

ISSN 0101-9716



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA - MA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão - CNPAF
Goiânia, GO

UM MÉTODO SIMPLES PARA A DIGESTÃO DE AMOSTRAS DE PLANTAS

Departamento de Difusão de Tecnologia
Brasília, DF
1986



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA - MA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão - CNPAF
Goiânia, GO

**UM MÉTODO SIMPLES PARA A DIGESTÃO
DE AMOSTRAS DE PLANTAS**

José Francisco Valente Moraes
Nilva Abadia Rabelo

Departamento de Difusão de Tecnologia
Brasília, DF
1986

EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 12

Comitê de Publicações

Ricardo José Guazzelli (Presidente)
José Francisco da Silva Martins
Luis Fernando Stone
Nóris Regina de Almeida Vieira

Editoração

Luciana Maria Cascão
Antonio Pereira da Silva Filho
Pedro Ferreira da Costa
Gilson Dias de Oliveira
Claudeci Alexandre da Silva

Exemplares desta publicação podem ser solicitados ao:

CNPAF/Setor de Comunicação
Caixa Postal 179
74000 Goiânia, GO.

Tiragem: 1.000 exemplares

Moraes, José Francisco Valente.

Um método simples para a digestão de amostras de plantas, por José Francisco Valente Moraes e Nilva Abadia Rabelo. Goiânia, EMBRAPA-CNPAF, 1986.

12p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 12)

1. Química analítica. I. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Goiânia, GO. II. Rabelo, Nilva Abadia, colab. III. Título. IV. Série.

CDD 543

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. DIGESTÃO ÚMIDA	5
3. METODOLOGIA	7
4. ANÁLISE DA SOLUÇÃO	10
4.1 Micronutrientes	10
4.2 Sódio	10
4.3 Cálcio e Magnésio	10
4.4 Potássio	10
4.5 Fósforo	10
5. COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE DIGESTÃO ÚMIDA	11
6. REFERÊNCIAS	12

UM MÉTODO SIMPLES PARA A DIGESTÃO DE AMOSTRAS DE PLANTAS

José Francisco Valente Moraes¹
Nilva Abadia Rabelo²

INTRODUÇÃO

A determinação dos teores de P, Ca, Mg, K, Al, dos micronutrientes Cu, Zn, Fe e Mn, e de alguns outros elementos, como Cd, Ni e Pb, nas plantas, é feita após a decomposição (digestão) das amostras com ácido ou mistura de ácidos. A queima das amostras em mufla a temperaturas elevadas (calcinação) também é bastante usada em análise foliar.

A calcinação, no entanto, é um processo tedioso, que exige a atenção constante do laboratorista, para evitar temperaturas muito elevadas e a perda de algum elemento por volatilização. Após a queima, o resíduo das plantas deve ser dissolvido, o que geralmente é feito com ácido e na maioria das vezes a mistura é aquecida. Esta é mais uma operação que exige cuidados para evitar a contaminação e/ou perda do material.

Deve-se considerar, também, que a amostra pode ser contaminada, durante a calcinação, por partículas do revestimento interno dos fornos, as quais se misturam ao material a ser analisado. As várias operações, as dificuldades e os riscos apontados não permitem a análise de muitas amostras por jornada de trabalho. Por isto, os técnicos e os laboratoristas preferem a digestão úmida.

DIGESTÃO ÚMIDA

A característica básica da digestão úmida é a decomposição das plantas em ácido ou mistura de ácidos, com ou sem água oxigenada.

Chapman & Pratt (1961) preferem a calcinação para a maioria das análises de plantas, mas, em alguns casos, recomendam a digestão com a mistura de ácidos $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{SO}_4 - \text{HClO}_4$. Esta mistura de ácidos é recomendada também por Jackson (1973). Este autor recomenda a pré-digestão com HNO_3 (4 ml), antes da adição da mistura de ácidos (10 ml), para evitar o perigo de explosão do HClO_4 . Com

¹ Pesquisador do CNPAF.

² Técnica em Química Industrial.

esta finalidade também é que se inclui o H_2SO_4 na mistura ácida. Durante a digestão, o aquecimento da amostra deve ser inferior a $200^{\circ}C$, para evitar a perda de H_3PO_3 .

No Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a digestão das plantas era feita com a adição de H_2SO_4 concentrado (5 ml), seguida de aquecimento e da adição periódica de pequenas quantidades de água oxigenada (Dep. de Solos da UFRGS 1978). Tedesco (1982) propôs a pré-digestão do material com água oxigenada, para evitar a formação de espuma e perda de material após a adição do H_2SO_4 .

No Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CNPAP/EMBRAPA), a digestão das amostras de plantas era feita de acordo com o método proposto por Jackson (1973). O ataque ácido era feito em erlenmeyer de 250 ml, e o aquecimento, em chapa quente. Além do consumo de ácido (14 ml por amostra), do espaço necessário e do tempo gasto no processo, o manuseio e as atenções necessárias não permitiam que fossem atacadas muitas amostras por dia de trabalho. O método não é adaptado à análise de rotina.

A maior limitação observada, entretanto, foi o desprendimento de vapores e gases tóxicos dentro do laboratório e salas vizinhas. Este é um problema sério, que a maioria dos laboratórios de análise foliar enfrenta, pois os sistemas de exaustão das capelas não são suficientemente eficientes para evitar que os vapores e os gases difundam no interior das salas. Mesmo quando os vapores e gases são eliminados para o exterior, através de um sistema eficiente de exaustão, é comum retornarem ao laboratório e salas próximas, conduzidos pelo vento, principalmente nos dias de umidade relativa elevada.

Os problemas causados pelos vapores e gases produzidos durante a digestão úmida de amostras de plantas levaram alguns laboratórios a processá-la em locais afastados ou durante a noite, em fins de semana ou feriados.

A passagem dos gases através da água ou de soluções alcalinas tem sido preconizada para diminuir a contaminação atmosférica. Este método nem sempre se mostra eficiente, pois é de custo elevado e de difícil manutenção.

O desprendimento dos vapores diminui a concentração dos ácidos e a sua ação sobre o tecido vegetal. O aprisionamento dos gases dentro dos frascos, com o uso de tampas convencionais, é impraticável, devido à pressão que se desenvolve. No entanto, é possível diminuir a quantidade de vapores que escapa durante a digestão: basta que os vapores condensem e retornem à mistura, num sistema de refluxo contínuo.

Com base no trabalho desenvolvido por Ganje e Page (1974) para a determinação de cádmio em amostras de plantas, o laboratório de análise foliar do CNPAF vem usando a digestão de tecido de plantas com a mistura $HNO_3 - HClO_4$, em tubos de ensaio. O método é simples e seguro, consome pouco ácido (4 ml da mistura $HNO_3 - HClO_4$) por amostra, exige pouca mão-de-obra e é bem adaptado à rotina.

METODOLOGIA

O método consiste em adicionar 2 ml da mistura (2:1) de HNO_3 — HClO_4 a 0,200 a 0,500 g de amostra de planta previamente preparada e moída, colocada em tubo de ensaio de 250 mm a 300 mm de comprimento e 25 mm de diâmetro externo. A mistura HNO_3 — HClO_4 pode ser preparada antecipadamente (1 a 2 l) e guardada em frascos munidos de repipetador ou com bico-de-papagaio com adaptador esmerilado.

Os tubos de ensaio são aquecidos em bloco digestor SARGE ou em blocos de alumínio de 30 mm a 40 mm de espessura, em chapa quente ou banho de areia.

O bloco de alumínio pode ter de 16 a 20 buracos de 26 mm de diâmetro e 20 mm a 25 mm de profundidade. Para sustentar os tubos de ensaio, fixa-se uma placa de alumínio de 2 mm a 3 mm de espessura, perfurada como o bloco digestor, cerca de 20 cm acima do bloco (Fig. 1).

O uso de tampas de vidro, furadas, como as que acompanham o sistema digestor 40 da TECATOR, evita que os gases escapem para a atmosfera e, como a extremidade superior do tubo de ensaio é mantida mais fria, os vapores condensam e retornam à mistura. Este sistema tem-se mostrado eficiente em diminuir a quantidade de vapores que escapam para o interior do laboratório.

As tampas de vidro podem ser substituídas por um funil de vidro de 25 mm, de diâmetro e haste finos. Depois de adicionar a mistura ácida à amostra, coloca-se um funil em cada tubo de ensaio. Os vapores condensam nas paredes frias da extremidade superior do tubo de ensaio e do funil de vidro e escorrem. Forma-se, assim, um sistema contínuo de evaporação-condensação, e o vapor condensado, ao escorrer pelas paredes internas do tubo de ensaio, arrasta as partículas da amostra aí depositadas e a espuma formada na primeira fase da digestão. Os vapores que condensam nas paredes do funil acabam por formar uma gota que obstrui a sua haste (Fig. 2).

O funil funciona, portanto, como uma válvula, que retém os vapores no interior do tubo de ensaio até que este atinja uma certa pressão; ultrapassada esta, o funil é parcialmente levantado, e algum vapor escapa, diminuindo, assim, a pressão interna. Este processo reproduz-se continuamente até o final da digestão.

Para que o sistema funcione adequadamente, o contato entre o funil e o tubo de ensaio deve ser o mais perfeito possível. Os funis devem ser perfeitamente cônicos, com secções perfeitamente circulares e sem defeitos na sua forma, do mesmo modo que a borda (extremidade) do tubo de ensaio.

No início da digestão, o escapamento de gases pode ser reduzido por gotas de água que se põem no funil.

Na primeira fase de digestão, a temperatura deve ser mantida próxima a 60°C; após 20 minutos, ela pode ser aumentada para 120° a 160°C. Quando cessa a emissão dos gases, de coloração vermelho-alaranjada, adicionam-se mais 2 ml da mistura

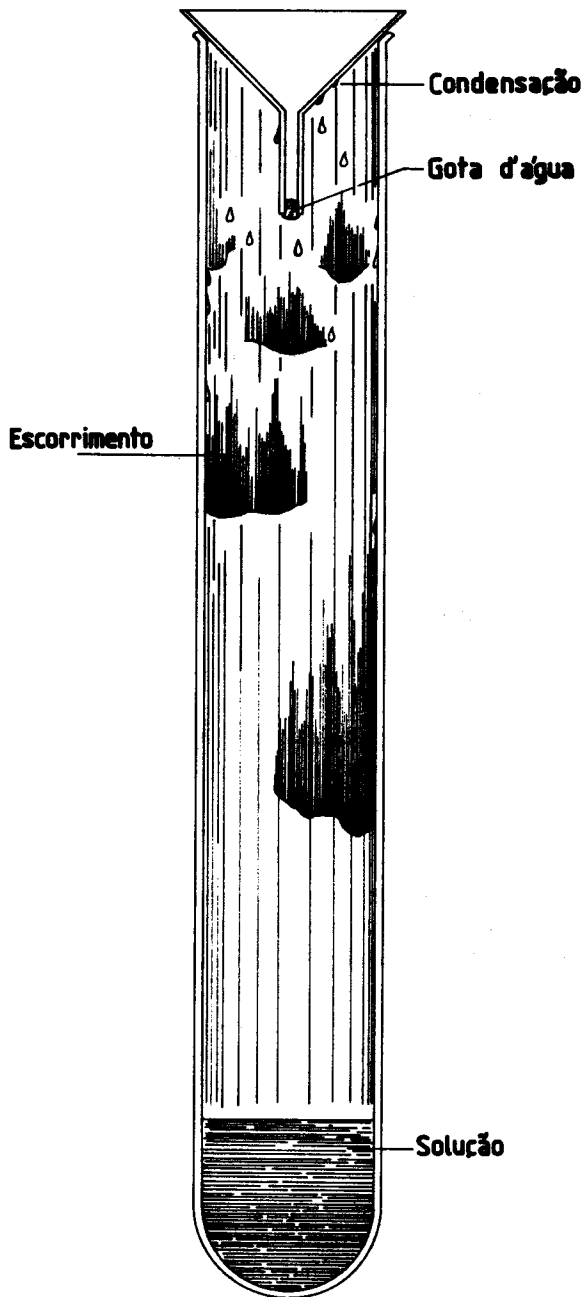


FIG. 2. Representação da condensação dos vapores nas paredes do funil e do tubo de ensaio.

HNO_3 – HClO_4 e mantém-se a temperatura entre 120°C – 160°C , até que a solução fique incolor ou levemente amarelada, completamente transparente, o que determina o fim da digestão.

É conveniente que a porta da capela fique aproximadamente na mesma altura da extremidade superior dos tubos de ensaio, para mantê-los mais frios e, assim, garantir a condensação dos vapores.

ANÁLISE DA SOLUÇÃO

O extrato obtido, para ser analisado, é diluído no próprio tubo de ensaio até 20 ou 25 ml, com água deionizada.

Micronutrientes

No CNPAF, os micronutrientes, Cu, Zn, Fe e Mn são determinados diretamente do tubo de ensaio, no espectrofotômetro de absorção atômica Perkin Elmer 306. As concentrações daqueles micronutrientes situam-se, em geral, dentro dos limites das curvas-padrão comumente usadas.

Sódio

É determinado no fotômetro de chama, diretamente do extrato da digestão, sem necessidade de ser diluído.

Cálcio e Magnésio

São determinados por espectrofotometria de absorção atômica. A diluição do extrato, que normalmente é da ordem de 1:25 a 1:50, pode ser feita com óxido de lantânio em concentração de 0,1% a 0,2%.

Potássio

É analisado por espectrofotometria de absorção atômica, após diluição do extrato de 1:50 a 1:100, com água deionizada.

Fósforo

É analisado por espectrofotometria, numa alíquota de 5 ml do extrato, após a adição de vanadato-molibdato de amônio, conforme descrito por Chapman & Pratt (1961).

COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE DIGESTÃO ÚMIDA

Quinze amostras de arroz (raiz, caule, folhas e grãos) foram atacadas com 14 ml da mistura $\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{SO}_4 - \text{HClO}_4$, em erlenmeyers de 250 ml, aquecidos em chapa quente (Método 1). As mesmas amostras foram oxidadas com 4 ml (2 ml + 2 ml) da mistura $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4$ (método original de Ganje & Page 1974), em tubos de ensaio tampados com as tampas de vidro, do digestor TECATOR, e aquecidos no bloco digestor (Método 2); em tubos de ensaio tapados com funis de vidro e aquecidos em chapa quente (Método 3); em tubos de ensaio não tapados, aquecidos no bloco digestor (Método 4).

O acompanhamento da digestão pelos 4 métodos permitiu observar que a digestão é mais rápida e mais completa quando feita no digestor do que na chapa quente. Isto porque a temperatura no bloco digestor é mais uniforme do que na chapa quente. Esta característica, no entanto, não influenciou o resultado final da análise, o que indica que o aquecimento em chapa quente é adequado.

O escape de gases no Método 1 atingiu níveis insuportáveis. No Método 4 também ocorreu a difusão de gases, mas em quantidade bem menor do que no Método 1.

Já nos Métodos 2 e 3, a liberação de gases foi bastante reduzida. Observou-se que as tampas de vidro (Método 2) foram mais eficientes do que os funis de vidro (Método 3), mas os gases liberados pelo Método 3 foram perfeitamente eliminados pelo sistema de exaustão da capela.

A digestão simultânea de 40 amostras em tubos de ensaio tapados com funis é feita rotineiramente, no laboratório do CNPAF, sem problemas de difusão de gases e vapores para o seu interior. Em experiências anteriores, até 80 amostras foram digeridas simultaneamente em tubos de ensaio tapados com funis, sem que ocorressem problemas de contaminação da atmosfera do laboratório.

Além do menor escape de gases, a digestão de amostras de plantas com a mistura $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4$ requer pequena quantidade de ácido (4 ml), é de fácil condução e não requer atenção permanente do laboratorista, que fica livre para outras atividades. Se feita a baixas temperaturas ($< 100^\circ\text{C}$), a digestão pode ser processada durante a noite, sem problemas de explosão ou de secamento das amostras.

Uma condição bastante conveniente é fazer a digestão em bloco munido de controle automático da temperatura e de relógio ("timer"), que o desliga automaticamente. A digestão pode ser iniciada no final do horário de trabalho, e na manhã seguinte o extrato estará frio e pronto para ser analisado.

A comparação das médias dos teores de P, K, Ca, Mg, Na, Cu e Zn mostrou que os quatro métodos de digestão são equivalentes, no que se refere à solubilização dos elementos. Apenas o Cu mostrou variação entre as médias, embora não significativa em nível de 0,1% (Tabela 1).

TABELA 1. Teores de P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn e Mn em amostras de arroz.

Método de digestão*	P	K	Ca	Mg	Na	Cu	Zn	Mn
	%				ppm			
1	0,078	1,053	0,872	0,577	1380	13,83	140,00	241,33
2	0,067	1,073	0,920	0,610	1390	12,07	158,00	249,33
3	0,068	1,070	0,930	0,608	1476	10,47	152,67	241,33
4	0,068	1,013	0,863	0,594	1404	12,87	160,67	258,00

1. HNO₃-H₂SO₄-HClO₄, erlenmeyer;
2. HNO₃-HClO₄, tubo de ensaio com tampa de vidro;
3. HNO₃-HClO₄, tubo de ensaio com funil;
4. HNO₃-HClO₄, tubo de ensaio não tapado.

As regressões lineares estabelecidas entre os pares de métodos de digestão, em função dos teores de P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn e Mn, mostraram valores para as pendentes muito próximos a 1,0 (0,9 a 1,1), com nível de significância de 0,1%. Isto indica, uma vez mais, que as quantidades dos elementos solubilizados são muito semelhantes. O cobre foi o único elemento que mostrou menor equivalência entre os tratamentos, pois o teor de Cu solubilizado pelo Método 1 foi de 10% a 30% maior do que o apresentado pelos outros métodos de digestão.

REFERÊNCIAS

- CHAPMAN, H.D. & PRATT, P.F. *Methods of analysis for soils, plants and waters*. s.l., Univ. of California. Div. of Agric. Sci., 1961. 309p.
- GANJE, T.J. & PAGE, A.L. Rapid acid dissolution of plant tissue for cadmium determination by atomic absorption spectrophotometry. *At. Absorpt. Newsl.*, 13(16): 131-4, 1974.
- JACKSON, M.L. *Soil chemical analysis*. New Delhi, Prentice-Hall of India, 1973. 498p.
- JONES JUNIOR, J.B. & STEYN, W.J.A. Sampling, handling and analyzing plant tissue samples. In: WALSH, L.M. & BEATON, J.D., eds. *Soil testing and plant analyses*. s.l., Soil Sci. Soc. Am., 1973. p.262-70.
- RIO GRANDE DO SUL. Universidade Federal. Faculdade de Agronomia. *Extração e determinação de P, K, Ca, Mg, Zn, Mn e Fe; método de digestão úmida*. s.l., 1978. 5p. Mimeografado.
- TEDESCO, M.J. *Extração simultânea de N, P, K, Ca e Mg em tecido de plantas por digestão com H₂O₂-H₂SO₄*. s.l., UFRS. Fac. de Agron. Dep. de Solos, 1982. 23p. (Informativo Interno, 01).