

CIRCULAR TÉCNICA N° 6

ISSN 1517-5146  
Dezembro, 2000

MÉTODOS DE ANÁLISE DE TECIDOS VEGETAIS  
UTILIZADOS NA EMBRAPA SOLOS

Ciríaca Arcangela Ferreira de Santana do Carmo

Wilson Sant'Anna de Araújo

Alberto Carlos de Campos Bernardi

Marcelo Francisco Costa Saldanha

**Embrapa**

---

**Solos**

Copyright © 2000. Embrapa  
Embrapa Solos. Circular Técnica n° 6

**Revisão de Português**  
André Luiz da Silva Lopes

**Tratamento editorial**  
Jacqueline Silva Rezende Mattos

**Fotografia**  
Claudio Lucas Capeche

**Capa**  
Lipe Dias

**Normalização bibliográfica**  
Maria da Penha Delaia

Tiragem desta edição: 300 exemplares

**Embrapa Solos**  
Rua Jardim Botânico, 1.024  
22460-000 Rio de Janeiro, RJ  
Tel: (21) 2274-4999  
Fax: (21) 2274-5291  
E-mail: [embrapasolos@cnps.embrapa.br](mailto:embrapasolos@cnps.embrapa.br)  
Site: <http://www.cnps.embrapa.br>

*Embrapa Solos*  
Catalogação-na-publicação (CIP)

---

Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos / Ciríaca  
Arcangela Ferreira de Santana do Carmo ... [et al.]. - Rio de Janeiro :  
Embrapa Solos, 2000.  
41 p. - (Embrapa Solos. Circular Técnica; 6).

ISSN 1517-5146

1. Planta - Nutrição. 2. Diagnose foliar. 3. Tecido vegetal - Análise -  
Método. I. Carmo, Ciríaca Arcangela Ferreira de Santana do. II. Araújo, Wilson  
Sant'Anna de. III. Bernardi, Alberto Carlos de Campos. IV. Saldanha, Marcelo  
Francisco Costa. V. Série.

CDD (21. ed.) 631.42

---

## AUTORIA

Ciríaca Arcangela Ferreira de Santana do Carmo <sup>1</sup>

Wilson Santa'Anna de Araújo <sup>1</sup>

Alberto Carlos de Campos Bernardi <sup>1</sup>

Marcelo Francisco Costa Saldanha <sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Pesquisador da Embrapa Solos.

<sup>2</sup> Técnico de Nível Superior da Embrapa Solos.

## SUMÁRIO

- 1 INTRODUÇÃO - 1
- 2 FLUXOGRAMA DO LABORATÓRIO - 3
- 3 AMOSTRAGEM - 4
- 4 RECEBIMENTO DA AMOSTRA - 5
- 5 PREPARO DAS AMOSTRAS - 8
- 6 LAVAGEM DA VIDRARIA - 10
- 7 SOLUBILIZAÇÃO (DIGESTÃO) - 11
- 8 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS - 15
- 9 UNIDADES E EXPRESSÃO DOS RESULTADOS - 40
- 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS - 41

## RESUMO

O crescente aumento da população, e a conseqüente expansão da demanda por alimentos, gera a necessidade de maior eficiência dos agrossistemas e maior produtividade das áreas cultivadas. Esta eficiência será sustentável, se houver uma otimização de recursos e insumos, buscando aumentos da produção através do manejo racional da fertilidade do solo e da nutrição de plantas sem ocasionar danos ao meio ambiente. Neste contexto, a diagnose foliar constitui-se em uma ferramenta extremamente importante para a avaliação e o monitoramento do estado nutricional das plantas.

Assim sendo, a Embrapa Solos, consciente de suas atribuições em envidar esforços para a obtenção de máximas produtividades com o mínimo de danos ambientais decorrentes da aplicação de fertilizantes e corretivos no solo, instalou em 1996, o laboratório de tecidos vegetais, que atende os projetos de pesquisa da unidade e das instituições que fazem parte dos sistemas de pesquisas.

Este trabalho relata os procedimentos analíticos utilizados para a determinação dos principais nutrientes essenciais às plantas, realizados no laboratório de análise de tecidos vegetais da Embrapa Solos. Para cada método serão apresentados os princípios, materiais e equipamentos, reagentes e soluções e procedimentos.

*Termos para indexação:* metodologias, diagnose foliar, nutrição de plantas, estado nutricional.

## ABSTRACT

### *Analytical Methods of Plant Tissue Used in Embrapa Solos*

The continuous growth of population, allied with foodstuff requirement expansion, has begotten the need of a larger agrosystem efficiency and a larger productivity on cultivated areas. This effectiveness will be sustainable if resources as well as input optimization befall, in order to increase production by wise usage of soil fertility and plant nutrition, without damaging the environment. In this context, leaf diagnosis is an extremely important tool on the evaluation and monitoring plants nutritional status.

Considering this, Embrapa Soils, conscious of its responsibility on making efforts so as to obtain maximum productivity with a minimum environmental harm caused by soil fertilizers and correction products application, created, on 1996, the plant tissue laboratory, which attends its own research projects and the institutions belonging to the research system as well.

This work shows the analytical procedures currently used on the determination of the main essential nutrients to the plants, performed at Embrapa Soils' plant tissue laboratory. For each analysis methodology, theoretical principles, equipment and materials used, reagents and solutions will be shown.

*Index terms:* analytical methodology, foliar diagnosis, plant nutrition, nutritional status.

## 1 INTRODUÇÃO

O crescente aumento da população e a conseqüente expansão da demanda por alimentos geram a necessidade de maior eficiência dos agrossistemas e maior produtividade das áreas cultivadas. Esta eficiência será sustentável se houver uma otimização de recursos e insumos, buscando aumentos da produção através do manejo racional da fertilidade do solo e da nutrição de plantas. Neste contexto, a diagnose foliar constitui-se em uma ferramenta extremamente importante para a avaliação e o monitoramento do estado nutricional das plantas.

A diagnose nutricional, através da análise de tecidos vegetais, tem se mostrado um guia útil para o manejo dos nutrientes e é realizada com os seguintes objetivos:

- diagnosticar um problema nutricional não identificado visualmente;
- identificar causa de sintomas visuais observados no campo;
- mapear áreas que apresentam suprimento não adequado de nutrientes;
- avaliar se um determinado nutriente aplicado foi absorvido pela planta;
- identificar interações entre nutrientes;
- caracterizar a causa específica de um problema nutricional;
- juntamente com a análise de solo, orientar um programa racional de adubação e correção do solo.

Portanto, a utilização da análise foliar na avaliação nutricional das plantas pode revelar deficiências ou excessos de um ou mais nutrientes, permitindo que sejam realizadas as correções, evitando o comprometimento da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas.

Assim sendo, a Embrapa Solos, consciente de suas atribuições em envidar esforços para a obtenção de máxima produtividade com o mínimo de danos ambientais decorrentes da aplicação de fertilizantes e corretivos no solo, instalou, em 1996, o laboratório de tecidos vegetais. Até o momento tem realizado análises atendendo à necessidade dos projetos de pesquisa da unidade, como das instituições que fazem parte do sistema de pesquisa, como as universidades, principalmente no que se refere à execução de teses de mestrado e doutorado.

Equipado com instrumental analítico atualizado, como espectrômetro de emissão por plasma e analisador elementar para determinação simultânea de carbono e nitrogênio totais por via seca, o laboratório conta ainda com diferentes sistemas de purificação de água (destilada, bi-destilada em quartzo e ultra pura). Paralelamente, vem calibrando, adequando e testando novos procedimentos analíticos para utilizá-los na rotina, uma vez que os processos são dinâmicos.

Neste trabalho serão descritos os procedimentos analíticos utilizados para a determinação dos principais nutrientes essenciais às plantas (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Mn, Mo e Zn), realizados no laboratório de análise de tecidos vegetais da Embrapa Solos. Para cada método serão apresentados os princípios, materiais e equipamentos, reagentes e soluções, e procedimentos. As vidrarias não serão listadas, uma vez que são as comumente utilizadas em todos os laboratórios.

## 2 FLUXOGRAMA DO LABORATÓRIO

Na Figura 1, encontra-se esquematizado o fluxograma das atividades do laboratório de tecido vegetal, desde o preparo da amostra até os procedimentos analíticos propriamente ditos.

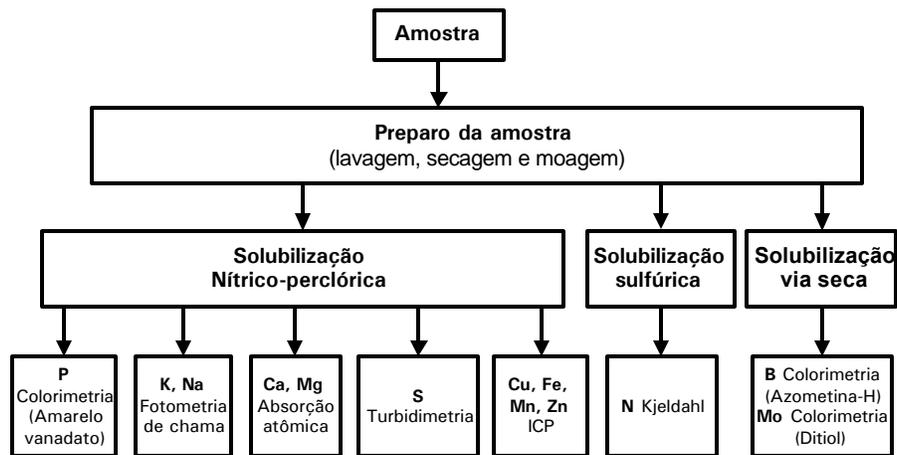


Figura 1. Fluxograma das análises foliares na Embrapa Solos.

Conscientes de que o valor da análise de plantas para a diagnose e monitoramento do estado nutricional depende não só da determinação analítica mais também da adoção de metodologias sistematizadas de amostragem e preparo da amostra, estes tópicos são brevemente enfocados neste trabalho, apesar de não fazerem parte da rotina do laboratório.

### **3 AMOSTRAGEM**

A amostragem constitui-se em uma etapa importante na análise de plantas, podendo acarretar erros na interpretação dos resultados analíticos e na identificação das limitações nutricionais. Em geral, é a fase onde ocorrem falhas com maior frequência. Para garantir resultados que reflitam o estado nutricional da cultura, a amostra coletada deve ser representativa da população, possibilitando assim, melhor interpretação. Nesta fase, devem ser observadas as instruções específicas da parte da planta a ser coletada, o estágio de desenvolvimento e a quantidade de material a ser coletado, uma vez que os resultados obtidos pela análise química serão comparados com valores padrões estabelecidos (valores críticos ou faixas de suficiência), para então serem interpretados. As recomendações técnicas para amostragem de plantas encontram-se na literatura (Osaki, 1991, Malavolta et al. 1997 e Carmo et al. 1998).

#### **4 RECEBIMENTO DA AMOSTRA**

As amostras recebidas pelo correio ou entregues diretamente pelos interessados são rigorosamente identificadas através de protocolo e etiquetadas com o número do laboratório.

Por ocasião do recebimento da amostra é preenchido um formulário, que tem como objetivo subsidiar a interpretação dos resultados analíticos (Figura 2).



LASP  
Laboratório de análise de água, solos e plantas

### 1. Identificação

Data: \_\_\_\_\_ N.º laboratório: \_\_\_\_\_  
Nome do proprietário \_\_\_\_\_  
Nome da propriedade \_\_\_\_\_  
Endereço \_\_\_\_\_  
Telefone: \_\_\_\_\_ Fax: \_\_\_\_\_ e-mail: \_\_\_\_\_  
Endereço para remessa dos resultados: \_\_\_\_\_  
Responsável pela remessa \_\_\_\_\_

### 2. Descrição da amostra

Cultura: \_\_\_\_\_ Variedade: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ N.º de amostras: \_\_\_\_\_  
Produtividade:  Alta  Média  Baixa \_\_\_\_\_  
Data da amostragem: \_\_\_\_\_  
Estádio de crescimento:  Perfilhamento  Florescimento  
 Frutificação  Maturação  
 Início  Outros \_\_\_\_\_  
Material enviado:  Folha inteira (com pecíolo)  Limbo  
 Planta inteira  Outros \_\_\_\_\_  
Descrição de sintomas: \_\_\_\_\_

Sintomas em folhas:  novas  velhas  
Avaliação do estado da cultura:  bom  médio  ruim

**3. Características do plantio:**

**Cultivo:**  Comercial  Doméstico  Outros \_\_\_\_\_

**Práticas:**

Irrigação  Análise solo  Adubação \_\_\_\_\_

**Ocorrências:**

Encharcamento  Seca  Pragas  Doenças

**Pulverizações:**

Adubo foliar \_\_\_\_\_  Defensivos \_\_\_\_\_

**4. Descrição do local:**

**Solo:**  Arenoso  Argiloso Cor \_\_\_\_\_

**Relevo:**  Plano  Suave  Acidentado  Baixada

**Cobertura vegetal predominante:****5. Nutrientes a serem analisados:**

N	P	K	Ca	Mg	S
B	Cu	Fe	Mn	Zn	_____

**6. Observações:**

Assinatura responsável:

\_\_\_\_\_

Figura 2. Formulário de recebimento das amostras na Embrapa Solos.

## **5 PREPARO DAS AMOSTRAS**

### **5.1 Lavagem**

O ideal é que as folhas sejam entregues ainda verdes ao laboratório, no máximo 2 dias após a coleta. Quando não houver essa possibilidade, realiza-se a lavagem, somente para folhas verdes e vigorosas.

As amostras inicialmente são lavadas com água de torneira e água ultra pura, posteriormente com detergente neutro, na concentração de  $1\text{mLL}^{-1}$ , e novamente com água ultra pura.

No caso de amostras que receberam aplicação de defensivos agrícolas ou adubação foliar ou estiverem contaminadas com terra, além do procedimento anterior, acrescenta-se a lavagem com uma solução de  $\text{HCl } 30\text{mLL}^{-1}$ , seguida de lavagem com água desmineralizada. O tempo de contato das folhas com a água ou com as soluções descontaminantes deve ser sempre menor que 2 minutos, para se evitar as perdas dos nutrientes, principalmente o potássio.

### **5.2 Secagem**

O material é posto para secar primeiramente ao ar, sobre superfície plástica limpa e à sombra. Posteriormente, é embalado em sacos de papel etiquetados e colocado para secar em estufa com circulação forçada de ar em temperaturas variando de  $65$  a  $70^{\circ}\text{C}$  até atingir peso constante. A temperatura não ultrapassa  $70^{\circ}\text{C}$ , para se evitar a perda de nutrientes.

### **5.3 Moagem**

A moagem é realizada em moinhos tipo Willey, com facas e câmara de aço inoxidável e com peneiras de 0,5 ou 1mm de diâmetro (20-40*mesh*), visando assegurar a homogeneização da amostra.

No caso de materiais ricos em óleos e resinas, faz-se a maceração em *gal*. As amostras com grande volume são trituradas previamente com picadeira ou moinho de martelo.

### **5.4 Armazenagem**

O armazenamento das amostras é realizado em sacos ou frascos plásticos, identificados com o número do laboratório.

## 6 LAVAGEM DA VIDRARIA

Considerando que as determinações realizadas no laboratório de tecidos vegetais são de alta sensibilidade e que os trabalhos são de baixas concentrações de nutrientes, procedimentos devem ser adotados a fim de se evitar possíveis contaminações, que podem invalidar a análise do material. Então, cuidados especiais são tomados, como o de separar a vidraria utilizada para determinadas rotinas especiais, com, por exemplo, lodo de esgoto, e na fase de enxágüamento dos tubos.

Os seguintes procedimentos são utilizados na lavagem:

- lavar a vidraria em água corrente por duas vezes;
- imergi-la em solução de ácido nítrico 5 a 10% (v/v);
- enxaguar abundantemente em água ultra pura ( $18,3M\Omega\text{cm}^1$ ).

Quando os tubos de digestão apresentam resíduos ou crostas, são inicialmente lavados em água corrente e imersos em solução de detergente neutro a 5%, escovados até a completa eliminação dos resíduos e lavados com água corrente. Em seguida, são imersos em uma cuba plástica, com solução de ácido nítrico a 5% (v/v) por aproximadamente 48 horas, seguido de enxágüe por várias vezes, com água ultra pura.

As vidrarias não aferidas são colocadas para secar em estufa à temperatura entre 50 e 60°C e as aferidas são secas ao ar, em local protegido da poeira.

### 6.1 Materiais e equipamentos

- cubas plásticas e escovas de diversos tamanhos;
- estufa com controle de temperatura.

### 6.2 Reagentes e soluções

- detergente neutro;
- ácido nítrico.

## **7 SOLUBILIZAÇÃO (DIGESTÃO)**

A decomposição do tecido vegetal, visando a determinação dos nutrientes essenciais às plantas, é realizada por via seca ou através da solubilização com ácidos nítrico e perclórico.

### **7.1 Via seca**

#### **7.1.1 *Princípio***

A amostra de tecido vegetal é incinerada em mufla elétrica a uma temperatura entre 500 e 550°C. A cinza resultante é dissolvida em solução diluída ácida de ácido nítrico. O extrato resultante é utilizado para determinação de B e Mo.

#### **7.1.2 *Materiais e equipamentos***

- mufla elétrica com controle de temperatura;
- balança analítica;
- cadinho de porcelana.

#### **7.1.3 *Reagentes e soluções***

- HNO<sub>3</sub>.

#### **7.1.4 *Procedimentos***

- transferir 500mg de amostra para cadinho de porcelana;
- levar à mufla elétrica com temperatura controlada;
- aumentar gradativamente a temperatura para 500 a 550°C, por 2 a 4 horas, até a obtenção de cinza branca. A cinza resultante deste processo é dissolvida em 25mL de HNO<sub>3</sub> 0,1mol L<sup>-1</sup>.

## **7.2 Via úmida**

### **7.2.1 Solubilização nítrico perclórica**

#### **7.2.1.1 Princípio**

As amostras são solubilizadas com ácidos nítrico (65%) e perclórico (70%). Este método é realizado para determinação dos elementos P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn.

#### **7.2.1.2 Materiais e equipamentos**

- capela de exaustão;
- balança analítica;
- bloco digestor para 40 tubos de digestão.

#### **7.2.1.3 Reagentes e soluções**

- ácido nítrico 65%;
- ácido perclórico 70%.

#### **7.2.1.4 Procedimentos**

- transferir 500mg de material vegetal seco e moído para tubo digestor;
- adicionar 4,0mL de ácido nítrico;
- deixar em repouso por aproximadamente 12 horas (digestão prévia);
- aquecer gradativamente até 120°C;
- permanecer nesta temperatura até cessar totalmente o desprendimento de NO<sub>2</sub> (vapor castanho). Nesta etapa, a

matéria orgânica encontra-se parcialmente digerida e o volume do ácido nítrico reduzido à metade do volume inicial;

- adicionar 2,0mL de ácido perclórico;
- aumentar a temperatura gradativamente para 180°C;
- evitar neste processo o aquecimento elevado para não haver perdas, principalmente, de fósforo e enxofre;
- colocar pequenos funis, tampando o tubo digestor, a fim de não só evitar possíveis perdas de HClO<sub>4</sub>, como também a secagem do extrato;
- manter a temperatura até se obter fumos brancos de HClO<sub>4</sub> e o extrato se apresentar incolor;
- esfriar;
- completar o volume para 25mL com água ultra pura.

## **7.2.2 Solubilização sulfúrica**

### **7.2.2.1 Princípio**

Esta técnica baseia-se na oxidação da matéria orgânica, transformando o nitrogênio orgânico em mineral (sulfato de amônio), através da ação do H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e catalisadores a quente.

### **7.2.2.2 Materiais e equipamentos**

- capela de exaustão;
- balança analítica;
- bloco digestor.

### 7.2.2.3 Reagentes e soluções

- $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado;
- $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;
- mistura catalítica:
  - pesar 180g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ;
  - dissolver em aproximadamente 1L de água ultra pura em balão aferido de 2L;
  - adicionar 18g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;
  - adicionar 600mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado;
  - deixar esfriar;
  - completar o volume;

### 7.2.2.4 Procedimentos

- pesar 0,2g da amostra moída e seca em tubos para digestão de 50mL;
- adicionar 15mL de mistura ácida de sulfatos;
- proceder à digestão, por 1 hora ou mais em bloco digestor, aumentando a temperatura gradativamente até cerca de  $335^\circ\text{C}$ ;
- deixar esfriar, após a completa digestão da matéria orgânica, caracterizada por um líquido incolor ou levemente esverdeado;
- determinar o teor de nitrogênio.

## **8 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS**

### **8.1 Nitrogênio**

A determinação do nitrogênio pode ser realizada através da solubilização sulfúrica seguida do método semi-micro Kjeldahl ou com a amostra sólida, no analisador elementar. Neste caso, é determinado o N total.

#### **8.1.1 *Semi-micro Kjeldahl***

##### **8.1.1.1 *Princípio***

Técnica de solubilização úmida, seguida por destilação a vapor e titulação para a quantificação do  $\text{NH}_4$ . A solubilização sulfúrica ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  + catalisadores) transforma proteína e aminoácidos do tecido vegetal em  $\text{N-NH}_4^+$  que é destilado e complexado em ácido bórico com indicador misto, e titulado com solução padronizada de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  diluído.

##### **8.1.1.2 *Materiais e equipamentos***

- destilador semi-micro Kjeldahl;
- balança analítica.

##### **8.1.1.3 *Reagentes e soluções***

- ácido bórico a  $20\text{g L}^{-1}$ :
  - pesar 20g de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ;
  - adicionar 800mL de água destilada, agitando até dissolver o sal;

- adicionar 15mL de verde de bromocresol a  $0,1\text{gL}^{-1}$ , 6mL de vermelho de metila a  $0,1\text{g L}^{-1}$  e 2mL de hidróxido de sódio a  $0,1\text{mol L}^{-1}$ , após dissolução;
- completar para 1L com água destilada;
- verde de bromocresol  $1\text{gL}^{-1}$ :
  - pesar 0,1g;
  - dissolver em álcool etílico, completando o volume para 100mL;
- vermelho de metila  $1\text{gL}^{-1}$ :
  - pesar 0,1g;
  - dissolver em álcool etílico, completando o volume para 100mL;
- solução estoque de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :
  - transferir 28mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado p.<sup>a</sup>, para balão volumétrico de 1L;
  - completar com água ultra pura;
- solução estoque de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,014\text{molL}^{-1}$ :
  - adicionar 100mL da solução estoque em balão volumétrico de 1L, completando o volume. Esta solução deve ser padronizada com solução de NaOH  $0,01\text{molL}^{-1}$ , preparada a partir de ampolas de TITRISOL<sup>®</sup>;
- NaOH  $13\text{molL}^{-1}$ :
  - pesar 520g de NaOH;
  - dissolver em 1.000mL de água ultra pura;
- álcool etílico 99°.

#### 8.1.1.4 *Procedimentos*

- destilação e titulação:
  - transferir todo o extrato digerido para o destilador semi-micro Kjeldahl;
  - conectar um erlernmeyer de 50mL, contendo 10mL da solução de  $\text{H}_3\text{BO}_3$   $20\text{gL}^{-1}$  com a mistura de indicadores, na extremidade de refrigeração do destilador;
  - adicionar gradativamente 10mL de  $\text{NaOH}$   $13\text{molL}^{-1}$  ao digerido;
  - proceder à destilação até atingir um volume de 30mL;
  - retirar o frasco e titular com solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,014\text{molL}^{-1}$ , até a mudança da cor para rosa. Uma prova em branco deve ser levada conjuntamente com as amostras.

#### 8.1.1.5 *Cálculo*

$$\text{N-NH}_4 \text{ g kg}^{-1} = (\text{Vol}_A - \text{Vol}_B) \times 1,4$$

Onde:

$\text{Vol}_A$  = volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gasto na amostra (ml);

$\text{Vol}_B$  = volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gasto na prova em branco (ml).

### 8.1.2 *Analísador elementar*

#### 8.1.2.1 *Princípio*

A técnica baseia-se no método de Pregal e Dumas, onde as amostras são queimadas em um ambiente de oxigênio puro, e os gases resultantes desta combustão são carregados por hélio de alta pureza (um gás inerte) até a zona de detecção.

#### 8.1.2.2 *Materiais e equipamentos*

- analisador elementar Perkin-Elmer CHNS/OPEZ 400 Series.

#### 8.1.2.3 *Reagentes e soluções*

- oxigênio de alta pureza;
- hélio de alta pureza.

#### 8.1.2.4 *Procedimentos*

As amostras, encapsuladas em cadinhos de estanho, são inseridas na zona de combustão do equipamento, e, na presença de excesso de oxigênio e dos reagentes de combustão, são totalmente queimadas, formando os gases CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e N<sub>2</sub>. Em seguida, são carregadas pelo gás inerte (He) até a zona de controle gasoso. Nesta área, os gases formados são encerrados em uma câmara fechada, onde são rapidamente misturados e mantidos em condições controladas de pressão, temperatura e volume. Após a homogeneização, a câmara de mistura é despressurizada e os gases vão para uma coluna na zona de separação do instrumento. Nesta etapa, utiliza-se a técnica de cromatografia frontal, onde há a retenção seletiva dos gases, de maneira a produzir um cromatograma de sinal estável, por etapas, como se fossem degraus, em lugar dos picos. Os gases, ao saírem da coluna cromatográfica, passam por um detetor de condutividade térmica na zona de detecção do aparelho, onde se mede, uma a uma, as mudanças da linha de base do gás carreador.

## 8.2 Fósforo

### 8.2.1 *Espectrometria com amarelo de vanadato*

#### 8.2.1.1 *Princípio*

O ânion  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  reage com molibdato ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) e vanadato ( $\text{VO}_3^{2-}$ ), em meio ácido, formando um complexo de coloração amarela que absorve a luz na região de 420nm.

#### 8.2.1.2 *Materiais e equipamentos*

- Espectrômetro UV-VIS.

#### 8.2.1.3 *Reagentes e soluções*

- $\text{H}_2\text{SO}_4$ ;
- $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24}$ ;
- $(\text{NH}_4)_2\text{VO}_3$ ;
- curva analítica de P:
  - preparar solução de P, contendo 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 $\text{mgL}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,2 $\text{molL}^{-1}$ ;
- solução de molibdato 50 $\text{gL}^{-1}$ :
  - dissolver 50g de  $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24}$  p.a. em 800mL de água quente;
  - esfriar;
  - completar o volume para 1.000mL com  $\text{H}_2\text{O}$ ;

- solução de vanadato  $2,5\text{gL}^{-1}$ :
  - dissolver 2,5g de  $(\text{NH}_4)_2\text{VO}_3$  p.a. em 500mL de água quente;
  - adicionar 350mL de  $\text{HNO}_3$  65%;
  - esfriar;
  - completar o volume para 1.000mL com água ultra pura;
  - misturar em partes iguais as soluções de molibdato e vanadato.

Observação: as duas soluções são misturadas apenas na hora do uso.

#### 8.2.1.4 *Procedimentos*

- pipetar 5,0mL do extrato da solubilização nítrico-perclórica;
- completar o volume para 20mL com água;
- adicionar 4mL da mistura dos reagentes;
- efetuar, após 5 minutos, a leitura no espectrômetro a 420nm, construindo a curva analítica e estimando a concentração de P no extrato solubilizado.

#### 8.2.1.5 *Cálculo*

$$\text{Pgkg}^{-1} = \text{leitura em mg L}^{-1} \times 0,2$$

## 8.3 Potássio e Sódio

### 8.3.1 *Espectrometria de chama de emissão*

#### 8.3.1.1 *Princípio*

O método é baseado na atomização das partículas da solução através da projeção da solução sobre uma chama. Há uma excitação dos átomos, isto é, o deslocamento dos elétrons para níveis energéticos mais elevados; quando os átomos voltam ao nível energético normal, há emissão da energia absorvida na forma de radiações. Os átomos excitados dos nutrientes potássio e sódio, emitem luz a certos comprimentos de onda que são característicos para aquele elemento (entre 766 e 767nm para o K e 589 e 589,6nm para o Na). Como a intensidade da luz emitida por cada nutriente depende da concentração de seus átomos, a medida possibilita sua determinação quantitativa.

#### 8.3.1.2 *Materiais e equipamentos*

- fotômetro de chama;
- estufa com temperatura controlada;
- balança analítica.

#### 8.3.1.3 *Reagentes e soluções*

- KCl p.a;
- HClO<sub>4</sub>;
- NaCl;
- solução estoque de K (1.000mg L<sup>-1</sup> de K):
  - dissolver 1,9067g de KCl p.a., seco em estufa a 100°C por 2 horas, em água ultra pura, completando o volume a 1.000mL;

- armazenar em frasco de polietieno sob refrigeração;
- curva analítica de K:
  - pipetar 0,8mL de HClO<sub>4</sub>, 0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 5,0mL da solução estoque (1.000mg L<sup>-1</sup> de K), em balões volumétricos de 100mL, completando o volume com água deionizada. Estas soluções contêm, respectivamente, 0,0; 10,0; 20,0; 30,0 e 50,0mgL<sup>-1</sup> de K;
- solução estoque de sódio (1.000mgL<sup>-1</sup> de Na):
  - dissolver 2,5421g de NaCl p.a., seco em estufa a 200°C por 24 horas, em água ultra pura, completando o volume a 1.000mL;
  - armazenar em frasco de polietieno sob refrigeração;
- solução padrão de sódio (100mgL<sup>-1</sup> de Na):
  - transferir 100mL da solução estoque 1.000mgL<sup>-1</sup> de Na para balão de 1.000mL; completando o volume com água ultra pura;
  - armazenar em frasco de polietieno sob refrigeração;
- curva analítica Na:
  - pipetar, em balões volumétricos de 100mL, 0,8mL de HClO<sub>4</sub>, 0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 7,0 e 10,0mL da solução estoque (100mgL<sup>-1</sup> de Na), completando o volume com água ultra pura. Estas soluções contêm, respectivamente, 0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 7,0 e 10,0mgL<sup>-1</sup> de Na.

#### 8.3.1.4 *Procedimentos para determinação de K*

- diluir o extrato obtido na solubilização nítrico-perclórica, para que a concentração de K da solução fique dentro da curva padrão preparada. Geralmente, este extrato é diluído 10 vezes, na proporção 1:9, usando uma parte de extrato para nove partes de água ultra pura;
- calibrar o fotômetro com os padrões 0 e 50mgL<sup>-1</sup> K, respectivamente, para as leituras 0 e 100;
- proceder às leituras dos demais padrões, quando aparelho estabilizar;
- proceder a leitura da curva analítica obtendo a respectiva equação e a leitura das amostras.

#### 8.3.1.5 *Procedimentos para determinação de Na*

- a determinação de Na deverá ser realizada diretamente no extrato obtido por solubilização nítrico-perclórica;
- calibrar o fotômetro com os padrões 0 e 10mgL<sup>-1</sup> Na, respectivamente, para as leituras 0 e 100;
- realizar às leituras dos demais padrões, quando da estabilização do aparelho;
- proceder a leitura da curva padrão obtendo a respectiva equação e as leituras das amostras.

Observação: mesmo na chama de propano, pode haver ionização do potássio. Para suprimir esse efeito, adiciona-se sódio nos padrões e nas amostras, na concentração de 0,1g L<sup>-1</sup>.

#### 8.3.1.6 *Cálculo para determinação de potássio*

$$K \text{ g kg}^{-1} = \text{leitura em mgL}^{-1} \times 0,5$$

### 8.3.1.7 Cálculo para determinação de sódio

$$\text{Na g kg}^{-1} = \text{leitura em mgL}^{-1} \times 50$$

## 8.4 Cálcio e Magnésio

Os nutrientes são determinados por espectrometria de absorção atômica e, mais recentemente, por espectrometria de emissão atômica com indução de plasma (ICP), com bons resultados.

### 8.4.1 Espectrometria de absorção atômica

#### 8.4.1.1 Princípio

Na técnica de espectrometria de absorção atômica (EAA), a solução amostra é aspirada e nebulizada em uma chama ar-acetileno ou óxido nitroso-acetileno e convertida em vapor atômico. Alguns destes átomos serão termicamente excitados pela chama, mas a maioria deles permanecerá em seu estado fundamental. Para serem excitados, estes átomos precisam absorver radiação específica proveniente de uma lâmpada de cátodo oco, que emite radiação no mesmo comprimento de onda que será absorvido por eles, na chama. Os metais das soluções aspiradas na chama a 2.000-2.500°C transformam-se em seu estado fundamental. O átomo de cada elemento químico absorve a energia em um comprimento de onda definida. A quantidade de energia absorvida é proporcional à concentração da solução. No extrato resultante da oxidação do material vegetal pela digestão nítrico-perclórica, o Ca e o Mg são determinados por este método, utilizando-se lâmpada de cátodo oco. Para determinação destes elementos, é necessária a adição de lantânio e estrôncio para controlar a interferência de íons como fosfato, sulfato e alumínio.

#### 8.4.1.2 *Materiais e equipamentos*

- espectrômetro de absorção atômica;
- lâmpada de cátodo oco de Ca e Mg.

#### 8.4.1.3 *Reagentes e soluções*

- $\text{La}_2\text{O}_3$ ;
- $\text{HNO}_3$ ;
- TITRISOL®;
- solução de lantânio  $1,14\text{gL}^{-1}$ :
  - transferir  $1,14\text{g}$  de  $\text{La}_2\text{O}_3$  para frasco de  $1.000\text{mL}$ ;
  - adicionar solução de  $\text{HNO}_3$   $100\text{mL}^{-1}$  até total dissolução do óxido;
  - completar o volume com água ultra pura;
- curva analítica de Ca e Mg:
  - preparar, a partir da solução TITRISOL® de Ca e Mg  $1.000\text{mg L}^{-1}$ , soluções com misturas de Ca e Mg:  $0,0$  e  $0,0$ ;  $1,0$  e  $0,2$ ;  $2,0$  e  $0,4$  e  $4,0$  e  $0,8\text{mgL}^{-1}$ , respectivamente, em soluções ácidas.

#### 8.4.1.4 *Procedimentos*

- pipetar  $1,0\text{mL}$  da solução do extrato obtido através da digestão nítrico-perclórica, para copo de polipropileno;
- completar o volume para  $20\text{mL}$  com água ultra pura (alíquota A);
- retirar  $1,0\text{mL}$  da alíquota A para tubo de ensaio;
- adicionar  $4,0\text{mL}$  da solução de lantânio a  $1,14\text{gL}^{-1}$ ;
- determinar Ca e Mg no espectrômetro de absorção atômica.

#### 8.4.1.5 Cálculos para determinação de Ca

$$\text{Ca g kg}^{-1} = \text{leitura mgL}^{-1} \times 5$$

#### 8.4.1.6 Cálculos para determinação de Mg

$$\text{Mg g kg}^{-1} = \text{leitura mgL}^{-1} \times 5$$

### 8.5 Enxofre

#### 8.5.1 Turbidimetria

##### 8.5.1.1 Princípio

Este método tem como base a turbidez provocada pela precipitação do íon sulfato pelo cloreto de bário, na forma de sulfato de bário ( $\text{BaSO}_4$ ). Essa turbidez é quantificada espectrometricamente.

Observação: a adição de gelatina ao cloreto de bário permite que o precipitado mantenha-se em suspensão.

##### 8.5.1.2 Materiais e equipamentos

- espectrômetro UV-VIS.

##### 8.5.1.3 Reagentes e soluções

- $\text{BaCl}_2$  p.a.;
- $\text{K}_2\text{SO}_4$  p.a.;
- HCl p.a.;

- solução estoque de S (contendo  $1.000\text{mgL}^{-1}$  de S):
  - pesar 5,434g de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  p.a., seco em estufa,
  - dissolver em água ultra pura;
  - completar o volume para 1.000mL;
- curva analítica de sulfato:
  - adicionar, em balões volumétricos de 100mL, respectivamente, 0,0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0 e 5,0mL da solução estoque de S;
  - completar o volume com água ultra pura;
- solução de HCl  $6\text{molL}^{-1}$  (contendo  $20\text{mgL}^{-1}$  de S):
  - dissolver 0,1087gde  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , seco previamente em estufa, em 200mL de água ultra pura;
  - adicionar 500mL de HCl p.a.;
  - agitar até completa dissolução do sal;
  - completar o volume para 1.000mL com água ultra pura.

#### 8.5.1.4 Procedimentos

- pipetar 2,0mL do extrato obtido na digestão;
- completar o volume para 20mL com água deionizada;
- pipetar alíquota de 10mL para tubo de 30mL, adicionando 1,0mL de HCl  $6\text{molL}^{-1}$  e 0,5g de  $\text{BaCl}_2$ ;
- agitar vigorosamente por 30 segundos;
- efetuar leitura, após exatos 5 minutos cronometrados, no espectrômetro, em comprimento de onda de 420nm ou no turbidímetro;
- construir a curva analítica e estimar a concentração de S.

Observação: a leitura deve ser realizada impreterivelmente após 5 minutos, uma vez que o precipitado de  $\text{BaSO}_4$  decanta-se rapidamente.

#### 8.5.1.5 *Cálculo*

$$S \text{ (mgL}^{-1}\text{)} = \text{leitura mgL}^{-1} \times 0,5$$

### 8.6 **Cobre, Ferro, Manganês e Zinco**

Os nutrientes cobre, ferro, manganês e zinco são determinados por espectrometria de absorção atômica e, mais recentemente, por Espectrometria de Emissão Atômica com Indução de Plasma (EEA-ICP).

#### 8.6.1 *Espectrometria de absorção atômica*

##### 8.6.1.1 *Princípio*

O tecido vegetal é solubilizado pela via úmida (nitríco-perclórica) e a determinação dos elementos é realizada diretamente no extrato por espectrometria de absorção atômica. As interferências químicas ou de ionização são desprezíveis neste método.

##### 8.6.1.2 *Materiais e equipamentos*

- espectrômetro de absorção atômica;
- lâmpada de cátodo oco de Cu, Fe, Mn e Zn;
- balança analítica.

### 8.6.1.3 Reagentes e soluções

- HCl;
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a.;
- CuSO<sub>4</sub>.5 H<sub>2</sub>O;
- Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO)<sub>4</sub> (sulfato ferroso amoniacal);
- ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O;
- MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O;
- HNO<sub>3</sub>;
- HClO<sub>4</sub>;
- padrão TITRISOL<sup>®</sup>;
- solução padrão de cobre (contendo 100mg L<sup>-1</sup> de Cu):
  - dissolver 0,393g de CuSO<sub>4</sub>.5 H<sub>2</sub>O em solução de HNO<sub>3</sub> 0,2M (9mL de HNO<sub>3</sub> concentrado por L de água);
- curva analítica de cobre:
  - transferir alíquotas de 0,0; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5 e 2,0mL para balões volumétricos de 100mL, a partir da solução de 100mg L<sup>-1</sup> de Cu;
  - adicionar 10,0mL de HClO<sub>4</sub> 2,5molL<sup>-1</sup> (149,5mL de HClO<sub>4</sub> concentrado por L de H<sub>2</sub>O ultra pura);
  - completar o volume com H<sub>2</sub>O ultra pura. Estas soluções contém de 0,0 a 2,0mgL<sup>-1</sup> de cobre;
- solução estoque de ferro (contendo 100mgL<sup>-1</sup> de Fe):
  - pesar 0,702g de sulfato ferroso amoniacal Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO)<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O;
  - dissolver em 50mL de H<sub>2</sub>O ultra pura que contenha 10,0mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado;
  - completar o volume para 1.000mL com H<sub>2</sub>O ultra pura;

- solução estoque diluída de ferro (contendo  $10\text{mgL}^{-1}$  de ferro):
  - dissolver  $10,0\text{mL}$  da solução estoque;
  - completar o volume para  $100\text{mL}$  com  $\text{H}_2\text{O}$  ultra pura;
- solução estoque de zinco (contendo  $100\text{mgL}^{-1}$  de zinco):
  - pesar  $0,440\text{g}$  de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;
  - dissolver em solução de  $\text{HNO}_3$   $0,2\text{molL}^{-1}$ , completando o volume para  $1.000\text{mL}$ , com esta solução. Pode-se também usar o Zn metálico ( $10\text{mgL}^{-1}$ ) ou padrão TITRISOL®;
- curva analítica de zinco:
  - transferir, a partir da solução estoque de  $100\text{mgL}^{-1}$  de zinco, alíquotas de  $0,0$ ;  $0,5$ ;  $1,0$ ;  $1,5$ ;  $2,0$ ;  $2,5$  e  $3,0\text{mL}$  para balões volumétricos de  $100\text{mL}$ ;
  - adicionar  $10,0\text{mL}$  de  $\text{HClO}_4$   $2,5\text{molL}^{-1}$ ;
  - completar o volume com  $\text{H}_2\text{O}$  ultra pura;
- solução estoque de manganês (contendo  $100\text{mgL}^{-1}$  de Mn):
  - pesar  $0,308\text{g}$  de  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ;
  - dissolver em solução de  $\text{HNO}_3$   $0,2\text{molL}^{-1}$ , completando o volume para  $1.000\text{mL}$ . Pode-se usar Mn metálico ou padrão TITRISOL®;
- curva analítica de manganês:
  - transferir, a partir da solução padrão estoque de  $100\text{mgL}^{-1}$  de manganês, alíquotas de  $0,0$ ;  $0,5$ ;  $1,0$ ;  $2,0$ ;  $5,0$ ;  $10,0$  e  $15,0\text{mL}$  para os mesmos balões volumétricos de  $100\text{mL}$  em que se colocou as soluções padrão de uso de Cu, Fe e Zn;
  - adicionar  $10,0\text{mL}$  de  $\text{HClO}_4$   $2,5\text{molL}^{-1}$ ;
  - completar o volume com  $\text{H}_2\text{O}$  deionizada. Estas soluções

contém, respectivamente, de 0,0 a 15,0mgL<sup>-1</sup> de manganês.

#### 8.6.1.4 *Procedimentos*

- proceder às leituras no extrato nítrico-perclórico no espectrômetro de absorção atômica;
- construir as curvas analíticas e estimar as concentrações de cobre, ferro, manganês e zinco.

#### 8.6.1.5 *Cálculo*

$$\text{Leitura mgL}^{-1} \times 60 (\text{diluição}) = \text{Resultado mgL}^{-1}$$

### 8.6.2 *Espectrometria de Emissão Atômica com Indução de Plasma (EEA-ICP)*

O uso do plasma como fonte de excitação para a emissão atômica tornou-se muito importante em anos recentes. A técnica de Plasma Acoplado Indutivamente com detecção por emissão atômica passou a ser comercialmente disponível em 1974.

#### 8.6.2.1 *Princípio*

O acoplamento induzido no ICP é causado pelo efeito de um campo eletromagnético que atua sobre um fluxo de argônio com trajetória, em geral, espiral ascendente, radial ao campo eletromagnético. O argônio flui através de um tubo de quartzo, ao redor do qual há uma espiral de rádio-freqüência, tipo um solenóide, feita normalmente de cobre. A espiral é energizada por um gerador de rádio-freqüência que opera na faixa entre 5 a 75MHz, com potência entre 1 e 2kW, criando um campo eletromagnético alternado. O argônio que passa pelo tubo de quartzo é submetido a este campo magnético fortíssimo, de tal maneira

que seus átomos entram em choque, produzindo íons de argônio, elétrons livres e calor. Neste ponto, o argônio passa a ser um gás condutor de energia, característica que ele não possui à temperatura ambiente. O acoplamento propriamente dito ocorre quando se energiza o fluxo de argônio a ponto de ser possível a visualização da tocha de argônio incandescente e azulada. Este acoplamento se dá pela aplicação de uma centelha de Tesla ou centelha piloto (uma faísca como a de um aparelho Magiclick) ao fluxo de argônio energizado. O argônio é rapidamente energizado, uma vez que a centelha aplicada perturba mais ainda o sistema, fazendo com que os choques interpartículas tornem-se mais intensos, e maior quantidade de energia seja liberada. Neste ponto, tem-se uma tocha de argônio estável, com temperaturas entre 9.000 e 10.000K em seu centro.

Esta fonte de excitação apresenta grandes vantagens sobre as outras técnicas espectrométricas, uma vez que as temperaturas alcançadas propiciam maior número de transições eletrônicas que as outras técnicas de mesmo tipo. Os instrumentos atuais, providos de detectores no estado sólido (CCD), são capazes de detectar e quantificar simultaneamente até 60 elementos, com concentrações típicas entre 1 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$  com muita precisão. A alta temperatura do plasma elimina muitas das interferências químicas presentes na técnica de chama e a maioria dos elementos são prontamente excitados. A técnica é adequada para determinação de todos os elementos essenciais às plantas, mesmo os que formam óxidos (elementos refratários), como boro e fósforo, e também para elementos difíceis de serem excitados, como zinco e cádmio.

#### **8.6.2.2** *Reagentes e soluções*

- soluções padrão de Fe, Cu, Mn e Zn: concentrações de 1.000 $\text{mgL}^{-1}$ .

#### **8.6.2.3** *Procedimentos*

A calibração do equipamento é feita a partir de padrões mistos contendo concentrações crescentes dos elementos a serem analisados.

Tais concentrações são estipuladas levando-se em consideração a concentração dos elementos na solução analítica (o extrato das amostras solubilizadas), de maneira que a curva analítica abranja a faixa de concentração dos elementos nas amostras. Na Tabela 1, estão as concentrações dos elementos utilizadas na curva analítica.

**Tabela 1. Concentrações dos elementos utilizadas na curva analítica do EEA-ICP.**

Elemento	Curva analítica			λ (nm)**
	Padrão #1	Padrão #2	Padrão #3	
Fe	1,0 (20)*	5,0 (100)	10 (200)	238,204
Cu	0,1 (2,0)	0,2 (4,0)	0,4 (8,0)	324,754
Mn	1,0 (20)	2,0 (40,0)	4,0 (80)	257,610
Zn	0,1 (2,0)	0,2 (4,0)	0,4 (8,0)	213,856

\* Os valores entre parênteses referem-se ao volume, em µL, de solução 1.000mg L<sup>-1</sup> necessários o preparo de 20,00mL de padrão misto.

\*\* λ (nm): comprimento de onda da linha principal do elemento.

Após feita a calibração e todos os ajustes necessários, pode-se proceder à leitura das amostras.

## **8.7 Boro**

### **8.7.1 Azometina-H**

#### **8.7.1.1 Princípio**

Neste método, a solubilização é realizada por via seca e a determinação é baseada na formação de um complexo de coloração

amarelo resultante da reação do ácido bórico com o reagente azometina-H e determinado espectrometricamente.

#### 8.7.1.2 *Materiais e equipamentos*

- cadinho de porcelana;
- mufla;
- espectrômetro UV-VIS.

#### 8.7.1.3 *Reagentes e soluções*

- ácido ascorbico-L;
- acetato de amônio;
- EDTA (sal sódico);
- ácido acético glacial;
- azometina H;
- ácido bórico;
- HCl;
- solução de ácido ascórbico-L 10g L<sup>-1</sup>:
  - pesar 1g de ácido ascórbico-L;
  - dissolver em 100mL de água ultra pura (Solução A);
- solução tampão:
  - pesar 500g de acetato de amônio e 30g de EDTA (sal bissódico);
  - dissolver em 800mL de água ultra pura;
  - adicionar lentamente 250mL de ácido acético glacial;
  - homogeneizar;

- solução de azometina H:
  - dissolver 0,45g de azometina-H em 100mL da Solução A.

Observação: esta solução deve ser preparada semanalmente, armazenada em frasco escuro e conservada no refrigerador;

- solução estoque de boro ( $50\text{mgL}^{-1}$  de B):
  - dissolver 0,286g de ácido bórico em HCl  $0,1\text{molL}^{-1}$ ;
  - completar o volume com 1.000mL do mesmo;
  - guardar em frasco plástico;
- curva analítica:
  - pipetar para balões volumétricos de 100mL 0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0ml da solução estoque;
  - completar o volume com HCl  $0,1\text{molL}^{-1}$ , guardando em frascos plásticos. Essas soluções contêm, respectivamente, 0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0, e  $2,5\text{mgL}^{-1}$  de B;
- ácido clorídrico  $0,1\text{molL}^{-1}$ :
  - dissolver 8,3mL de HCl concentrado em 1.000mL água ultra pura;
  - guardar em frasco plástico.

#### 8.7.1.4 *Procedimentos*

- transferir para tubos de ensaio de polipropileno, uma alíquota de 2,0mL do extrato proveniente da amostra;
- adicionar 2,0mL da solução tampão;
- homogeneizar;
- adicionar 2,0mL da solução de azometina H 4,5gL<sup>-1</sup>;
- agitar;
- transferir, após 30 minutos, as soluções amarelo-avermelhadas para cubetas do espectrômetro;
- proceder às leituras em filtro azul, em 420nm, acertando o zero do aparelho com HCl 0,1molL<sup>-1</sup>;
- construir curva analítica;
- estimar a concentração de B.

#### 8.7.1.5 *Cálculo*

$$B \text{ mg kg}^{-1} = \text{Leitura mg L}^{-1} \times 25$$

### 8.8 **Molibdênio**

#### 8.8.1 **Espectrometria de absorção atômica**

##### 8.8.1.1 *Princípio*

A solubilização processa-se por via seca. O molibdênio é complexado com o tiocianato de amônio em meio ácido. O complexo é solúvel em metil iso-butil cetona. A determinação é realizada por espectrometria de absorção atômica em chama de N<sub>2</sub>O-acetileno.

### 8.8.1.2 *Materiais e equipamentos*

- espectrômetro de absorção atômica;
- lâmpada de cátodo oco de Mo;
- queimador de óxido nitroso-acetileno;
- mufla;
- banho-maria.

### 8.8.1.3 *Reagentes e soluções*

- HCl;
- Tiocianato de amônio;
- Cloreto estanhoso;
- metil-iso butil cetona p.a;
- molibdato de sódio ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a.);
- NaOH;
- solução de HCl  $6\text{molL}^{-1}$ :
  - pesar 560mL de HCl concentrado;
  - dissolver em 1.000mL de água ultra pura;
- solução de HCl  $1,0\text{molL}^{-1}$ :
  - dissolver 86mL de HCl concentrado em 1.000mL de água ultra pura;
- solução aquosa de tiocianato de amônio a  $50\text{gL}^{-1}$ :
  - dissolver 25,0g do sal em 500mL de água ultra pura;
- solução de cloreto estanhoso a  $100\text{mgL}^{-1}$ :
  - dissolver 10g de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  com 20mL de solução de HCl  $6\text{molL}^{-1}$  por aquecimento;

- adicionar, após esfriamento, 100mL de água ultra pura;
- filtrar, se ficar turvo;
- preparar diariamente;
- solução estoque de molibdênio (contendo  $100\text{mgL}^{-1}$  de Mo):
  - dissolver 242mg de molibdato de sódio ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a.) em um pequeno excesso de  $\text{NaOH } 1\text{molL}^{-1}$ ;
  - diluir a cerca de 450mL com água ultra pura;
  - acidular ligeiramente com  $\text{HCl } 1,0\text{molL}^{-1}$ ;
  - diluir a 500mL;
- solução estoque diluída de molibdênio (contendo  $0,5\text{mgL}^{-1}$  de Mo):
  - diluir 5,0mL da solução estoque ( $100\text{mgL}^{-1}$  de Mo) a 1.000mL com água ultra pura;
- curva analítica:
  - transferir para funis de separação de 125mL, 1, 3, e 5mL da solução contendo  $0,5\text{mgL}^{-1}$  de Mo (0,5; 1,5 e  $2,5\mu\text{g}$  de Mo);
  - adicionar 10mL da solução de  $\text{HCl } 6\text{molL}^{-1}$  e água ultra pura até aproximadamente 45mL;
  - adicionar 3mL de solução de tiocianato de amônio a  $50\text{mgL}^{-1}$ ;
  - realizar a leitura, em filtro verde, em comprimento de onda de 470nm, acertando o zero com água deionizada.

#### 8.8.1.4 Procedimentos

- adicionar 3mL de solução de tiocianato de amônio a  $50\text{gL}^{-1}$  e 1mL de solução de cloreto estanoso a  $100\text{gL}^{-1}$ , homogeneizando após a adição de cada reagente;

- extrair o complexo por agitação durante 1 minuto, com 5mL de metil iso-butil cetona;
- separar a fase orgânica;
- proceder à leitura no espectrômetro em escala expandida dez vezes, usando o solvente para acertar a leitura zero;
- usar chama de óxido nitroso-acetileno.

#### 8.8.1.5 Cálculo

$$\text{Mo mg kg}^{-1} = \text{Leitura } \mu\text{g L}^{-1} \times 0,20$$

## **9 UNIDADES E EXPRESSÃO DOS RESULTADOS**

As unidades utilizadas nesta publicação seguem as recomendações da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo para a adoção do Sistema Internacional e têm o objetivo de uniformização das mesmas (Cantarella & Andrade, 1992).

---

## 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CANTARELLA, H; ANDRADE, J. C. O sistema internacional de unidades e a ciência do solo. **Boletim informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 91-102, 1992.

CARMO, C. A. F. S. do; NOGUEIRA, A. R. A.; OLIVEIRA, A. S.; ALMEIDA, D. G.; FERNANDES, F. D.; PITTA, G. V. E.; CARLOS, G. M.; OLIVEIRA, H.; MAMÃO, J. B.; ARMELIN, M. J. A.; SALDANHA, M. F. C.; MYAZAWA, M.; SCRAMIM, S.; BARRETO, W. O.; RUFINI, Y. A. Tecidos vegetais. In: NOGUEIRA, A. R. A.; MACHADO, P. L. O.; CARMO, C. A. F. S. do; FERREIRA, J. R. (Ed.) **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. 1. Coleta, acondicionamento e preparo de amostras. São Carlos: EMBRAPA - Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste, 1998. p. 32 - 42.

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

OSAKI, F. **Calagem e adubação**. 2. ed. atual. e aum. Campinas: Instituto Brasileiro de Ensino Agrícola, 1991. 503 p.