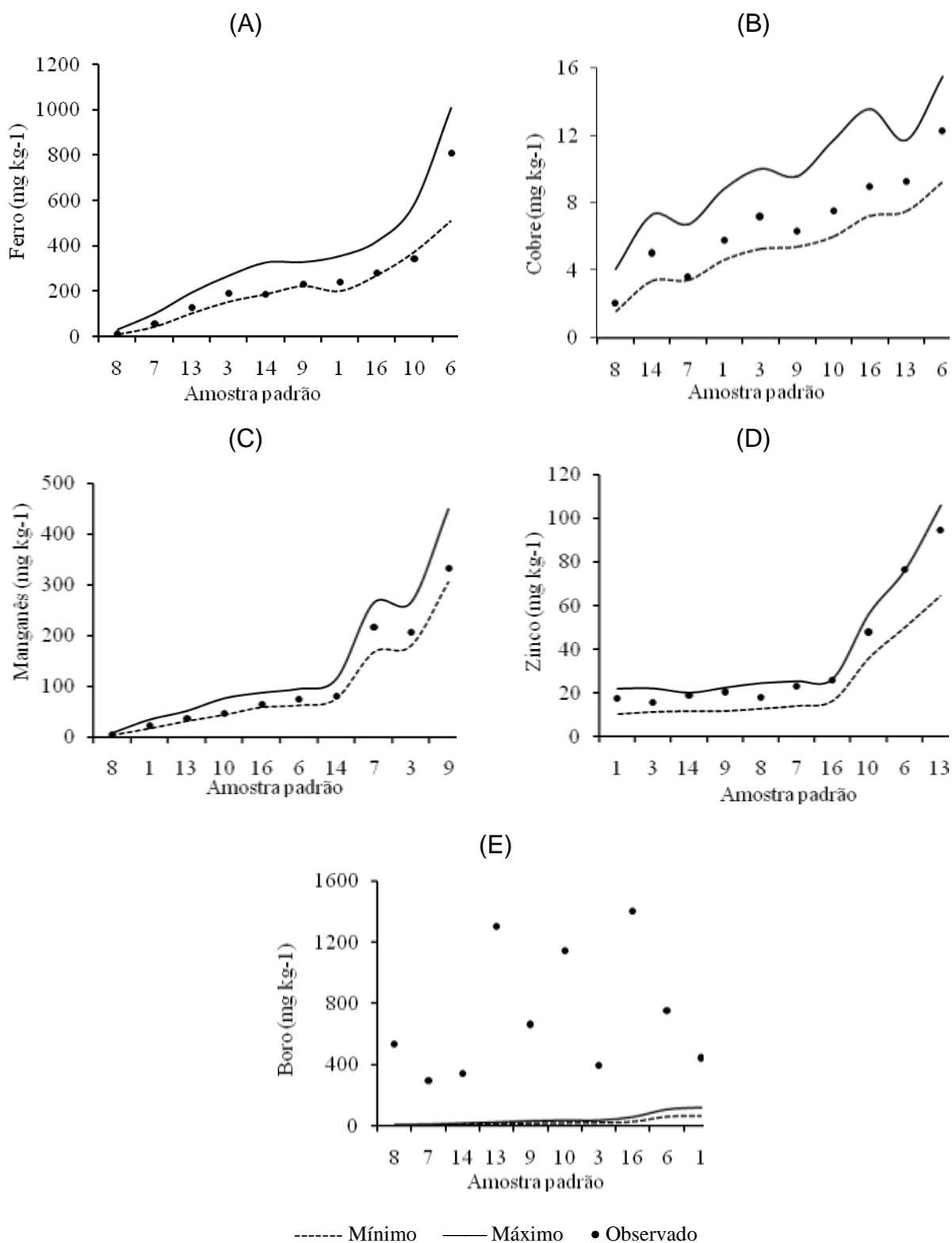


Figura 12 - Teores mínimos e máximos esperados de ferro (A), cobre (B), manganês (C), zinco (D) e boro (E) nas amostras-padrão, e valores observados para os teores desses nutrientes nessas mesmas amostras pelo método da digestão via úmida em sistema aberto com a mistura de HNO₃ + HClO₄ (3:1) para digerir a matéria seca.

5. CONCLUSÕES

5.1. De modo geral, todos os métodos apresentaram precisão boa a excelente, porém, nem todos apresentaram uma exatidão aceitável para a determinação dos nutrientes nas amostras padrão de tecido vegetal fornecida pelo PIATV;

5.2. Para a extração de potássio, nas amostras padrão de tecido vegetal fornecida pelo PIATV, todos os métodos avaliados apresentaram excelente exatidão;

5.3. A calcinação, método de digestão via seca com o uso do HCl na concentração de 1 mol/L para a solubilização da matéria seca, foi o método exato, dentre os testados, para a extração de boro;

5.4. A digestão sulfúrica, método de digestão via úmida com uso do $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$, foi o método exato, dentre os testados, para a extração de nitrogênio total;

5.5. Para a extração de enxofre, os métodos que apresentaram maior exatidão foram a digestão em sistema fechado usando o micro-ondas como fonte de calor e o uso ácido nítrico para digerir a matéria seca e o método de digestão nitroperclórica;

5.6. À exceção dos nutrientes nitrogênio e boro, o método mais exato para extração dos macro e micronutrientes avaliados foi o nitroperclórico, seguido, pelo método de digestão usando o forno micro-ondas e HNO_3 e pelo método de digestão sulfúrica usando H_2SO_4 e H_2O_2 ;

5.7. Para a extração de N, P, K, Ca e Mg, pode ser utilizado o método da digestão sulfúrica;

5.8. Para a extração de Fe, Cu, Mn e Zn, pode ser utilizado o método da digestão úmida em forno micro-ondas com o uso do ácido nítrico;

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, M. F. Extração e determinação simultânea por emissão em plasma de nutrientes e elementos tóxicos em amostras de interesse agrônomo. Campina Grande: UFCG, 1997. 135p. Tese Doutorado
- Alt, D. Advantages and disadvantages of CAT- method for chemical analysis of horticultural substrates as compared to several other extraction solutions. *Acta Horticulturae*, p. 548, 2001.
- Almeida, M. V. Química analítica quantitativa: abertura de amostras. Itaúna: Universidade de Itaúna, 2007.
- Disponível em: <http://artigocientifico.tebas.kinghost.net/uploads/artc_1196531867_30.pdf>. Acesso em: 28 de julho de 2013.
- Arnon, D. I.; Stout, P. R. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology*. v. 14, n. 2, 1939. P. 371-375.
- Azcue, J., Murdoch, A. Comparison of different washing, ashing, and digestion methods for the analysis of trace metals in vegetation. *International Journal Environmental Analytical Chemistry*, v. 57, n. 2, 1994.
- Barker, A. V.; Pilbeam, D. J. Handbook of plant nutrition. New York: Taylor & Francis, 2007. p.662.
- Bataglia, O. C.; Dechen, A. R. Diagnose visual e análises de plantas. In: Dechen, A. R.; Boaretto, A. E.; Verdade, F. C. (Ed.). Adubação, produtividade e Ecologia. Campinas: Fundação Cargill, 1992. p. 369-393.
- Bataglia, O. C.; Dechen, A. R.; Santos, W. R. Princípios da diagnose foliar. In: Alvares, V. H.; Fontes, L. E. F.; Fontes, M. P. F. (Ed.). O solo nos grandes domínios morfológicos do Brasil e o desenvolvimento sustentado. Viçosa: SBCS, UFV, 1996. p. 647-660.
- Bataglia, O. C.; Furlani, A. M. C.; Teixeira, J. P. F.; Furlani, P. R.; Gallo, J. R. Método de análise química de plantas. Campinas: Instituto Agrônomo, (Boletim Técnico, 78), 1983.
- Baumgarten, A. Methods of chemical and physical evaluation of substrates for plants. In: encontro nacional sobre substrato para plantas, 3, 2002, Campinas. Anais... São Paulo: Documentos IAC, 70. p. 7-15, 2002.
- Bennet, W. F. Plant nutrient utilization and diagnostic plant symptoms. In: Bennet, W. F. (Ed.). Nutrient deficiencies and toxicities in plants. St Paul, Minn.: APS Press, 1993. p. 1-7.
- Bermejo-Barrera, P.; Muniz-Naveiro, O.; Moreda-Pineiro, A.; Bermejo-Barrera, A. The multivariate optimization of ultrasonic bath-induced acid leaching for the determination of trace elements in seafood products by atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 2001.
- Boaventura, G. R.; Ribeiro, R. L. V. Decomposição de silicatos usando forno de micro-ondas. *Revista Geochimica Brasiliensis*, v. 10, p. 217-224, 1996.

- Bock, R. A handbook of decomposition methods in analytical chemistry. London: Blackie, 1979. p.444.
- Buldini, P. L.; Ricci, L.; Sharma, J. L. Recent applications of sample preparation in edible vegetable oils and fast by ion chromatography. *Journal of chromatography A*, 789, 549-555, 2002.
- Cantarutti, R. B.; Barros, N. F.; Martinez, H. E. P.; Novais, R. F. Avaliação da fertilidade do solo e recomendação de fertilizantes. In: Novais, R. F.; Alvarez, V. H.; Barros, N. F.; Fontes, R. L. F.; Cantarutti, R. B.; Neves, J. C. L. Fertilidade do solo: Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 769-850.
- Capelo, J. L.; Maduro, C.; Vilhena, C. Discussion of parameters associated with the ultrasonic solid-liquid extraction for elemental analysis (total content) by electrothermal atomic absorption spectrometry - an overview, *Ultrason. Sonochem.* p. 225-232, 2005.
- Carneiro, C.; Reissmann, C. B.; Marques, R. Comparação de métodos de análise química de K, Ca, Mg e Al em folha de erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.). *Revista Cerne*, v. 12, n. 2, p. 113-122, 2006.
- Cazetta, J. O.; Fonseca, I. M.; Prado, R. M. Perspectivas de uso de métodos diagnósticos alternativos: testes bioquímicos. In: Prado, R. M.; Cecílio Filho, A. B.; Correia, M. A. R.; Puga, A. P. (Eds.). *Nutrição de plantas: diagnose foliar em hortaliças*. Jaboticabal: FUNEP, 2010. p. 109-134.
- Christian, G. D. *Analytical chemistry*. 5 ed. Washington: John Wiley and Sons, 1994. 812p.
- Clément, A. Determination of trace elements in foliar tissues of forest trees for nutrition diagnostics. *Sci. Total Environ.*, 1995.
- Epstein, E.; Bloom, A. J. *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. 2. ed. Londrina: Editora Paulista, 2006. 400p.
- Ferrarini, S. F. Desenvolvimento de metodologia alternativa para a determinação de elementos em nível de traços em amostras de carvão pela técnica de ICP-OES. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.52p. Dissertação
- Fontes, P. C. R. *Diagnóstico do estado nutricional das plantas*. Viçosa: UFV, 2001. p.122.
- Fregoni, M. *Nutrizione e fertilizzazione della vite*. Bologna: Edagricole, 1980. p.418.
- Heinrichs, R.; Malavolta, E. Composição mineral do produto da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 781-785, 2001.
- Hoenig, M. Critical discussion of trace elements analysis of plant matrices. *Sci. Total Environ.*, p. 85-91,1995.
- Hurt, R. H.; Gibbins, J. R. Residual carbon from pulverized coal fired boilers. I: Size distribution and combustion reactivity. *Fuel*, n. 74: p. 469- 471, 1995.

- Jassie, L. B.; Kingston, H. M. Introduction to microwave acid decomposition. In: Kingston, H. M.; Jassie, L. B. (eds). Introduction to microwave sample preparation. ACS Professional reference Book, American Chemical Society, Washington (EUA), 1988.
- Jones JR., J. B.; Case, V. W. Sampling, handling and analyzing plant tissue samples. In: Westerman, R. L. (ed.). Soil Testing and Plant Analysis. 3. ed. Soil Science Society of America, Inc., Madison (EUA). 1990.p. 389-425.
- Jones, C. A. Proposed modifications of the diagnose and recomendation integrated system (DRIS) of interpreting plant analyses. Soil Science Plant Analyses, v. 22, p. 785-794, 1981.
- Jones, J. B.; Wolf, B.; Mills, H. A. Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide. Athens: Micro-macro Publ, p. 213 p, 1991.
- Kingston, H. M., Jassie, L. B. Introduction to microwave sample preparation: theory and practice. ACS Professional Reference Book. Washington, 1988. p.263.
- Kingston, H. M.; Jassie, L. B. Microwave energy for acid decomposition at elevated temperatures and pressures using biological and botanical samples. Analytical Chemistry, Washington, v. 58, n. 12, p. 2534-2541, 1986.
- Knapp, G. Decomposition of organic materials fundamentals. In: II workshop sobre métodos de decomposição de amostras, CENA-USP, Anais... Piracicaba – São Paulo, 1998.
- Korn, M.; Andrade, M. V.A.; Borges, S. S. Procedimentos analíticos assistidos por ultra-som. Revista analytica, v. 3, n. 34, 2003.
- Krishnamurti, G. S. R.; Huang, P. M.; Rees, K. C. J.; Kozak, L. M.; Rostad, H.P.W. Microwave digestion technique for the determination of total cadmium in soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis, New York, v. 25, n.5/6, p.615-625, 1994.
- Krug, F. J. Métodos de decomposição de amostras. In: III workshop sobre preparo de amostras, São Carlos, Anais... São Carlos - São Paulo, 2000.
- Krug, F. J. Métodos de decomposição de amostras. In: VI workshop sobre preparo de amostras. Universidade Federal de Santa, Anais... Santa Maria – RS, 2006.
- Krug, F. J. Métodos Ópticos e Preparo de Amostras. Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP. São Paulo, 1999.
- Krug, F. J. Pré-tratamento de amostras. In: I workshop on methods of sample decomposition. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Anais... Piracicaba - São Paulo, p. 106, 1996.
- Luque-García, J. L.; Castro, M. D. L. Ultrasound: a powerful tool for leaching, Trends, Anal. Chem, v. 22, p. 41-47, 2003.
- Malavolta, E. Manual de nutrição mineral de plantas, São Paulo: Revista Agrônômica Ceres, p. 638, 2006.
- Malavolta, E.; Vitti, G. C.; Oliveira, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: Potafos, 1997.

- Marschner, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. London: Academic Press, 1995. p. 889.
- Miyazawa, M.; Pavan, M. A.; Bloch, M. F. M. Análises químicas do tecido vegetal. Londrina: Iapar, p.17, 1992. (circular, 74).
- Miyazawa, M.; Pavan, M. A.; Bloch, M. F. M. Avaliação de métodos com e sem digestão para extração de elementos em tecidos de plantas. Revista Ciência e Cultura, São Paulo, v. 36, p. 1953-1958, 1984.
- Morgano, M. A.; pauluci, L. F.; Mantovani, D. M. B.; Mory, E. E. M. Determinação de minerais em café cru. Revista Ciência Tecnologia Alimentar, Campinas, v.22, n.1, p.19-23, 2002.
- Nascentes, C. C.; Korn, M; Sousa, C. S.; Arruda, M. A. Z. Use of ultrasonic baths for analytical applications: a new approach for optimization conditions, J. Braz. Chem. Soc, v. 12, n. 57, 2001.
- Nogueira, A. R. A. Preparo de amostras. In: VIII encontro nacional sobre métodos dos laboratórios da embrapa. Novas perspectivas para os laboratórios da Embrapa: Sistema da Qualidade e Certificação pela ISSO 9001- 2000. Anais... Jaguriúna, SP. 2003.
- Oliveira, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends, J. Braz. Chem. Soc., v. 14, p. 174-182, 2003.
- Reissmann, C. B.; Radomski, M. I.; Quadros, R. M. B. Relação entre os teores totais e a fração hidrossolúvel dos elementos K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn e Al em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.). In: SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. Análises químicas em plantas. Piracicaba: ESALQ, 1994. p.56.
- Sarruge, J. R.; Haag, H. P. Análises químicas em plantas. Piracicaba: Esalq, 1974. 56p.
- Sastre, J.; Sahuquillo, A.; Vidal, M.; Rauret, G. Determination of Cd, Cu, Pb, and Zn in environmental samples: microwave – assisted total digestion versus aquaregia and nítric acid extracion. Analytica Chimica Acta, 2002.
- Silva, E. R.; Oliveira, F. A.; Oliveira Neto, W.; Ortiz, F. R.; Castro, C. Análise comparativa de métodos de extração de nutrientes de tecidos vegetais. In: jornada acadêmica da embrapa soja, 2008, Londrina. Anais... Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Documentos, 297), p. 154-158, 2008.
- Silva, F. C. Manual de análises químicas de solos, planta e fertilizantes / (Ed) – 2. ed. Ver. Ampl. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.
- Soriano, S. Avaliação de diferentes estratégias para o tratamento de amostras de suplementos multivitamínicos/multiminerais visando a determinação de Cu, Fe, Mn e Zn por FAAS. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006. 101p. Dissertação
- Souza, D. M.; Madari, B. E.; Sena, M. M. Aplicação de métodos quimiométricos na otimização da extração de Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu e Mn em folhas de braquiária. Revista Química Nova, v. 35, n. 1, p. 175-179, 2012.

- Tedesco, M. J.; Gianello, C.; Bissani, C. A.; Bohnen, H.; Volkweiss, S. J. Análise de solo, planta e outros materiais. Porto Alegre: Departamento de solos da UFRGS. Circular, p.9, 1995.
- Terblanche, J. H.; Du Pressis, S. F. Summary of workshop on leaf and soil analysis as a tool for determining fertilizer requirements of citrus. Proceedings of the International Society of Citriculture. v. 2, 1992. p.744-745.
- Terra, M. M. Cultura de uvas de mesa, do plantio à comercialização. In: Simpósio Brasileiro sobre Uvas de Mesa, Ilha Solteira, Nutrição e Adubação da videira, p. 149-176. 2000, Anais...São Paulo.
- Trivelin, P. C. O.; Salati, E.; Matsui, E. Preparo de amostras para análise de ^{15}N por espectrometria de massa. Piracicaba, CENA, p. 41, 1973. (Boletim Técnico, 2).
- Ulrich, A. Plant analysis as a guide in fertilizing crops. In: Reisenauer, H. M. (ed.). Soil and plant tissue teting in California. Berkeley: University of California, 1976. p.1-4.
- Vaccaro, S.; Brun, E. J.; Schumacher, M. V.; König, F. G.; Isabel, S. K.; Ceconi, D. E. Comparação Entre Três Diferentes Métodos de Análise de Tecido Vegetal. Colombo, n. 48, p. jan./jun, 2004.
- Vila Nova, P. C. C.; Arruda, E. J.; Oliveira, L. C. S.; Santos, g.; Roel, A. R.; Stropa, J. M. Avaliação de método convencional e digestão úmida para determinação de níveis de Fe, Mn, Ni, Cu, Co, Mg, Zn, Ca, Mo e Se em amostras secas de tomates orgânicos (*Solanum lycopersicum* L.) por Absorção Atômica de Chama (FAAS). J. Biotec. Biodivers, v. 3, n.4, p. 159-165, 2012.
- Yeh, M. D.; Lin, L.; Wright, C. J. Effects of mineral nutrient deficiencies on leaf development, visual symptoms and shoot-root ratio of *Spathiphyllum*. Scientia Horticulturae, v. 86, p. 223-233, 2000.
- Zagatto, E. A. G.; Jacintho, A. O. ; Reis, B. F.; Krug, F. J. ; Bergamin Filho, H.; Pessenda, L. C. R.; Mortatti, J. ; Giné, M. F. Manual de análises de plantas e águas empregando sistemas de injeção em fluxo. v.1. Piracicaba: CENA-USP, 1981. 42p.

APÊNDICE

1. Métodos de dosagem aplicados na obtenção dos macro e micronutrientes do tecido vegetal

1.1. Determinação de B (boro)

A determinação de boro será realizada por espectrofotometria com azometina – H, princípio do método – o boro reage com azometina-H e forma um complexo amarelo que absorve a luz na região de 460nm (EMBRAPA, 2009).

MATERIAL

Espectrofotômetro UV-VIS

REAGENTES

Solução tampão de acetato – dissolver 250g de NH_4OAc e 15g de Na_2EDTA em 400 mL de H_2O , adicionar 125 mL de HOAc glacial e completar o volume até 1000 mL com H_2O .

Solução de azometina-H - Dissolver 1 g de ácido ascórbico em 80 mL de água, adicionar 0,45 g de azometina-H e completar o volume até 100 mL com água.

Solução de B 1000 mg L⁻¹ – Dissolver 5,7178 g de H_3BO_3 em 1000 mL de água destilada.

Solução padrão de B – A partir da solução de 1000 mg L⁻¹, preparar soluções de : 0 ; 1,0 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹; 4,0 mg L⁻¹; 6,0 mg L⁻¹ e 8,0 mg L⁻¹ de B. Essas soluções serão utilizadas para realizar a curva de calibração e o intercepto da curva.

PROCEDIMENTO

Pipetar 1mL da solução do extrato 1, de qualquer método de extração, em tubo de 30 mL, adicionar 2,0 mL da solução tampão e 2,0 mL da solução de azometina-H e homogeneizar. Após 30 minutos, efetuar a leitura no espectrofotômetro a 460nm, a leitura é feita em absorbância;

Pipetar 1 mL do branco, para realizar uma prova em branco, e seguir o mesmo procedimento que é realizado com a amostra;

NOTA:

Sempre que for realizado um procedimento de diluição na amostra (extrato1), é necessário realizar o mesmo procedimento, e na mesma proporção, com a prova em branco;

Se o valor da prova em branco, em absorbância, for inferior a zero, deve ser considerado o valor nulo;

Seguir o mesmo raciocínio na preparação da curva analítica com os padrões preparados a partir da solução de boro 1000 mg L^{-1} , anotar os valores, em absorbância, obtidos no espectrofotômetro e estimar a concentração de B, a partir do intercepto da curva;

O equipamento, espectrofotômetro, deve ser zerado com o primeiro ponto da curva, 1 mL de água destilada com a adição de 2 mL da solução tampão e 2 mL de azometina-H. Assim depois da leitura dos pontos da curva, faz-se a leitura da prova em branco e anota-se seu valor em absorbância;

A solução de azometina-H deve ser preparada no dia em que será feita a análise, assim a curva não apresentará variações;

CÁLCULO

Para os métodos de extração:

- Via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com adição de HCl 1 mol/L; Via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO_3 para digerir a matéria seca; Via úmida em sistema aberto e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) para digerir a matéria seca e via solubilização com adição de HCl, utilizar a equação:

$$\mathbf{B \text{ (boro em mg/Kg)} = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (5/1000) \times (25/1) \times (1000/0,5)}$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca, utilizar a equação:

$$\mathbf{B \text{ (boro em mg/Kg)} = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (5/1000) \times (50/1) \times (1000/0,4)}$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca, utilizar a equação:

$$\mathbf{B \text{ (boro em mg/Kg)} = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (5/1000) \times (50/1) \times (1000/0,3)}$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra;

1.2. Determinação de Ca e Mg por espectrofotometria de absorção atômica (EAA)

A espectrofotometria de absorção atômica é uma das técnicas com menor interferência na análise (STANDARD, 1982). No entanto, no caso de Ca e Mg, as presenças de fosfatos, Fe e Al interferem, sendo mascarados por La ou Sr (EMBRAPA, 2009), Portanto é necessário adicionar uma das soluções de La ou Se nos extratos antes da leitura.

MATERIAL

Espectrofotômetro de absorção atômica com chama de ar-acetileno.

Lâmpada de cátodo oco de Ca e Mg.

REAGENTES

Solução padrão de Ca e Mg – A partir da solução padrão de Ca e Mg de 1000 mg L⁻¹, preparar soluções padrões para curva analítica: Ca (0; 1,0 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹; 4,0 mg L⁻¹) Mg (0; 0,2 mg L⁻¹; 0,4 mg L⁻¹; 0,8 mg L⁻¹).

Solução de La 0,1 %- Transferir 1,14 g de La₂O₃ para frasco de 1000 mL, adicionar solução de HNO₃ 10% até dissolução total do óxido e completar o volume com água destilada.

PROCEDIMENTO

Pipetar 1mL do extrato 1 da digestão seca (ou HNO₃ + HClO₄; micro-ondas; extração com solução ácida diluída; HNO₃ + HClO₄) para um tubo e adicionar 19 mL de água destilada (extrato 2).

Pipetar 1mL do extrato 2 em um tubo, adicionar 4 mL da solução de La 0,1% e determinar Ca e Mg por EAA.

NOTA:

As soluções padrões que serão utilizadas para estimar a curva padrão podem ser preparadas com a mistura de Ca e Mg;

Sempre que for realizado um procedimento de diluição na amostra (extrato 1), é necessário realizar o mesmo procedimento, e na mesma proporção, com a prova em branco;

Se o valor da prova em branco, for inferior a zero, deve ser considerado o valor nulo;

CÁLCULO

Para os métodos de extração:

- Via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com adição de HCl 1 mol/L, utilizar a equação:

$$\text{Ca (cálcio em g/Kg)} = (\text{L} - \text{B}) \times f \times (5/1000) \times (2/1) \times (25/1) \times (1000/0,5) \times (1/1000)$$

$$\text{Mg (magnésio em g/Kg)} = (\text{L} - \text{B}) \times f \times (5/1000) \times (20/1) \times (25/1) \times (1000/0,5) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca, utilizar a equação abaixo para o cálculo de cálcio e magnésio, em g/Kg:

$$(L - B) \times f \times (5/1000) \times (20/1) \times (50/1) \times (1000/0,4) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO_3 para digerir a matéria seca; Via úmida em sistema aberto e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) para digerir a matéria seca e via solubilização com adição de HCl 1 molar, utilizar a equação abaixo para o cálculo de cálcio e magnésio, em g/Kg:

$$(L - B) \times f \times (5/1000) \times (20/1) \times (25/1) \times (1000/0,5) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca, utilizar a equação abaixo para o cálculo de cálcio e magnésio, em g/Kg:

$$(L - B) \times f \times (5/1000) \times (20/1) \times (50/1) \times (1000/0,3) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

f = fator de diluição da amostra;

1.3. Determinação de Cu, Fe, Zn e Mn por espectrofotometria de absorção atômica.

MATERIAL

Espectrofotômetro de absorção atômica com chama de ar-acetileno.

Lâmpada de cátodo oco de Cu, Fe, Zn e Mn .

REAGENTES

Solução padrão de Cu – A partir da solução padrão de 1000 mg L⁻¹ de Cu, preparar soluções de: 0; 0,2 mg L⁻¹; 0,6 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹.

Solução padrão de Fe – A partir da solução padrão de 1000 mg L⁻¹ de Fe, preparar soluções de: 0; 2 mg L⁻¹; 6 mg L⁻¹; 10 mg L⁻¹.

Solução padrão de Zn – A partir da solução padrão de 1000 mg L⁻¹ de Zn, preparar soluções de: (0; 0,5 mg L⁻¹; 1,5 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹.

Solução padrão de Mn – A partir da solução padrão de 1000 mg L⁻¹ de Mn, preparar soluções de: 0; 1,0 mg L⁻¹; 3,0 mg L⁻¹; 5,0 mg L⁻¹.

PROCEDIMENTO

Após o ajuste do EAA conforme manual do equipamento, efetuar a leitura das soluções padrão, que estimam a curva analítica e logo em seguida, da solução da digestão seca ou HNO₃ + HClO₄; micro-ondas; extração com solução ácida diluída; HNO₃ + H₂O₂, todas a partir do extrato 1.

NOTA:

Se for necessário fazer diluição para efetuar a leitura no EAA pode-se, para uma primeira diluição, retirar 1mL do extrato 1 e acrescentar 9 mL de água destilada, formando o extrato 2; Sempre que for realizado um procedimento de diluição na amostra (extrato 1), é necessário realizar o mesmo procedimento, e na mesma proporção, com a prova em branco;

Se o valor da prova em branco, for inferior a zero, deve ser considerado o valor nulo;

As soluções padrão, que serão utilizadas para estimar a curva analítica, podem ser preparadas com a mistura de Cu, Fe, Zn e Mn;

CÁLCULO:

Para os métodos de extração:

- Via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com adição de HCl 1 mol/L; Via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ para digerir a matéria seca; Via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO₃ + HClO₄ (3:1) para digerir a matéria seca e via solubilização com adição de HCl mol/L, utilizar a equação:

abaixo para o cálculo de Fe, Cu, Mn e Zn, em mg/Kg:

$$(L-B) \times f \times (25/1000) \times (1000/0,5)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de H₂SO₄ + H₂O₂ para digerir a matéria seca, utilizar a equação abaixo para o cálculo de Fe, Cu, Mn e Zn, mg/Kg:

$$(L - B) \times f \times (50/1000) \times (1000/0,4)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO₃ + H₂O₂ para digerir a matéria seca, utilizar a equação abaixo para o cálculo de Fe, Cu, Mn e Zn, mg/Kg:

$$(L-B) \times f \times (50/1000) \times (1000/0,3)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

f = fator de diluição da amostra;

1.4. Determinação de fósforo (Método da espectrofotometria com azul-de-molibdênio)

O íon H_2PO_4^- em meio fortemente ácido reage com molibdato (MoO_4^-), formando um complexo de coloração azul, e a intensidade da coloração é proporcional á concentração de P (EMBRAPA, 2009).

MATERIAL

Espectrofotômetro UV-VIS.

REAGENTES

Solução de molibdato de amônio 2% - Dissolver 20 g $(\text{NH}_4^+)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ p.a. em 200 mL de água. Em outro frasco com 500 mL de H_2O , dissolver 2g de subcarbonato de bismuto e adicionar 150 mL de H_2SO_4 98% p.a. Esfriar, misturar as duas soluções e completar o volume até 1000 mL com H_2O (solução 1).

Solução diluída de molibdato – Transferir 300 mL da solução 1 para frasco de 1000 mL e completar o volume com H_2O (solução 2).

Solução padrão de 1000 ppm de P – Transferir 4,3928 g de KH_2PO_4 p.a. em frasco de 1000 mL, adicionar 3 mL de H_2SO_4 98% e completar volume com H_2O .

Soluções padrão de P – A partir da solução de 1000 ppm de P, preparar soluções de 0; 0,5 ppm; 1,0 ppm; 2,0 ppm; 3,0 ppm e 4,0 ppm de P.

Ácido ascórbico p.a., cristal.

PROCEDIMENTO

Pipetar 5mL da solução digerida de H_2SO_4 em tubo de 30 mL, em copos descartáveis de 40 mL, adicionar 10 mL da solução 2, uma pitada de ácido ascórbico e agitar;

Preparar uma prova em branco seguindo o mesmo procedimento da preparação da amostra para leitura: 5mL do branco, 10 mL da solução 2 e uma pitada de ácido ascórbico e agitar;

Após 30 minutos, efetuar a leitura no espectrofotômetro a 660nm;

NOTAS:

Essas soluções padrão de P, serão utilizadas para estimar a curva analítica;

É necessário realizar a curva analítica que será preparada, separadamente, com cada uma das soluções padrão de P: 0; 0,5 ppm; 1,0 ppm; 2,0 ppm; 3,0 ppm e 4,0 ppm com adição de 10 mL da solução 2 e uma pitada de ácido ascórbico. Anotar os valores, em absorbância, obtidos no espectrofotômetro e estimar a concentração de P, a partir do intercepto da curva;

O equipamento deve ser zerado com o primeiro ponto da curva, que será preparado com 5mL de água destilada, 10mL de solução de molibdato diluído e uma pitada de ácido ascórbico. É necessário fazer a leitura da prova em branco;

Se a cor azul desenvolvida estiver superior à tonalidade do último ponto da curva é necessário realizar uma diluição. Essa diluição pode ser efetuada retirando-se 1mL do extrato 1 e acrescentando 9 mL de água destilada, formando um extrato 2. Então se retira 5mL do extrato 2, 10 mL de solução de molibdato diluído e uma pitada de ácido ascórbico, e após 30 minutos efetua-se a leitura no espectrofotômetro a 660nm, ou seja segue-se o mesmo raciocínio da amostra sem a diluição. Assim a amostra será diluída 10 vezes. Não é necessário fazer o mesmo procedimento com a curva, essa terá os mesmos valores antes da diluição;

Sempre que for realizado um procedimento de diluição na amostra (extrato 1), é necessário realizar o mesmo procedimento, e na mesma proporção, com a prova em branco;

Se o valor da prova em branco, em absorbância, for inferior a zero, deve ser considerado o valor nulo;

CÁLCULO

Para os métodos de extração:

- Via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com adição de HCl 1 mol/L; Via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ para digerir a matéria seca; Via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO₃ + HClO₄ (3:1) para digerir a matéria seca e via solubilização com adição de HCl mol/L, utilizar a equação:

$$P(\text{fósforo, em mg/Kg}) = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (15/1000) \times (10/5) \times (25/1) \times (1000/0,5) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de $H_2SO_4 + H_2O_2$ para digerir a matéria seca, utilizar a equação:

$$P(\text{fósforo, em mg/Kg}) = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (15/1000) \times (10/5) \times (50/1) \times (1000/0,4) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de $HNO_3 + H_2O_2$ para digerir a matéria seca, utilizar a equação:

$$P(\text{fósforo, em mg/Kg}) = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (15/1000) \times (10/5) \times (50/1) \times (1000/0,3) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra

1.5. Determinação de enxofre

Princípio do método – O S orgânico do tecido vegetal é transformado em SO_4^{2-} na digestão úmida ou na seca. O SO_4^{2-} forma precipitado branco com Ba^{2+} , sendo determinado por turbidimetria ou por espectrofotometria (EMBRAPA, 2009).

MATERIAL

Espectrofotômetro UV-VIS.

Agitador de tubo de ensaio.

Cronômetro.

REAGENTES

Cristal de BaCl_2 p.a.

Solução de S- SO_4^{2-} 1000 ppm – Dissolver 5,434 g de K_2SO_4 p.a. em 500 mL de água e completar o volume até 1000 mL com água destilada.

Solução padrão de S – Preparar soluções de 0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0; 40,0 e 50,0 ppm de S- SO_4^{2-} a partir da solução de 1000 ppm.

Solução de HCl 6 N - balão com capacidade 1000 mL, contendo aproximadamente 200 mL de água destilada, deve-se adicionar 500 mL de HCl 36 % e 20 mL de S- SO_4^{2-} de 1000 ppm e completar o volume com água destilada.

PROCEDIMENTO

Pipetar 2 mL do extrato 1 da digestão seca (ou $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$; micro-ondas; extração com solução ácida diluída; $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$) e acrescentar 18 mL de água destilada (extrato 2).

Pipetar 10 mL do extrato 2 e transferir para tubo de ensaio com capacidade de 20 mL, ou copos descartáveis, com capacidade de 40 mL, adicionar 1 mL da solução de HCl 6 N e 0,5 g de cristal de BaCl_2 . Agitar vigorosamente, com agitador de tubo de ensaio ou manualmente, durante 30 segundos e após 5 minutos exatos (cronometrados) efetuar a leitura no espectrofotômetro a 420 nm.

Seguir o mesmo procedimento com a prova em branco;

Realizar a leitura da curva analítica com 10 mL de cada solução padrão, 1 mL da solução de HCl 6 N e 0,5 g de cristal de BaCl₂. Agitar vigorosamente, com agitador de tubo de ensaio ou manualmente, durante 30 segundos e após 5 minutos exatos (cronometrados) efetuar a leitura no espectrofotômetro a 420 nm. .

NOTAS:

As soluções padrão de S estimam a curva analítica;

Anotar os valores, em absorvância, obtidos no espectrofotômetro e estimar a concentração de S, a partir do intercepto da curva;

E necessário cronometrar a leitura devido à formação do precipitado BaSO₄ que decanta rapidamente;

O equipamento deve ser zerado com o primeiro ponto da curva, que será preparado com 10 mL de água destilada, 1 mL da solução de HCl 6 N e 0,5 g de cristal de BaCl₂. Agitar vigorosamente, durante 30 segundos e após 5 minutos exatos (cronometrados) efetuar a leitura zerando o espectrofotômetro. Após, quando completar o tempo, será realizado a leitura dos outros pontos da curva, da prova em branco e das amostras, respectivamente;

Os cristais de BaCl₂ p.a. deve ser passados em uma peneira de 20 mesh e ficar retidos em uma peneira de 60 mesh, esses que ficarão retidos são os que serão usados;

Sempre que for realizado um procedimento de diluição na amostra (extrato 1), é necessário realizar o mesmo procedimento, e na mesma proporção, com a prova em branco;

Se o valor da prova em branco, em absorvância, for inferior a zero, deve ser considerado o valor nulo;

CÁLCULO

Para os métodos de extração:

- Via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com adição de HCl 1 mol/L e via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ para digerir a matéria seca, utilizar a equação:

$$S(\text{enxofre em g/Kg}) = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (11/1000) \times (10/20) \times (25/2) \times (1000/0,5) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO₃ + H₂O₂ para digerir a matéria seca, utilizar a equação:

$$S(\text{enxofre em g/Kg}) = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (11/1000) \times (50/10) \times (1000/0,3) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO₃ + HClO₄ (3:1) para digerir a matéria seca e via solubilização com adição de HCl mol/L, utilizar a equação:

$$S(\text{enxofre em g/Kg}) = ((L-B) \times b) + a) \times f \times (6/1000) \times (25/1) \times (1000/0,5) \times (1/1000)$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra

1.6. Determinação de potássio por fotometria de chama

Princípio do método – O K da solução aquosa é aspirado na chama ar – GLP, e as energias emitidas por esse elemento são proporcional às concentrações de K (EMBRAPA, 2009).

MATERIAL

Fotômetro de chama

REAGENTES

Solução de K 1000 ppm – Pesar 0,19067 g de KCl , transferir para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 20 mL de ácido nítrico p.a. Completar o volume com água deionizada. (Realizar esse procedimento em capela de exaustão).

Solução padrão de K: A partir da solução de K 1000 ppm, preparar soluções de: 0; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0 ppm de K.

PROCEDIMENTO

Pipetar 2 mL do extrato 1(da digestão seca ou $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$; micro-ondas; extração com solução ácida diluída; $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$) em copo descartável e acrescentar 18 mL de água destilada (extrato 2).

Ajustar o fotômetro de chama com a solução padrão de K 40 ppm e efetuar a leitura das soluções que estimaram a curva.

Efetuar a leitura do extrato 2.

Realizar a leitura da prova em branco seguindo o mesmo procedimento da preparação da amostra para leitura.

NOTAS:

O ácido utilizado no padrão de 1000 ppm de K dependerá da solução extratora.

As soluções padrão de K servirão para estimar a curva analítica;

A concentração de K deve ser estimada a partir do intercepto da curva;

Se a leitura do extrato 2 for superior ao último ponto da curva (40ppm), é necessário realizar uma nova diluição. Essa diluição pode ser efetuada retirando-se 10 mL do extrato 2 e acrescentando 10 mL de água destilada (extrato 3).

Sempre que a amostra for diluída é necessário realizar o mesmo procedimento com a prova em branco;

Se o valor da prova em branco, em ppm, for inferior a zero, deve ser considerado o valor nulo;

CÁLCULO

Para os métodos de extração:

- Via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com adição de HCl 1 mol/L; Via úmida em sistema fechado usando forno micro-ondas como fonte de calor e o HNO₃ para digerir a matéria seca; Via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO₃ + HClO₄ (3:1) para digerir a matéria seca e via solubilização com adição de HCl mol/L, utilizar a equação:

$$\mathbf{K \text{ (potássio em g/Kg)} = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (25/1000) \times (1000/0,5) \times (1/1000)}$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de H₂SO₄ + H₂O₂ para digerir a matéria seca, utilizar a equação:

$$\mathbf{K \text{ (potássio em g/Kg)} = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (50/1000) \times (1000/0,4) \times (1/1000)}$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de HNO₃ + H₂O₂ para digerir a matéria seca, utilizar a equação:

$$\mathbf{K \text{ (potássio em g/Kg)} = ((L - B) \times b) + a) \times f \times (50/1000) \times (1000/0,3) \times (1/1000)}$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

b = coeficiente linear (declividade) da equação ajustada para a curva padrão;

a = intercepto da equação ajustada para a curva padrão;

f = fator de diluição da amostra

1.7. Determinação de nitrogênio total (método kjeldahl)

Princípio do método – O NH_4^+ produzido na digestão com H_2SO_4 é destilado em meio fortemente alcalino. O N condensado é coletado na solução de H_3BO_3 e titulado com a solução de H_2SO_4 .

A metodologia é citada por Tedesco et al, com algumas adaptações da Embrapa 2009.

MATERIAL

Conjunto de destilador semimicro Kjeldahl de 100 mL.

Bureta de 10 mL

REAGENTES

Solução de verde de bromocresol e vermelho de metila – Dissolver 0,660 g de verde de bromocresol e 0,330 g de vermelho de metila em 1000 mL de álcool etílico 95 % (solução 1). Estocar em frasco de vidro.

Solução de NaOH 0,05 M – Pesar 2 g de NaOH p.a. e transferir para um balão volumétrico de 1 L com auxílio de água destilada. Agitar e completar o volume do balão.

Indicador ácido bórico – Dissolver 40 g de ácido bórico em aproximadamente 1400 mL de água destilada em um balão volumétrico de 2 L. Após solubilizar, acrescentar 400 mL de álcool etílico 95 % e 40 mL da uma solução 1. Completar o volume a 2 L com água destilada e misturar. O pH da solução deve ficar entre 5,0 e 5,1. Caso esteja mais baixo adicionar cuidadosamente NaOH 0,05 M, até atingir o pH desejado. Estocar em frasco de vidro.

Solução de Hidróxido de sódio 10 M – Pesar 400 g de NaOH p.a. .Transferir para um balão volumétrico contendo cerca de 500 mL água destilada com auxílio de um funil lavando o bécker até que todo o NaOH seja completamente transferido para o balão. Cuidado a reação do NaOH com a água gera calor, o balão fica muito quente. Se necessário utilize gelo para resfriá-lo. Depois de frio, complete o volume para 1 L. Estocar em recipiente de plástico. Não utilize vidro, pois o NaOH pode corroer.

Solução de ácido sulfúrico 0,025 M – Adicionar 1,4 mL de ácido sulfúrico p.a em aproximadamente 800 mL de água destilada em um balão volumétrico com capacidade para 1 L. Completar o volume com água destilada e agitar. Estocar em frasco de vidro. Esse procedimento deve ser realizado em capela devido à volatilização do ácido.

PROCEDIMENTO

Preparar erlenmeyer de 125 mL com 5 mL do indicador ácido bórico referente ao número de amostras a serem determinadas.

Pipetar 10 mL do extrato 1 da digestão $H_2SO_4 + H_2O_2$ para um tubo de destilação;

Fixar o tubo no destilador de nitrogênio;

Adicionar 5 mL de hidróxido de sódio 10 M;

Destilar até coletar 35-40 mL;

Titular com ácido sulfúrico 0,025 M. Utilizar a bureta de 10 mL;

Realizar o mesmo procedimento com a prova em branco;

NOTAS:

O ponto final da titulação é a coloração rosa.

Iniciar a destilação com a prova em branco e observar se o valor obtido é aceitável (entre 0 e 0,5).

CÁLCULO

Para os métodos de extração:

- Via seca (incineração) em forno tipo mufla e dissolução posterior do resíduo (cinzas) com adição de HCl 1 mol/L e via solubilização com adição de HCl mol/L, utilizar a equação:

$$\mathbf{N \text{ (nitrogênio em g/Kg)} = ((L - B) \times 700 \times 5 \times 5) / 10000 \times 10) / 2,5}$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;

- Via úmida em sistema aberto e a mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ para digerir a matéria seca, utilizar a equação:

$$\mathbf{N \text{ (nitrogênio em g/Kg)} = ((L - B) \times 700 \times 5 \times 5) / 10000 \times 10) / 2,0}$$

L = leitura da amostra;

B = leitura do branco;