

Métodos de Análises de Macronutrientes Adotados no Laboratório de Tecido Vegetal da Embrapa Roraima



República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Reinholds Stephanes
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

Luis Carlos Guedes Pinto
Presidente

Silvio Crestana
Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires
Ernesto Paterniani
Hélio Tollini
Marcelo Barbosa Saintive
Membros

Diretoria-Executiva

Silvio Crestana
Diretor-Presidente

Tatiana Deane de Abreu Sá
José Geraldo Eugênio de França
Kepler Euclides Filho
Diretores-Executivos

Embrapa Roraima

Antonio Carlos Centeno Cordeiro
Chefe Geral

Roberto Dantas de Medeiros
Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Miguel Amador de Moura Neto
Chefe Adjunto de Administração



ISSN 0101 – 9805
Novembro, 2007

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agroflorestal de Roraima
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 07

Métodos de Análises de Macronutrientes Adotados no Laboratório de Tecido Vegetal da Embrapa Roraima

Mirian Cristina Gomes Costa
Luzia Doraci Barbosa

Boa Vista, RR
2007

Exemplares desta publicação podem ser obtidos na:

Embrapa Roraima

Rod. BR-174 Km 08 - Distrito Industrial Boa Vista-RR

Caixa Postal 133.

69301-970 - Boa Vista - RR

Telefax: (095) 3626.7018

e-mail: sac@cpafrr.embrapa.br

www.cpafr.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Roberto Dantas de Medeiros

Secretário-Executivo: Alberto Luiz Marsaro Júnior

Membros: Aloísio Alcântara Vilarinho

Gilvan Barbosa Ferreira

Kátia de Lima Nechet

Liane Marise Moreira Ferreira

Moisés Cordeiro Mourão de Oliveira Júnior

Normalização Bibliográfica: Maria José Borges Padilha

Editoração Eletrônica: Vera Lúcia Alvarenga Rosendo

1ª edição

1ª impressão (2007): 300

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Roraima

Costa, Miriam Cristina Gomes

Métodos de análises de macronutrientes adotados no laboratório de tecido vegetal da Embrapa Roraima / por Miriam Cristina Gomes da Costa e Luzia Doraci Barbosa. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2007.

32 p. (Documentos / Embrapa Roraima; 7).

1. Macronutrientes – análise – método. 2. Laboratório – Embrapa Roraima. I. Título. 2. Série.

CDD: 551.4098114

Autores

Mirian Cristina Gomes Costa

Doutora; Solos e Nutrição de Plantas; Embrapa Roraima; BR 174, Km 8, C.P. 133, CEP 69301-970, Boa Vista – RR
email: mirian@cpafrr.embrapa.br

Luzia Doraci Barbosa

Assistente B; Embrapa Roraima; BR 174, Km 8, C.P. 133, CEP 69301-970, Boa Vista – RR
email: luzia@cpafrr.embrapa.br

SUMÁRIO

1 Introdução.....	6
2 Objetivos e campo de aplicação.....	6
3 Preparo das amostras e obtenção do peso seco	6
3.1 Materiais e reagentes.....	6
3.2 Operação.....	7
3.3 Reparo e manutenção.....	7
3.4 Medidas de segurança	7
4 Preparo do extrato para as determinações de N, P, K, Ca e Mg.....	8
4.1 Materiais e reagentes.....	8
4.1.1 Materiais.....	8
4.1.2 Reagentes.....	8
4.2 Soluções.....	8
4.3 Operação.....	9
4.4 Reparo e manutenção.....	11
4.5 Medidas de segurança.....	13
5 Método para determinação do nitrogênio (N).....	13
5.1 Materiais e reagentes.....	13
5.1.1 Materiais.....	13
5.1.2 Reagentes.....	13
5.2 Soluções.....	13
5.3 Operação.....	15
5.3.1 Procedimento.....	15
5.3.2 Cálculos.....	15
5.4 Reparo e manutenção.....	15
5.5 Medidas de segurança.....	16
6 Método para determinação do fósforo (P).....	16
6.1 Materiais e reagentes.....	16
6.1.1 Materiais.....	16
6.1.2 Reagentes.....	16
6.2 Soluções.....	16
6.3 Operação.....	17
6.3.1 Procedimento.....	17
6.3.2 Cálculos.....	18
6.4 Reparo e manutenção.....	18
6.5 Medidas de segurança.....	18
7 Método para determinação do potássio (K).....	19
7.1 Materiais e reagentes.....	19
7.2 Operação.....	19
7.2.1 Procedimento.....	19
7.2.1.1 Procedimento para diluições.....	20
7.2.2 Cálculos.....	20
7.4 Reparo e manutenção.....	20
7.5 Medidas de segurança.....	20

8 Método para determinação de cálcio (Ca) e magnésio (Mg).....	20
8.1 Materiais e reagentes.....	20
8.1.1 Materiais.....	20
8.1.2 Reagentes.....	20
8.2 Soluções.....	21
8.3 Operação.....	21
8.3.1 Procedimento.....	21
8.3.2 Procedimento para concentração ou diluição de amostras.....	23
8.3.3 Cálculos.....	23
8.4 Reparo e manutenção.....	24
8.5 Medidas de segurança.....	24
9 Controle de qualidade e alterações futuras.....	24
Referências Bibliográficas.....	25

Métodos de Análises de Macronutrientes Adotados no Laboratório de Tecido Vegetal da Embrapa Roraima

Mirian Cristina Gomes Costa
Luzia Doraci Barbosa

1 Introdução

A análise química de tecido vegetal é uma importante ferramenta na avaliação da fertilidade do solo e do estado nutricional das plantas. Os métodos disponíveis viabilizam a determinação dos elementos denominados macronutrientes (nitrogênio-N, fósforo-P, potássio-K, cálcio-Ca, magnésio-Mg e enxofre-S), micronutrientes (boro-B, cloro-Cl, cobre-Cu, ferro-Fe, manganês-Mn, molibdênio-Mo, níquel-Ni e zinco-Zn), elementos benéficos (cobalto-Co, selênio-Se e silício-Si) e os elementos tóxicos mais frequentes (alumínio-Al, sódio-Na, cádmio-Cd, chumbo-Pb, mercúrio-Hg).

A análise química compreende duas etapas: a digestão da amostra e a determinação ou quantificação do elemento. A digestão das amostras é uma etapa fundamental no processo analítico e, conforme o tipo de digestão realizada, tem-se maior ou menor eficiência na determinação dos elementos. Em muitos laboratórios a digestão mais utilizada no preparo dos extratos é a ácida quente, sendo a digestão sulfúrica empregada na metodologia para determinação de N e a nítrico-perclórica na determinação dos demais elementos. No Laboratório de Tecido Vegetal da Embrapa Roraima, a digestão das amostras tem sido feita com ácido sulfúrico, água oxigenada e sais catalisadores. Essa mistura digestora viabiliza as determinações de N, P, K, Ca e Mg, mas não permite determinações úteis de enxofre e micronutrientes, devido ao uso do ácido sulfúrico e dos elementos químicos existentes nos sais catalisadores. A partir da modernização da estrutura dos laboratórios, com capelas que garantam a segurança necessária, pretende-se executar a digestão nítrico-perclórica, que resulta em maior eficiência na determinação de P, K, Ca, Mg, S e micronutrientes (exceto cloro e boro) e de outros elementos.

É importante lembrar que nos grupos de discussão sobre controle de qualidade de laboratórios de solo e planta, os métodos empregados na digestão de material vegetal são constantemente discutidos. As maiores preocupações referem-se ao impacto ambiental das análises (tipo e quantidade de resíduos gerados), ao custo das análises e qualidade

dos resultados. Assim, espera-se que ao longo do tempo ocorram alterações nos métodos de análises, tornando-as mais eficientes.

2 Objetivos e campo de aplicação

Os objetivos das análises de tecido vegetal, detalhadas neste documento, são: extrair e quantificar os teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em tecido vegetal de diferentes espécies. Na Embrapa Roraima, as análises químicas em tecido vegetal são executadas visando o atendimento aos clientes interno (pesquisa) e externo (produtores). Neste documento são descritos os métodos de análises de acordo com as condições atuais de trabalho no Laboratório de Tecido Vegetal da Embrapa Roraima.

3 Preparo da amostra e obtenção do peso seco

3.1 Materiais e reagentes

- Estufa de circulação de ar;
- Moinho de facas (aço inox);
- Balança semi analítica;
- Frascos de vidro;
- Sacos plásticos;
- Sacos de papel.

3.2 Operação

Quando as folhas frescas apresentarem grande quantidade de impurezas (poeira ou solo aderido) ou quando apresentarem resíduos da aplicação de defensivos agrícolas, o seguinte procedimento de lavagem deve ser adotado:

- Colocar as folhas por alguns segundos em água destilada contendo pequena quantidade de detergente neutro;
- Enxaguar as folhas com água destilada, em porções sucessivas, para remover todo detergente;
- Colocar as folhas já enxaguadas sobre papel absorvente;
- As amostras já lavadas devem ser colocadas em sacos de papel perfurados e postas para secar em estufa com circulação forçada de ar, com temperatura entre 65°C a 70°C, permanecendo por, no mínimo, 72 horas (esse tempo pode variar de

acordo com a quantidade e/ou com o teor de umidade do material – folhas e vegetais herbáceos secam mais rapidamente, segmentos de caule de árvores/arbustos e frutos demandam mais tempo);

- Após secagem, o peso seco (PS) pode ser obtido a partir da pesagem da amostra em balança semi-analítica. O resultado da pesagem deve ser anotado em planilha específica;
- Moer quantidade de material suficiente para obter boa representatividade da amostra, homogeneizando e fazendo quarteamento da mesma;
- Acondicionar as amostras em frascos de vidro com tampa plástica e devidamente identificados, ou em sacos plásticos, que devem ser bem fechados para evitar perda de material já moído e/ou entrada de insetos.

Observações:

Amostras volumosas (ex.: troncos de árvores) podem ser reduzidas com auxílio de martelos;

O material fica mais fino e mais adequado para a análise quando se faz dupla moagem;

Nas amostras referentes à pesquisa, deve-se moer as repetições de um mesmo tratamento na seqüência, limpando bem o moinho ao iniciar moagem de um novo tratamento. No caso de amostras de clientes externos (agricultores), o moinho deve ser bem limpo após cada moagem.

Para melhor limpeza do moinho, recomenda-se usar aspirador de pó ou fluxo de ar comprimido.

3.3 Reparo e manutenção

O moinho deve ser mantido limpo quando não estiver em uso. Problemas de funcionamento devem ser comunicados ao gestor de laboratórios.

3.4 Medidas de segurança

- Utilizar EPIs (Equipamentos de Proteção Individual) tais como: máscara, jaleco (bata), protetor auricular, óculos de proteção;
- Trajar roupas e calçados adequados, de maneira a sentir-se confortável e seguro; usuários com cabelos longos, devem deixá-los presos para evitar acidentes;
- Procurar se informar bem com o gestor de laboratórios sobre o funcionamento do equipamento e suas condições de operação com segurança;

- Para evitar problemas com o excesso de partículas no ar, deve haver sistema de exaustão de ar que precisa ser acionado durante o processo de moagem;
- Trabalhar com amostras preferencialmente recém-retiradas da estufa que, por estarem mais quebradiças, facilitam o processo de moagem.

4 Preparo do extrato para determinação de N, P, K, Ca e Mg

4.1 Materiais e reagentes

4.1.1 Materiais

- Balança analítica;
- Tubos de ensaio de 25 x 250 mm;
- Bloco digestor com grade metálica e controle eletrônico de temperatura;
- Termômetro;
- Palheta de papel manteiga (para pesagem da amostra já moída);
- Colher pequena para retirar porção da amostra do frasco onde a mesma está acondicionada;
- Pinça para auxiliar na pesagem da amostra moída;
- Medida calibrada para a mistura digestora;
- Béquer de 50 e 100 mL;
- Pipeta automática de até 2 mL (podendo ser utilizada bureta de vidro);
- Frascos de vidro com capacidade para 50 ou 100 mL;
- Pisseta;
- Bureta com capacidade para 50 ou 100 mL;
- Almofariz.

Observação:

- Preferir usar conjuntos de tubos de digestão homogêneos (marca e formato) para as 40 provas do bloco digestor;
- Conferir se todos os tubos estão presos à grade metálica que fica sobre o bloco digestor, evitando o risco da queda de tubos de digestão e derramamentos do ácido usado na digestão.

4.1.2 Reagentes

- H_2SO_4 (ácido sulfúrico) concentrado;
- H_2O_2 (água oxigenada) a 30%;
- Na_2SO_4 (sulfato de sódio);
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (sulfato de cobre);
- Se (Selênio);
- Mg (magnésio) metálico;
- CaCO_3 (Carbonato de cálcio);
- KH_2PO_4 (Fosfato de potássio);

-

4.2 Soluções

Mistura digestora

- Colocar, em almofariz, 100 g de sulfato de sódio (Na_2SO_4), 10 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 1 g de selênio, triturar bem e misturar;
- Colocar por uma hora em estufa a 105 °C para retirar a umidade;
- Guardar a mistura em frasco escuro de vidro bem tampado.

Observação:

- Iniciar a trituração sempre pelo reagente com maior granulometria (mais grosso).

Solução 1200 mg L⁻¹ de Mg (antiga denominação: Solução J)

- Pesar 0,600 g de Mg metálico;
- Dissolver em 10 mL de ácido clorídrico (HCl) P.A. diluído em água na proporção 1:1 (solução 6 mol L⁻¹);
- Colocar a solução acima em um balão volumétrico de 500 mL, contendo ± 200 mL de água destilada ou deionizada (Nota: não colocar água sobre o ácido, mas sim o ácido sobre a água para evitar reações exotérmicas que podem causar acidentes);
- Completar com água destilada e homogeneizar bem.

Observações:

- Colocar a solução acima em um vidro escuro, identificado (nome do analista, data, nome da solução) e guardar em geladeira.
- O magnésio metálico, em contato com o ar, pode adquirir camada protetora em sua superfície. Essa camada deve ser retirada deixando cerca de 1,2 g do magnésio metálico imerso no ácido clorídrico utilizado para seu preparo, até que sua superfície adquira aparência brilhante.

Padrão misto de P, Ca e Mg

- Pesar 1,999 g de CaCO_3 (seco a 105°C por 2 horas) em béquer de 50 mL;
- Transferir para balão volumétrico de um litro;
- Adicionar 20 mL de HCl a 6 mol L⁻¹ para dissolver;
- Adicionar 1,318 g de KH_2PO_4 (seco a 100°C por 2 horas);
- Adicionar 200 mL da solução contendo 1200 mg L⁻¹ de Mg e completar o volume com água destilada.

Esta solução contém 300 mg L⁻¹ de P, 800 mg L⁻¹ de Ca e 240 mg L⁻¹ de Mg.

Para evitar problemas com elementos metálicos oxidados, ou outras interferências na qualidade da curva de calibração, recomenda-se o uso de ampolas de Ca (1000 mg de cálcio) e de Mg (1000 mg de Mg). Como exemplos de ampolas, são citadas: Titrisol – Merck; Diluit – JT Baker ou similares.

Caso sejam utilizadas as ampolas, o preparo das soluções para a curva de calibração deve ser da seguinte forma:

Solução 1000 mg L⁻¹ de Mg

- Transferir o conteúdo de uma ampola de magnésio para balão volumétrico de um litro, seguindo as indicações da embalagem;
- completar o volume do balão para 1 litro com água destilada, obtendo padrão primário com 1000 mg L⁻¹ de Mg.

Padrão misto de P, Ca e Mg

- Transferir o conteúdo de uma ampola de cálcio para balão volumétrico de 500 mL, seguindo as indicações da embalagem;
- completar o volume do balão para 500 mL com água destilada, obtendo padrão primário com 2000 mg L⁻¹ de Ca.
- Pipetar 400 mL do padrão primário de Ca e transferir para balão volumétrico de um litro;
- Pipetar 240 mL da solução 1000 mg L⁻¹ de Mg e transferir para o balão onde está o Ca;
- Adicionar 1,318 g de KH₂PO₄;
- Completar o volume do balão volumétrico com água.

Esta solução contém 300 mg L⁻¹ de P, 800 mg L⁻¹ de Ca e 240 mg L⁻¹ de Mg.

4.3 Operação

- Se os tubos utilizados na digestão não estiverem aferidos para 50 mL, os mesmos deverão ser aferidos da seguinte maneira: adicionar 50 mL de H₂O no tubo e fazer marcação com pincel, descartar a água e colocar os tubos para secar;
- Pesar 0,2000 g da amostra já moída (podendo optar por uma quantidade menor em amostras com altos teores de nutrientes) e colocar em tubos de ensaio previamente secos;
- Adicionar 0,7 g da mistura digestora (usar a medida calibrada);
- Adicionar 1 mL de H₂O₂ (água oxigenada) 30%;
- Adicionar lentamente, utilizando pipeta ou bureta, 2 mL de H₂SO₄ (ácido sulfúrico) concentrado (a reação é rápida, com oxidação parcial do tecido, podendo a solução ficar clara ou escura, de acordo com a amostra);
- Colocar a grade com os tubos no bloco digestor a uma temperatura de 100 °C – 150 °C (depois de alguns minutos a solução fica bem escura devido à oxidação de compostos orgânicos solúveis não decompostos por H₂O₂ 30%). A temperatura deve ser baixa para evitar a projeção do líquido para fora do tubo;
- Aumentar gradativamente (de 15 em 15 minutos) a temperatura até atingir 330°C. Após o líquido clarear (ficar com cor esverdeada) manter essa grade com os tubos por mais uma hora no bloco na temperatura de 330 °C.

Nota: Se houver situação atípica durante o aquecimento e alterações na digestão das amostras, verificar a temperatura utilizando o termômetro. Cuidados são requeridos quando a temperatura for superior a 300 °C, pois temperaturas acima do limite (290 °C) podem causar quebra do termômetro e conseqüente contaminação com mercúrio. É comum que ocorra variação de temperatura no bloco digestor na faixa dos 300 °C. A temperatura no centro do bloco pode ser até 20 °C superior em relação às extremidades, de modo que amostras que ficam no centro podem ser digeridas mais rapidamente.

- Retirar a grade com os tubos do bloco digestor e deixar esfriar por + ou – 15 minutos, adicionar um pouco de H₂O para evitar a solidificação da amostra (colocar em uma superfície que não provoque choque térmico, por exemplo, em placa de amianto, madeira ou borracha grossa);
- Deixar esfriar até o tubo estar suportável ao tato (\pm 50 °C a 60 °C) e completar o volume com H₂O destilada até a marca da aferição (50 mL);
- Transferir para frascos com capacidade entre 50 e 100 mL, deixar decantar algumas horas antes de retirar as alíquotas para as determinações de P, K, Ca, Mg e N (caso as determinações não sejam feitas logo em seguida, tampar os frascos para evitar a evaporação do extrato).

Obs: Para elaboração das curvas-padrão, medir com microbureta ou pipeta 0,0 – 0,25 – 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,5 e 5,0 mL da solução padrão misto. Transferir para tubos de digestão e seguir o processo descrito a partir da adição da mistura digestora.

Tabela 1. Concentrações de nutrientes obtidas a partir da diluição do padrão misto 300 mg L⁻¹ de P, 800 mg L⁻¹ de Ca e 240 mg L⁻¹ de Mg ao completar os tubos de ensaio para 50 mL.

Solução padrão misto	P	Ca	Mg
mL	mg L ⁻¹		
0,0	0,0	0,0	0,0
0,25	1,5	4,0	1,2
0,5	3,0	8,0	2,4
1,0	6,0	16,0	4,8
2,0	12,0	32,0	9,6
3,5	21,0	56,0	16,8
5,0	30,0	80,0	24,0

Tabela 2. Concentrações para a curva padrão elaborada a partir do padrão misto 300 mg L⁻¹ de P, 800 ppm de Ca e 240 ppm de Mg, após diluições do extrato indicada para cada elemento.

P	Ca	Mg
----- mg L ⁻¹ -----		
0,0	0,0	0,0
0,25	1,0	0,1
0,5	2,0	0,2
1,0	4,0	0,4
2,0	8,0	0,8
3,5	14,0	1,4
5,0	20,0	2,0

O preparo das soluções utilizadas na elaboração da curva deve ser cuidadoso, adotando-se as medidas para evitar contaminações ou imprecisão nas quantidades de elementos proposta para cada solução. As soluções utilizadas no preparo da curva devem ser guardadas em geladeira, sendo retiradas previamente ao preparo da curva, trabalhando-se sempre com o material a temperatura ambiente. Cuidados na precisão volumétrica são requeridos para máxima exatidão nos pontos da curva.

4.4 Reparo e manutenção

Balança e vidraria são os principais materiais utilizados nessa fase. Conforme descrito em Andrade et al. (2001), os procedimentos de reparo e manutenção para balança e vidraria são:

Balança analítica: Verificar se a balança está nivelada; não tocar com as mãos o material a ser pesado (usar pinças ou espátulas); o material deve ser pesado a temperatura ambiente; não colocar reagentes diretamente no prato da balança (usar béquer pequeno, pesa-filtros, vidro de relógio, papel vegetal). Manter o ar-condicionado desligado e a porta da sala de balança fechada para evitar que correntes de ar atrapalhem a pesagem. Após colocar o material a ser pesado na balança, fechar as portas laterais da mesma para efetuar a leitura. Após pesagem, manter a balança limpa, utilizando pincel macio para limpeza do prato e área adjacente. Periodicamente (a cada seis meses), efetuar a aferição das balanças digitais, conforme o manual do fabricante.

Buretas: Devem estar limpas (ver o procedimento de limpeza, descrito a seguir) e secas. Devem ser condicionadas passando-se pequena quantidade (1/3 do seu volume) da solução que irão conter, molhando-se toda a parede interna. As torneiras de vidro

devem ser lubrificadas usando quantidade mínima de graxa (mistura contendo uma parte de lanolina e duas partes de vaselina, misturadas sob leve aquecimento e deixadas esfriar). NÃO usar silicone como lubrificante. Encher a bureta de modo que a parte de baixo também fique cheia de solução. Não deixar bolhas de ar retidas na parede da bureta (bolhas podem ser retiradas com movimentos rápidos de abertura e fechamento da torneira ou, com a torneira aberta na pia, fazendo-se movimentos bruscos de cima para baixo). Caso as bolhas não saiam, esse é um indicativo de que a bureta está suja e precisa do procedimento de limpeza. Colocar a bureta verticalmente à bancada, liberar o líquido de forma lenta e gradual e observar o volume liberado na posição perpendicular à bureta no ponto em que estiver o menisco. Para soluções claras usa-se a parte de baixo do menisco como referência. Gota em excesso na extremidade ou a meia gota pode ser utilizada ou não. Se for utilizada, passá-la para o frasco receptor tocando-o levemente na extremidade da bureta. No processo de titulação, o conteúdo do frasco receptor deve ser constantemente agitado para manter a homogeneidade do meio.

Pipetas: Devem ser calibradas por meio da pesagem de determinado volume de água em balança de precisão (por ex.: 1 mL de água = 1 g). Pipetas descartáveis devem ser calibradas todas as vezes que forem feitas alterações de volume. Como toda vidraria de precisão, pipetas de vidro não devem ser aquecidas. As pipetas não devem ser introduzidas em frascos de reagentes (Transferir a quantidade de reagente a ser utilizada para um béquer ou copo, pipetando-se posteriormente as medidas desejadas. É preciso ter bom senso ao retirar reagentes dos frascos originais, separando somente a quantidade a ser utilizada, pois o volume não utilizado deverá ser descartado e jamais retornar ao frasco original para evitar contaminações). A pipeta deve estar limpa e seca. Caso não esteja seca, deve-se lavá-la duas ou três vezes com a solução a ser pipetada. Ao utilizar pipetas automáticas, recomenda-se o uso de uma ponteira para cada solução a ser pipetada (bicos usados podem ser reaproveitados desde que sejam bem lavados, verificar que o líquido pipetado deve escorrer deixando a ponteira totalmente limpa. Se isso não ocorrer, tem-se um indicativo de que a ponteira reutilizada está suja). Para evitar danos em pipetas automáticas, não se deve pipetar soluções com ácidos fortes concentrados, especialmente os que se volatilizam (HCl e HNO₃).

Balões volumétricos: Não devem ser aquecidos (alteração no volume), não devem ser utilizados para estocar soluções pois podem sofrer desgaste (principalmente por soluções muito alcalinas) e, conseqüentemente, alterações de volume.

Procedimento de limpeza: Usar esponja, cepilhos, sabão líquido neutro comum ou especial (por ex.: Extran), água de torneira, água destilada e desionizada. Iniciar lavagem da vidraria logo após o uso, eliminando excessos com água de torneira corrente. Limpar a vidraria de boca estreita usando o sabão líquido neutro diluído (1 a 2%) e cepilhos. Para a vidraria de boca larga os cepilhos podem ser substituídos por esponjas. Balões volumétricos podem ser limpos por meio de agitação de água com sabão líquido neutro. Posteriormente deve-se enxaguar o material com água de torneira (5 a 7 vezes) e o último enxague deve ser com água destilada ou desionizada (3 a 5 vezes). Não encher o frasco com água para depois descartar, pois esse procedimento apenas dilui e não elimina os resíduos existentes na vidraria. A limpeza da vidraria é avaliada mediante escoamento uniforme da água destilada ou desionizada de enxágue pelas paredes do recipiente. Se a água não escoar uniformemente, repetir o procedimento de lavagem. Para análises em que o risco de contaminação é maior (por ex.: micronutrientes), após a limpeza anteriormente mencionada, a vidraria deverá ser deixada em solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ durante 10 minutos, com posterior enxague com água deionizada (duas vezes). Vidraria não volumétrica poderá ser seca em estufa apropriada, já a vidraria volumétrica deverá ser seca em escorredor. Após secagem, toda vidraria deve ser armazenada em local adequado, isento de poeira ou outros contaminantes. Balões volumétricos, tubos de ensaio e provetas devem ser vedados com tampas originais ou plástico selante antes de serem guardados. Béqueres devem ser guardados com a boca virada para baixo.

4.5 Medidas de segurança

Usar jaleco, óculos de proteção, luvas cirúrgicas ou de borracha grossa (para ácidos), sapatos fechados, cabelos presos. Preparar soluções de ácidos fortes, voláteis ou não, na capela com o sistema de exaustão acionado. Aspirar soluções sempre com auxílio de bulbos de borracha e NUNCA com a boca. Evitar consumir alimentos, café, fumar ou conversar desnecessariamente durante os trabalhos no laboratório.

5 Método para determinação do nitrogênio (N)

5.1 Materiais e reagentes

5.1.1 Materiais

- Balão volumétrico de 1 e 2 L;
- Béqueres de 200 mL, 1 e 2 L;
- Provetas de 5, 10, 50 e 500 mL;
- Pipeta com volume de 1 a 10 mL;
- Erlenmeyer de 50 mL;
- Microbureta de 5 mL;
- Agitador/aquecedor magnético;

- Pipeta automática;
- Suporte para bureta;
- Funil de separação volume 50 ou 100 mL;
- Destilador de arraste de vapor (Destilador Kjeldahl para determinação de N).

5.1.2 Reagentes

- Ácido bórico (H_3BO_3);
- Hidróxido de Sódio (NaOH);
- Verde de Bromocresol;
- Vermelho de metila;
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4);
- Etanol a 95% (v/v).

5.2 Soluções

Solução de Hidróxido de Sódio (NaOH) a 10 mol L^{-1}

- Dissolver 400 gramas de NaOH em 800 mL de água destilada, deixar esfriar;
- Quando já estiver frio, transferir para balão volumétrico de 1 L e completar o volume com água destilada e homogeneizar bem.

Nota: Guardar a solução acima em frascos plásticos identificados com nome, data e nome do laboratorista que a preparou.

NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$

- Pipetar (com pipeta volumétrica graduada) 0,5 mL da solução de NaOH $10,0 \text{ mol L}^{-1}$ para balão volumétrico de 100 mL, completar com água destilada e homogeneizar bem.

Nota: Guardar a solução acima em frascos plásticos, identificados com nome, data e nome do laboratorista que a preparou.

Solução Indicadora de Ácido Bórico

- Dissolver 40 g de ácido bórico (H_3BO_3) em 1.400 mL de água quente (temperatura entre 50° e 60°C);
- Dissolver 0,660 g de verde de bromocresol e 0,330 g de vermelho de metila com etanol 95% em balão volumétrico de 1 litro e homogeneizar bem;
- Após esfriar a solução de ácido bórico, transferi-la para um balão volumétrico de 2 L que já contenha 400 mL de etanol a 95% e 40 mL da solução de verde de bromocresol e vermelho de metila;
- Adicionar, cuidadosamente, aproximadamente 80 gotas de NaOH $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com auxílio de conta-gotas (aproximadamente 80 gotas) na solução de ácido bórico e homogeneizar;
- Retirar 1 mL da solução de ácido bórico mencionada acima e adicionar a 1 mL de H_2O em béquer de 5 mL (ou em béquer de menor tamanho disponível), se essa solução ficar com coloração verde-claro, estará pronta. Caso contrário, é necessário continuar o procedimento de adicionar NaOH com conta-gotas até verificar que a coloração ficou verde-claro.
- Quando o procedimento acima estiver concluído, completar com H_2O o volume da solução indicadora de ácido bórico e homogeneizar bem.

Nota: Guardar a solução acima em frascos escuros identificados com nome, data e nome do laboratorista que a preparou.

Ácido sulfúrico H_2SO_4 0,05N (0,02628 mol L⁻¹)

- Medir (com pipeta graduada) 1,4 mL de H_2SO_4 concentrado (pureza mínima de 98% e densidade de 1,84 g L⁻¹) e dissolver em balão de 1 L com água destilada.

Padronização do ácido sulfúrico 0,05N (0,02628 mol L⁻¹) com Tris-(hidroximetil)-aminometano P.A. ($C_4H_{11}NO_3$)

- Pesar 0,7 g de Tris ($C_4H_{11}NO_3$), secar por 1 hora em estufa a 105 °C;
- Dissolver 0,6057 g do Tris (previamente seco) em balão de 100 mL com água destilada que tenha sido aquecida até a temperatura de 50 a 60°C;
- Completar o volume e homogeneizar bem. A solução assim preparada é 0,05 N (0,05 mol L⁻¹);
- Pipetar 10 ml da solução de Tris a 0,05 N (0,05 mol L⁻¹) para um frasco de vidro com capacidade para 125 mL (em duplicata);
- Adicionar (no mesmo frasco) 10 mL de água destilada que foi aquecida até a temperatura de 50 a 60 °C;
- Adicionar (no mesmo frasco) 5 mL da solução indicadora de ácido bórico e titular (colocando o ácido no funil de separação da bureta) com o H_2SO_4 0,05 N (0,02628 mol L⁻¹). O ponto de viragem é verde claro para rosa claro. Anotar o volume gasto do ácido.

Cálculo da normalidade exata do H_2SO_4 0,05 N (0,02628 mol L⁻¹) usado na titulação a partir de um fator de correção (Fc):

$$F_c = \frac{10 \times 0,05}{\text{Quantidade (mL) de } H_2SO_4 \text{ gasto na titulação}}$$

A normalidade (N) do H_2SO_4 será: $N = 0,05 \times F_c$

5.3 Operação**5.3.1 Procedimento**

- Pipetar ou colocar com auxílio de proveta, 5 mL de solução indicadora de ácido bórico em erlenmeyer com capacidade para 50 mL para receber o destilado;
- Pipetar 10 mL do extrato (à temperatura ambiente) em tubo de ensaio com capacidade para 100 mL;
- Completar o recipiente superior do destilador com o NaOH 10 mol L⁻¹ e, por meio do registro de abertura e fechamento do recipiente, liberar cerca de 5 mL do NaOH para o tubo, iniciando a destilação logo em seguida;
- Destilar por 5 minutos ou até coletar aproximadamente 35 mL de destilado em erlenmeyer, mantendo a saída do destilador totalmente imersa na solução de ácido bórico para evitar perda do destilado;
- Retirar o erlenmeyer do destilador e titular o coletado com H_2SO_4 0,05N (0,02628 mol L⁻¹) já padronizado. Titular usando microbureta de 5 mL. O ponto de viragem é verde claro para rosa claro;
- Anotar, em planilha específica, o volume de H_2SO_4 0,05 N (0,02628 mol L⁻¹) gasto na titulação. Esse volume, juntamente com o valor do branco e a concentração do ácido será utilizado nos cálculos de teores de N no tecido vegetal.

Observações

- Iniciar a titulação com a prova em branco e observar se o valor obtido é aceitável (o ponto de viragem deverá ocorrer logo no início, com as primeiras gotas de ácido usadas na titulação);
- A determinação de N é geralmente feita por último (após o P, K, Ca e Mg), não sendo afetada pela presença do precipitado no tubo de digestão;
- Cada mL de H₂SO₄ 0,05 N (0,02628 mol L⁻¹) utilizado na titulação (descontado o branco e considerando Fc = 1) corresponde a 700 µg de N. Se a concentração do ácido utilizado for diferente desta, calcular a proporção direta do fator a utilizar nos cálculos;
- A sensibilidade do método (com as especificações dadas) é de 0,17 g kg⁻¹ de N (para 0,01mL de ácido usado na titulação). Maior sensibilidade pode ser obtida destilando 20 mL do extrato.

5.3.2 Cálculos

$$N(\text{g kg}^{-1}) = \frac{[(A - B) \times N \times Fc \times 70]}{M}$$

Onde:

A = volume de H₂SO₄ utilizado na titulação da amostra (mL)

B = volume de H₂SO₄ utilizado na titulação do branco (mL)

N = normalidade do H₂SO₄ utilizado na titulação

Fc = Fator de correção da concentração do H₂SO₄ usado na titulação

M = massa de material vegetal digerido (g)

5.4 Reparo e manutenção

A vidraria utilizada merece os mesmos cuidados mencionados no ítem 4.4 do tópico referente ao preparo do extrato.

5.5 Medidas de segurança

Idem ítem 4.5. Ao manusear o destilador, usar luvas protetoras para evitar queimaduras ao retirar o tubo de digestão. Usar a proteção do próprio destilador em frente do tubo de vidro e usar óculos de proteção durante a destilação e titulação das amostras. Atenção para manter volume adequado de água na caldeira do destilador, evitando que a resistência do equipamento seja queimada. Informar-se bem sobre o uso adequado do equipamento e dos cuidados básicos de manutenção antes de operá-lo.

6 Método para determinação do fósforo (P)

6.1 Materiais e reagentes

6.1.1. Materiais

- Copos descartáveis com capacidade para 50 mL;
- Pipeta automática regulável até 2 mL;
- Pincel atômico para identificar copos;
- Béquer com capacidade para 50, 100, 200 mL;
- Conta gotas;

- Bandejas de isopor para acondicionar os copos descartáveis com as amostras pipetadas;
- Espectrofotômetro com leitura na faixa do visível (colorímetro).

6.1.2 Reagentes

- Molibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$);
- Ácido clorídrico (HCl);
- Ácido 1-amino-2-hidróxido-4-naftol-sulfônico;
- Sulfito de sódio (Na_2SO_3);
- Metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{O}_5\text{S}_2$).

6.2 Soluções

Solução de Molibdato de amônio (Anteriormente denominada Solução PB)

- Dissolver em béquer 3,8 g de molibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) usando para a dissolução 150 ml de água destilada previamente aquecida a 60° C;
- Deixar esfriar, transferir para balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com água destilada;
- Transferir para um tambor plástico com capacidade de 1 L;
- Colocar 80 mL de água destilada em balão volumétrico de 200 mL;
- Adicionar vagarosamente 70,7 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado e agitar;
- Completar o volume com água destilada e agitar;
- Transferir para o tambor plástico de 1 L onde já se encontra a solução de molibdato de amônio e agitar;
- Adicionar no tambor 600 mL de água destilada com auxílio de balões volumétricos de 500 e 100 mL;
- Agitar bem para uma perfeita homogeneização da solução PB.

Solução de Ácido 1-amino-2-hidróxido-4-naftol-sulfônico (Anteriormente denominada Solução PC)

- Preparar um estoque de pó redutor, misturando e triturando em almofariz os seguintes reagentes:
 - 2,50 g de ácido 1-amino-2-hidróxido-4-naftol-sulfônico;
 - 5,0 g de sulfito de sódio (Na_2SO_3);
 - 146,0 g de metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{O}_5\text{S}_2$).

Observação:

Começar triturando o reagente com maior granulometria (mais grosso).

- Guardar esse pó redutor (no máximo 40 dias) em vidro fosco envolto com folha de papel alumínio;
- Dissolver 32,0 g do pó redutor em 150 mL de água morna (50 a 60 °C);
- Transferir para um balão de 200 mL e completar o volume com água destilada morna;
- Transferir para um vidro escuro e deixar em repouso (na geladeira) até cristalizar;
- A cristalização demora de 3 a 6 dias, após cristalizado deve ser filtrado e continuar guardado em vidro escuro e na geladeira;
- Nova solução deve ser preparada a cada 3 semanas.

6.3 Operação

6.3.1 Procedimento

- Transferir uma alíquota de 1 mL do extrato da amostra ou padrão para copo plástico descartável com capacidade para 50 mL (utilizar pipeta volumétrica ou graduada de 1 mL ou pipeta automática fixa ou regulável de 1000 μ L);
- Adicionar 2 mL de água destilada (usar pipeta automática regulável de 1 a 5 mL);
- Adicionar 3 mL da solução de molibdato de amônio (antiga solução PB), usando pipeta automática regulável de 1 a 5 mL;
- Adicionar, com conta-gotas, 3 gotas da solução de ácido 1-amino-2-hidróxido-4-naftol-sulfônico (antiga solução PC);
- Agitar, esperar 30 minutos para desenvolver a cor e determinar a absorbância em colorímetro B 380 TECNAL da seguinte maneira:
 - Ligar o estabilizador na voltagem indicada;
 - Ligar o colorímetro na chave liga-desliga;
 - Aguardar a estabilização do aparelho que ocorre mediante leitura 0.00 no visor (nesse momento o botão absorbância/transmitância deverá estar na transmitância com comprimento de onda de 660 nm);
 - Após estabilização, mudar de transmitância para absorbância e zerar o equipamento como padrão zero já na cubeta (girar o botão que existe para zerar o aparelho);
 - Se houver algum problema que impeça zerar o equipamento, anotar o valor registrado no ponto de concentração zero da curva e iniciar as leituras. Ao efetuar os cálculos, descontar de todas as leituras (padrão e amostras) o valor obtido no ponto zero da curva;
 - Proceder às leituras das amostras lavando as cubetas com água destilada, com auxílio de pisseta. Efetuar a lavagem delicadamente e secar a cubeta com lenço de papel macio.

Observações:

- Utilizar as mesmas pipetas para a preparação das amostras e padrões, iniciando sempre, tanto a preparação como a leitura, pelos padrões;
- Quando o valor da absorbância das amostras ultrapassarem o valor do padrão mais concentrado, deverão ser feitas diluições.
- Trabalhar com baterias de até 50 amostras e realizar todas as leituras seguidas, sem interrupções. O complexo perde a estabilidade com o tempo, de modo que a leitura deve ser feita o mais rápido possível para evitar perda de sensibilidade na quantificação.

6.3.2 Cálculos

O programa de computador denominado NTIA tem sido utilizado na Embrapa Roraima para cálculos dos teores de fósforo em tecido vegetal. O programa permite a entrada dos valores da curva de calibração, das diluições e da leitura da amostra.

Em linhas gerais, os cálculos são feitos a partir da curva de calibração que relaciona concentração do elemento (mg L^{-1}) com a leitura (em absorbância). Elabora-se um gráfico colocando os valores em eixos coordenados, sendo as concentrações (mg L^{-1}) de P na

abscissa e as leituras (absorbância) na ordenada). A conversão da leitura (absorbância) das amostras para mg L^{-1} de P pode ser feita da seguinte forma:

$$P(\text{mg L}^{-1}) = \frac{(A-B) - b}{a}$$

Onde,

$P(\text{mg L}^{-1})$ = concentração de P obtida na solução de leitura

A = Absorbância da amostra

B = Absorbância do branco

a e b = coeficientes da equação da reta ($y = ax + b$)

A conversão de unidades (de mg L^{-1} para g kg^{-1}) deve levar em conta a massa de material vegetal pesada para a digestão (por ex.: 0,2 g), o volume final de diluição feito no tubo de digestão (50 mL), a alíquota de extrato tomada para análise e sua diluição (por ex.: 1 mL de extrato para 2 mL de água destilada + 3 mL de solução de molibdato de amônio). No exemplo citado para diluição do extrato, tem-se uma diluição inicial de 250 vezes (50/0,2), seguindo-se diluição de 6 vezes (6/1), resultando em diluição total de 1500 vezes (250 x 6).

$$P(\text{g kg}^{-1}) = \frac{P(\text{mg L}^{-1})}{M_{tv}/50 \times 1/6 \times 1000}$$

Onde:

M_{tv} = massa de tecido vegetal analisada

Quando o procedimento for seguido conforme indicado acima (massa de material vegetal e diluição do extrato), o cálculo resume-se a:

$$P(\text{g kg}^{-1}) = P(\text{mg L}^{-1}) \times 1,5$$

6.4 Reparo e manutenção

Limpar as cubetas de leitura do colorímetro regularmente e entre cada leitura. Usar lenço de papel macio para efetuar a limpeza e secagem das cubetas. Não arranhar e não tocar diretamente os dedos na parte transparente da cubeta.

6.5 Medidas de segurança

Idem item 4.5. Ligar o colorímetro na energia por meio do estabilizador, não esquecendo de verificar a voltagem.

7 Método para determinação do Potássio (K)

7.1 Materiais e reagentes

- Copos descartáveis com capacidade para 50 mL;
- Pipeta de 1 e 10 mL;
- Pincel atômico para identificar copos;
- Béquer de 200 mL;
- Bandejas de isopor para acondicionar copos descartáveis com as amostras pipetadas;
- Fotômetro de chama Benfer B 262.

7.2 Operação

7.2.1 Procedimento

Curva Padrão

- Preparar o padrão de trabalho para calibrar o fotômetro pipetando (com pipeta volumétrica) 1 mL da solução estoque do padrão para o fotômetro de chama (a solução deve ter 5,0 mmol L⁻¹ de potássio e 140 mmol L⁻¹ sódio);
- Completar com água destilada para 100 mL (balão volumétrico de 100 mL);
- Fazer a curva de calibração pipetando 4, 8, 12, 16 e 20 mL do padrão de trabalho em copos plásticos;
- Adicionar 16, 12, 6, 4 e 0 mL de água destilada, de modo que os pontos da curva apresentarão 0,01 – 0,02 – 0,03 – 0,04 e 0,05 meq L⁻¹ de K e 0,28 – 0,56 – 0,84 – 1,12 e 1,40 meq L⁻¹ de Na.

Amostras

- Transferir uma alíquota de 1 mL do extrato da digestão para copo plástico descartável (utilizar pipeta volumétrica ou graduada de 1 mL);
- Adicionar 9 mL de água destilada (utilizar dispensador);
- Determinar a emissão do K no fotômetro de chama da seguinte maneira:
 - Ligar o estabilizador na tomada de 110 V;
 - Colocar a chave seletora do fotômetro na posição “ignição”;
 - Ligar o compressor de ar que está acoplado ao fotômetro de chama;
 - Abrir a válvula do registro do gás butano que está sob a bancada;
 - Apertar a tecla “start” até que a chama seja acesa;
 - Observar a coloração da chama por meio do orifício em frente ao queimador (a chama deve apresentar cones separados, de altura uniforme e de coloração azul);
 - Caso a chama não esteja nas condições recomendadas, manter o fotômetro ligado aspirando água destilada e ajustar a vazão do gás por meio de válvula que encontra-se no registro do cilindro de gás;
 - Deixar o fotômetro ligado aquecendo durante aproximadamente 15 minutos antes de iniciar as leituras;
 - Na tecla função, selecionar Na/K em meq L⁻¹;
 - Calibrar o aparelho com o zero aspirando água destilada e apertando a tecla “calibra” até o zero ficar estável;
 - Calibrar o aparelho com o padrão, aspirando a solução 5 meq L⁻¹ devidamente diluída (1/100) e apertando a tecla “calibra”;
 - Na calibração, se o valor da leitura do padrão de trabalho for diferente de 5.0 deve-se calibrar novamente o fotômetro. Além disso, o procedimento de calibração deve ser repetido após a leitura de aproximadamente dez amostras;

- Caso os valores de leitura das amostras excedam os 5 meq L⁻¹, deve-se diluí-las e refazer as leituras, anotando-se os volumes de alíquotas e de água usados na diluição.

7.2.1.1 Procedimento para diluições

- Transferir uma alíquota do extrato da digestão de 0,6 mL para copo plástico descartável (utilizar pipeta graduada) + 9,4 mL de água destilada;
- Caso o valor da leitura continue acima de 5.0 aumentar a diluição, transferindo uma alíquota do extrato de 0,4 mL para copo plástico descartável (idem acima) + 9,6 mL de água destilada.

7.2.2 Cálculos

É preciso considerar que a leitura do fotômetro Benfer B 262, apesar de aparecer em meq L⁻¹, apresenta diluição embutida de 1:100. Assim, para converter leituras em meq L⁻¹ de K para g kg⁻¹ de K, é necessário efetuar o seguinte cálculo:

$$K \text{ (g kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Leitura (meq L}^{-1}\text{)} \times 0,39}{\frac{M \times A}{5} \times 10}$$

Onde:

M = Massa de tecido vegetal analisada (g)

A = Alíquota de extrato (mL)

7.3 Reparo e manutenção

Ligar o fotômetro na energia por meio do estabilizador, verificando a voltagem correta. Limpar o cateter quando constatar alterações na taxa de aspiração da amostra (usar arame fino semelhante ao utilizado na limpeza do cateter do absorção atômica).

7.4 Medidas de segurança

Mediante a troca do cilindro de butano, tomar os seguintes cuidados: manter as portas abertas, não acender a chama, verificar se há vazamentos no registro usando esponja com espuma. Caso sejam verificadas borbulhas na espuma, ajustar melhor o registro do gás até que não haja mais formação de bolhas de ar. Caso ocorra vazamento de gás, abrir as portas da sala de aparelhos e aguardar total dissipação do gás antes de acender a chama novamente.

8 Método para determinação de Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg)

8.1 Materiais e reagentes

8.1.1 Materiais

- Balão volumétrico com capacidade para 1 L;
- Béquer com capacidade para 100 mL ou 200 mL;
- Pipeta graduada de 20 mL;
- Bastão de vidro;
- Pipeta com capacidade para 10 mL;
- Copo plástico descartável com capacidade para 50 mL;
- Pipeta automática de 2 mL.

8.1.2 Reagentes

- Lantânio (La_2O_3);
- Estrôncio (SrCl_2);
- Ácido clorídrico (HCl).

8.2 Soluções

Solução de estrôncio a 0,3% em HCl 0,2N

- Pesar 5,42 g de SrCl_2 ;
- Medir 16,7 mL de HCl concentrado;
- Lavar o estrôncio do béquer de pesagem, transferindo-o para balão volumétrico de 1 L;
- Adicionar o HCl e agitar bem para dissolução;
- Completar o volume com água destilada.

Solução de lantânio a 10%(m/v)

- Pesar 117,28 g de La_2O_3 ;
- Umedecer com água destilada, adicionar lentamente 500 mL de HCl concentrado e completar a 1 L com água destilada.

Solução de lantânio a 0,1%(v/v)

- Pipetar 10 ml da solução de La_2O_3 a 10% e diluir a 1 L com água destilada.

Observação

- Guardar essa solução em frascos plásticos limpos e identificados, colocando o nome da solução, nome de quem preparou e a data de preparo.

8.3 Operação

8.3.1 Procedimento

- Transferir 2,0 mL do extrato das amostras e dos diferentes pontos da curva de calibração para copo plástico descartável (usar pipetador automático);
- Lavar a ponteira da pipeta entre uma amostra e outra para evitar contaminação;
- Adicionar 2,0 mL de água destilada;
- Adicionar 4,0 mL da solução de estrôncio ou solução de lantânio.
- Para efetuar as leituras do Mg, retirar alíquota de 2 mL do preparado para leitura do Ca e adicionar 4 mL de água destilada.

Observações

- Há relatos de que a solução de lantânio é mais eficiente que o estrôncio na eliminação de interferentes para posterior determinação de Ca e Mg por absorção atômica.

- Na rotina do laboratório de plantas da Embrapa Roraima, tanto o lantânio quanto o estrôncio tem sido utilizado com sucesso no processo de determinação de Ca e Mg em tecido vegetal.

→ Executar a leitura das amostras no absorção atômica (AAAnalyst 200 – Perkin Elmer), seguindo os seguintes passos:

- Ligar o estabilizador na tomada de 110 V;
- Abrir o cilindro de gás acetileno que está do lado de fora da sala de aparelhos, girando a válvula central no sentido horário (a abertura do cilindro é facilmente percebida pelo barulho típico da liberação do gás e movimentação dos indicadores no manômetro).

Observação 1:

- o manômetro que indica a quantidade de gás acetileno no cilindro (marcação de 0 a 1 kgf cm⁻²) não deve marcar valores inferiores a 0,5 kgf cm⁻². Valores inferiores indicam que o gás está acabando e, como há formação de acetona no fundo do cilindro, recomenda-se a troca do mesmo para evitar refluxo da acetona (forma líquida);

- o manômetro que indica a pressão de saída do gás (marcação de 0 a 50 kgf cm⁻²) deve estar regulado para 22,5 kgf cm⁻² (320 psi). Esse valor está dentro da faixa de pressão de acetileno recomendada para o AAAnalyst 200.

- Ligar o compressor de ar no painel identificado como “compressor”, localizado dentro da sala de aparelhos.

Observação 2:

- O manômetro, acoplado ao lado do filtro de ar, deve registrar pressão de 50 psi (3,4 bar).

- Ligar o sistema de exaustão da coifa que fica acima do queimador;
- Ligar a interface do AAAnalyst no botão liga-desliga localizado próximo ao compartimento da lâmpada de cátodo oco;
- Após inicialização do software de funcionamento do AAAnalyst, usar a caneta para entrar com os comandos, tocando diretamente na tela do equipamento;
- Selecionar a opção “flame” na primeira janela de opções e clicar em OK;
- Na primeira tela de operação, clicar na opção “install lamps” onde surgirá outra tela em que será selecionada a lâmpada e o elemento a ser analisado (Ca ou Mg);
- Após instalar a lâmpada, entre na tela “flame” e clique na opção “on” para acender a chama de ar-acetileno;
- Abra a janela “parameters” e clique no botão “calibration” abrindo a janela para calibração;

- Na janela de calibração deverão constar os pontos da curva de um método salvo na memória do equipamento, ou deverão ser inseridos os pontos de uma nova curva com que se deseja trabalhar.

Observação 3:

- No caso da rotina de trabalho com método já salvo na memória do equipamento, clicar na opção “tools” e depois em “select method”, escolhendo o método com o qual se deseja trabalhar;

- Para salvar um novo método, clique na opção “tools” e depois em “save method”

- Clicar na opção “Analyze” e, depois de aspirar água destilada, colocar o ponto zero da curva e clicar em “analyze blank”;
- Depois da leitura do branco, proceder a leitura do primeiro ponto de calibração que estará indicado no espaço ao lado (por ex.: Standard 1 – 2 mg

L⁻¹);

- Depois de ler todos os pontos da curva, clicar em “display calibration”, que permite visualizar o gráfico de calibração (verificar a linearidade dos pontos da curva e o “correlation coefficient” que deve ser próximo a um (por ex.: 0,9991);
- Depois de obter curva com bom coeficiente de correlação, colocar o cateter nas amostras e iniciar as leituras.

Observação 4:

- Como não há software para conectar a saída de dados a outro computador ou impressora, é necessário tomar nota das leituras de cada amostra;

- Os procedimentos para leitura são semelhantes para o Ca e Mg, porém deve-se atentar para a seleção do elemento a ser lido no equipamento.

- Para desligar o equipamento, deve-se, em primeiro lugar, desinstalar a lâmpada;
- Depois deve-se clicar em “off” na tela “flame”, de modo que a chama de ar-acetileno será extinta;
- Depois deve-se desligar o equipamento no botão liga-desliga;
- Quando o equipamento ficar por longo período sem ser utilizado (por ex.: finais de semana), antes de desligar o botão liga-desliga, deve-se fechar o cilindro de acetileno e, no equipamento (tela “flame”), deve-se clicar no botão “bleed”. Com esse procedimento, todo resíduo de gás que estiver nas mangueiras do equipamento será eliminado, reduzindo assim qualquer risco de explosão.

8.3.2 Procedimento para concentração ou diluição de amostras

- Para concentrar a amostra se deve transferir 4 mL do extrato para copo plástico descartável (usar pipetador automático). Em seguida, colocar 4 mL da solução de lantânio

ou estrôncio. Ler a curva preparada seguindo o procedimento do item 8.3.1 e, depois, as amostras para a quantificação do cálcio.

- Para quantificação do magnésio, pode-se trabalhar tomando-se alíquota variável de 2 a 6 mL do preparado para a leitura do cálcio, completando o restante com água (4 a 0 mL). É possível ler o magnésio diretamente a partir do preparado para o cálcio, usando posteriormente a mesma fórmula de cálculo.

- Para diluir, as alíquotas podem variar de 0,1 a 2 mL, complementando o restante com água destilada (3,9 a 2 mL). A seguir, adiciona-se 4 mL da solução de lantânio ou estrôncio e procede-se a leitura. No caso do magnésio, pode-se tomar 0,1 a 2 mL do preparado para leitura do cálcio, completando-se o volume (5,9 a 4,0 mL).

Observações:

- Amostras com altos teores de Ca e Mg devem ser diluídas convenientemente com o extrato da prova em branco;

- A sensibilidade do absorção atômica AAnalyst 200 para concentrações de 0,15 mg L⁻¹ de Mg e 3 mg L⁻¹ de Ca, é de 0,2 de absorbância.

8.3.3 Cálculos

Para cálcio:

$$\text{Ca (g kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Leitura (mg L}^{-1}\text{)}}{(\text{M}_{\text{TV}} \times \text{A})/5 \times 100/8}$$

Onde:

M_{TV} = massa de tecido vegetal analisada (g)

A = alíquota do extrato para análise de cálcio (mL)

Para magnésio:

$$\text{Mg (g kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Leitura (mg L}^{-1}\text{)}}{(\text{M}_{\text{TV}} \times \text{A}_1 \times \text{A}_2)/5 \times 100/8}$$

Onde:

M_{TV} = massa de tecido vegetal analisada (g)

A₁ = alíquota do extrato para determinação de cálcio (mL)

A₂ = alíquota do extrato para determinação de magnésio (mL)

8.4 Reparo e manutenção

Os laboratoristas devem adotar as seguintes medidas básicas de manutenção com o absorção atômica:

- Ligar na energia por meio do estabilizador, na voltagem correta;
- Limpar o queimador usando espátula metálica do kit de limpeza do equipamento (localizado no armário sob a bancada);
- Limpar o cateter de aspiração da amostra usando fio de arame do kit de limpeza do equipamento;
- Retirar o cateter e limpar o nebulizador com o mesmo fio de arame utilizado para limpeza do cateter;
- Periodicamente (4-6 meses) aspirar 100 mL de café forte e amargo (SEM AÇÚCAR), seguindo a aspiração de aproximadamente 500 mL de água destilada para promover limpeza do nebulizador;
- Verificar a vida útil no indicador localizado na extremidade da lâmpada;
- Verificar a funcionalidade da lâmpada, observando se há oscilações na luz emitida após 10 minutos a partir de sua instalação.

8.5 Medidas de segurança

- Preparar soluções que contenham ácidos sempre em capela com o sistema de exaustão acionado.

- Usar luvas, jaleco e óculos de proteção.

- Durante a utilização do absorção atômica, manter a porta de separação da chama sempre fechada e o sistema de exaustão da coifa acionado. Fechar o registro do acetileno, óxido nítrico e o compressor de ar sempre que o equipamento não for utilizado por longo período (finais de semana), fazer o “bleed” dos gases. Não tocar na lâmpada de cátodo oco após longo tempo de uso pois há risco de queimaduras. Caso seja necessário olhar diretamente para a lâmpada em funcionamento, usar óculos adequados para que a luminosidade emitida não seja prejudicial aos olhos. Ao efetuar limpeza completa do nebulizador, fechar os registros de gases e desligar o equipamento da energia.

9 Controle de qualidade e alterações futuras

O laboratório participa do Programa Interlaboratorial de Análise em Tecido Vegetal (PIATV) da ESALQ/USP. No ano 20 (biênio 2005/2006), o laboratório obteve conceito B para as determinações de N, P, K, Ca e Mg. Mediante melhorias de infraestrutura e de organização de trabalho, pretende-se aumentar o conceito para A, além de inserir determinações de micronutrientes.

Considerando a importância do tratamento e/ou destinação dos resíduos gerados nos procedimentos analíticos, espera-se que, com o funcionamento efetivo do Gerenciamento de Resíduos de Laboratório (GERELAB), seja possível descrever e executar as medidas para coleta e tratamento dos resíduos gerados nos procedimentos laboratoriais.

Referências Bibliográficas

ANDRADE, J.C.; FERREIRA, M.E.; BATAGLIA, O.C. Procedimentos básicos em um laboratório de análise. In: RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Ed.). In: **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. cap. 2, p. 40-56.

TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, Depto. De Solos. 1985. 188 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

Embrapa

Roraima

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

