

"Este Exemplar Corresponde a Redação Final da Tese Defendida por  
José Roberto de Oliveira Torres, e Aprovada pela Comissão Julgadora".

*Campinas, 21 de dezembro de 1989*

*Matthieu Tubino*

ANÁLISE QUÍMICA DE FOLHAS DE PLANTAS APÓS EXTRAÇÃO

AGUO - ALCOÓLICA

Tese de Doutorado

José Roberto de Oliveira Torres

Orientador: Prof. Dr. Matthieu Tubino

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA

ANÁLISE QUÍMICA DE FOLHAS DE PLANTAS  
APÓS EXTRAÇÃO AQUO - ALCOÓLICA

TESE DE DOUTORADO

José Roberto de Oliveira Torres

Orientador: Prof.Dr. Matthieu Tubino

Campinas, São Paulo

1989

## PREFÁCIO

A idéia inicial, para este trabalho de tese, era o estudo da viabilidade da extração aquo-alcoólica, para a determinação de macro e micro nutrientes minerais em folhas de plantas.

Iniciaram-se as pesquisas numa situação precária, onde o fotômetro de chama e a absorção atômica disponíveis mal funcionavam.

Felizmente, foi adquirido nesta época, pelo Instituto de Química, e pelo professor Roy Bruns, um fotômetro de chama novo, que pode ser utilizado para a determinação do potássio. O absorção atômica foi consertado mas, devido a sua precariedade só foi possível trabalhar com o cálcio.

Dificuldades com o magnésio, independentes do equipamento, levaram-nos a deixar, também, este elemento para outra oportunidade.

Dentro da realidade do momento em que esta pesquisa foi realizada, resolveu-se trabalhar, dentro do projeto de extração aquo-alcoólica, com potássio, cálcio e fósforo.

Para a continuação do trabalho de tese, optou-se pelo desenvolvimento de um método turbidimétrico, para a determinação do potássio, o qual foi, a seguir, adaptado para análise em fluxo.

Dentro deste contexto, a tese aqui apresentada, consiste de três partes distintas, embora interligadas, que refletem as nossas condições de pesquisa na época em que este trabalho experimental foi realizado.

Surge daí, também, a opção de escrevê-la em módulos, separando, inclusive, as citações bibliográficas.

Como orientador deste trabalho, sinto não ter podido oferecer melhores condições ao doutorando. Contudo, resta a esperança de que, a maneira como esta tese foi elaborada, tenha contribuído de modo mais efetivo para prepará-lo para a realidade da pesquisa no Brasil.

Matthieu Tubino

Dedico especialmente este trabalho:

Aos meus pais Luiz e Judith.

À minha esposa Tecla.

Às minhas filhas Andréa e Cynthia.

## MEUS AGRADECIMENTOS:

Ao Prof. Dr. Matthieu Tubino, pela eficiente orientação e pela sugestão do tema.

À Universidade Federal do Piauí, pela oportunidade que me deu de realizar o curso:

À CAPES/PICD, pelo suporte financeiro.

Aos colegas, professores e funcionários da UNICAMP, pela ótima convivência ao longo destes anos.

Ao Prof. Dr. Célio Pasquini, em particular, pelas valiosas sugestões.

Ao Prof. Dr. Roy Bruns, pelo empréstimo do fotômetro de chama.

Ao funcionário Ricardo Sobral Arcoverde Coutinho, da UFPI, pela eficiência nos trabalhos datilográficos.

## RESUMO

Este trabalho está dividido em três partes.

Primeiramente foi estudada a possibilidade de analisar nutrientes em tecidos de folhas de plantas, após extração com solvente água-etanol. Foram feitas determinações de potássio, cálcio e fósforo em amostras de origens diversas. A comparação dos resultados obtidos por este e por outros métodos, indica a viabilidade do processo desenvolvido neste estudo. O potássio foi determinado por fotometria de chama, o cálcio por absorção atômica e o fósforo pelo método do azul de molibdênio.

A segunda parte, refere-se à determinação turbidimétrica de potássio com tetrafenilborato. Apesar deste reagente ser conhecido há mais de quarenta anos, não se encontrou na literatura, método turbidimétrico seguro, para este elemento. O processo desenvolvido foi aplicado a análises de potássio em folhas de plantas, após extração aquo-alcoólica. Os resultados foram comparados com outros obtidos por fotometria de chama. Estudou-se a interferência de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{NH}_4^+$ .

Finalmente, estudou-se um método turbidimétrico de fluxo, para a determinação de potássio, que foi testado para análise de plantas, águas minerais, e medicamentos.

## ABSTRACT

This work is composed of three different parts. Initially the viability of the analysis of potassium, calcium and phosphorus in leaf tissues, after aquo-ethanolic extraction, was studied. Good results that agree with those of other methods were obtained. The potassium was determined by flame photometry, the calcium by atomic absorption and the phosphorus by the molybdenum - blue method.

The second part concerns to the turbidimetric determination of potassium with tetraphenylborate (TPB). Despite the fact that this reagent has been known for more than forty, the literature does not have a secure turbidimetric method that uses this reagent for the determination of potassium. The analysis were done in plants after aquo-ethanolic extraction. The results were compared with others obtained by flame photometry. The interference of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{NH}_4^+$  was studied.

Finally the turbidimetric method was applied to flow injection analysis that was tested for plants, mineral waters and medicines, giving very good results.

## ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	
1. INTRODUÇÃO:.....	01
Referências Bibliográficas.....	03
2. A DESTRUIÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA.....	04
Referências Bibliográficas.....	07
3. INTERFERENTES EM FOTOMETRIA DE CHAMA.....	08
Referências Bibliográficas.....	11
4. DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO EM EXTRATOS DE PLANTAS.....	12
4.1. Considerações Gerais.....	12
4.2. Estudo da Influência do Teor em Etanol nos Solventes, Tempo de Refluxo e Quantidade de Material na Extração do Potássio.....	14
4.2.1. Influência do Teor em Etanol.....	14
4.2.2. Influência do Tempo de Refluxo na Extração de Potássio....	15
4.2.3. Influência da Quantidade de Material a ser Refluxado na Extração do Potássio.....	16
4.3. Extração em Etanol-Água.....	17
4.4. Tratamento da Amostra por Calcinação.....	17
4.5. Traçado da Curva de Calibração e Análise dos Extratos Obtidos....	17
4.6. Avaliação dos Resultados Mediante o Teste-T.....	21
4.7. Comparação dos Resultados Obtidos por Extração Alcoólica e Calcinação Através do Teste-T.....	23
4.8. Conclusões.....	24
Referências Bibliográficas.....	25
5. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FÓSFORO EM EXTRATOS DE PLANTAS....	26
5.1. Considerações Gerais.....	26
5.2. Parte Experimental.....	28
5.2.1. Reagentes.....	28
5.2.2. Equipamentos.....	28
5.2.3. Método do Azul de Molibdênio.....	28
5.2.4. Estudo da Influência da Quantidade de Amostra na Efi- ciência da Extração.....	30



5.2.5.	Estudo da Influência do Teor em Etanol na Eficiência da Extração.....	31
5.2.6.	Estudo da Influência do Tempo de Refluxo na Eficiência da Extração.....	32
5.2.7.	Aplicação do Método de Extração Desenvolvido à Análises de Folhas de Plantas.....	33
5.3.	Tratamento Estatístico dos Resultados Obtidos.....	35
5.4.	Conclusões.....	37
	Referências Bibliográficas.....	38
6.	DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM FOLHAS DE PLANTAS POR ABSORÇÃO ATÔMICA APÓS EXTRAÇÃO COM ETANOL-ÁGUA.....	39
6.1.	Considerações Gerais.....	39
6.2.	Desenvolvimento Experimental.....	40
6.2.1.	Construção da Curva de Calibração.....	40
6.2.2.	Determinação de Cálcio nos Extratos Obtidos por Extração e Calcinação.....	43
6.3.	Análise Estatística dos Resultados Obtidos.....	44
6.4.	Conclusões.....	47
	Referências Bibliográficas.....	48
7.	DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA DE POTÁSSIO USANDO TETRAFENILBORATO DE SÓDIO.....	49
7.1.	Considerações Gerais.....	49
7.2.	Desenvolvimento Experimental.....	53
7.2.1.	Reagentes e Equipamentos.....	53
7.2.2.	Estudo da Estabilidade do Precipitado.....	54
7.2.3.	Estudo da Influência da Concentração do Reagente no Método Turbidimétrico.....	55
7.2.4.	Estudo da Influência do Glicerol como Estabilizante no Método Turbidimétrico.....	56
7.2.5.	Traçado da Curva de Calibração.....	57
7.3.	Estudo de Interferentes no Método Turbidimétrico.....	60
7.4.	Aplicação do Método Turbidimétrico na Determinação de Potássio em Extratos de Plantas.....	62
7.5.	Análise dos Resultados Obtidos na Determinação de Potássio em Extratos de Plantas.....	62

7.5. Análise dos Resultados Obtidos na Determinação de Potássio	
Através dos Teste T e t.....	64
7.5.1. Avaliação Mediante o Teste-T.....	64
7.5.2. Avaliação dos Resultados Mediante o Teste-t.....	66
Referências Bibliográficas.....	67
S. DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA DE POTÁSSIO POR ANÁLISE DE INJEÇÃO EM	
FLUXO.....	69
8.1. Considerações Gerais.....	69
8.2. Influência do Comprimento da Bobina.....	71
8.3. Influência do Volume Injetado de Amostra.....	73
8.4. Estudo da Influência do Fluxo Total.....	74
8.5. Influência de Concentração do Reagente.....	75
8.6. Construção de Curva de Calibração.....	77
8.7. Testes de Aplicação do Método.....	79
8.8. Conclusões.....	81
Referências Bibliográficas.....	82

## LISTA DE TABELAS

<u>TABELA 4.1.</u>	TEORES DE POTÁSSIO (%) OBTIDOS PARA AMOSTRAS DE FOLHAS DE SOJA E DE CAFÉ, BEM COMO PARA OS PADRÕES IL 6 E IL 8.....	19
<u>TABELA 4.2.</u>	TEORES DE POTÁSSIO (%) OBTIDOS PARA AMOSTRAS DE FOLHAS DE OUTROS VEGETAIS ANALISADOS.....	20
<u>TABELA 4.3.</u>	APLICAÇÃO DO TESTE-T AOS RESULTADOS DE ANÁLISES DE FOLHAS DE SOJA E CAFÉ BEM COMO AOS PADRÕES IL 6 E IL 8.....	22
<u>TABELA 4.4.</u>	AValiação DOS RESULTADOS ENCONTRADOS PARA O TEOR DE POTÁSSIO (%) MEDIANTE O TESTE-t.....	23
<u>TABELA 5.1.</u>	RESULTADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM EXTRATOS DE FOLHAS DE PLANTAS PELO MÉTODO DO AZUL DE MOLIBDÊNIO.....	34
<u>TABELA 5.2.</u>	VALORES DOS DESVIOS PADRÕES E RESULTADOS DO TESTE-T , APLICADO AOS RESULTADOS DAS ANÁLISES DE FÓSFORO DE DIFERENTES AMOSTRAS DE FOLHAS DE PLANTAS.....	36
<u>TABELA 6.1.</u>	DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM EXTRATOS ALCOÓLICOS DE FOLHAS DE PLANTAS POR ABSORÇÃO ATÔMICA.....	41
<u>TABELA 6.2.</u>	DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM EXTRATOS RESULTANTES DA CALCINAÇÃO DE FOLHAS DE PLANTAS POR ABSORÇÃO ATÔMICA.....	42
<u>TABELA 6.3.</u>	APLICAÇÃO DO TESTE-T AOS RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES DE CÁLCIO EM DIFERENTES AMOSTRAS DE FOLHAS DE PLANTAS.....	45
<u>TABELA 6.4.</u>	APLICAÇÃO DO TESTE-T AOS RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM DIFERENTES AMOSTRAS DE FOLHAS DE PLANTAS.....	46
<u>TABELA 7.1.</u>	VALOR DE ABSORVÂNCIA OBTIDAS PARA CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO DO MÉTODO TURBIDIMÉTRICO DO TETRAFENILBORATO DE SÓDIO.....	58
<u>TABELA 7.2.</u>	RESULTADOS OBTIDOS PARA O POTÁSSIO POR DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA EM AMOSTRAS DE EXTRATOS ALCOÓLICOS DE PLANTAS.....	61
<u>TABELA 7.3.</u>	TEORES DE POTÁSSIO (%) OBTIDAS A PARTIR DE EXTRATOS DE ALCOÓLICOS DE MATERIAIS DE REFERÊNCIA PELO MÉTODO TURBIDIMÉTRICO DO TETRAFENILBORATO DE SÓDIO.....	63

<u>TABELA 7.4.</u>	AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS NAS DETERMINAÇÕES DE POTÁSSIO EM EXTRATOS DE PLANTAS MEDIANTE O TESTE-T.....	65
<u>TABELA 7.5.</u>	AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO EM EXTRATOS DE PLANTAS MEDIANTE O TESTE-t.....	66
<u>TABELA 8.1.</u>	DESVIO PADRÃO RELATIVO DAS MEDIDAS DE ABSORVÂNCIA DE UMA SOLUÇÃO A 15 ppm EM POTÁSSIO A DIFERENTES COMPRIMENTOS DE BOBINA.....	71
<u>TABELA 8.2.</u>	ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO VOLUME INJETADO DE AMOSTRA, NA ALTURA DO NÍVEL E PRECISÃO DA MEDIDA.....	73
<u>TABELA 8.3.</u>	ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO FLUXO TOTAL NA ALTURA DO SINAL E NA PRECISÃO DA MEDIDA.....	74
<u>TABELA 8.4.</u>	ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO REAGENTE.....	76
<u>TABELA 8.5.</u>	TEOR DE KCl EM g/dm <sup>3</sup> EM AMOSTRAS DE MEDICAMENTOS, DE TERMINADAS POR TURBIDIMETRIA.....	79
<u>TABELA 8.6.</u>	TEOR DE POTÁSSIO (%) EM AMOSTRA DE PLANTAS, DETERMINADAS POR TURBIDIMETRIA E FOTOMETRIA DE CHAMA.....	80
<u>TABELA 8.7.</u>	TEOR DE POTÁSSIO (%) EM g/dm <sup>3</sup> PARA AMOSTRAS DE ÁGUAS MINERAIS.....	80

## LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

1.	TEOR DE POTÁSSIO NA AMOSTRA IL 6 EM FUNÇÃO DA PORCENTAGEM DE ETANOL NO SOLVENTE.....	14
2.	INFLUÊNCIAS DO TEMPO DE REFLUXO NA EXTRAÇÃO DE POTÁSSIO DA AMOSTRA IL 6.....	15
3.	INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE MATERIAL NA EXTRAÇÃO DO POTÁSSIO.....	16
4.	CURVA DA CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO POR FOTOMETRIA DE CHAMA.....	18
5.	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO PELO MÉTODO DO AZUL DE MOLIBDÊNIO.....	29
6.	ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA QUANTIDADE DE AMOSTRA NA EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO.....	30
7.	ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO TEOR EM ETANOL NA EXTRAÇÃO DE FÓSFORO DA AMOSTRA IL 6.....	31
8.	ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO TEMPO DE REFLUXO NA EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO.....	32
9.	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA A DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO POR ABSORÇÃO ATÔMICA.....	40
10.	ESTUDO DA ESTABILIDADE DO PRECIPITADO DE TETRAFENILBORATO DE POTÁSSIO.....	54
11.	INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO REAGENTE NO MÉTODO TURBIDIMÉTRICO DO TETRAFENILBORATO DE SÓDIO.....	55
12.	INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE GLICEROL NO MÉTODO TURBIDIMÉTRICO.....	56
13.	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO COM TETRAFENILBORATO DE SÓDIO.....	57
14.	DIAGRAMA DE FLUXO DE UM SISTEMA COM ZONA COALESCENTE PARA A DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA DE POTÁSSIO COM TETRAFENILBORATO DE SÓDIO.....	70

15.	INFLUÊNCIA DO COMPRIMENTO DA BOBINA NA ALTURA DO SINAL E NA ESTIMATIVA DO DESVIO PADRÃO RELATIVO.....	72
16.	INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO REAGENTE NA ALTURA DO SINAL.....	75
17.	REGISTRO EXPERIMENTAL DA CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA DE POTÁSSIO COM TETRAFENILBORATO DE SÓDIO .....	77
18.	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA DE POTÁSSIO COM TETRAFENILBORATO DE SÓDIO.....	78

## I. INTRODUÇÃO

O crescente interesse na determinação de íons metálicos, seja como elemento essencial ao desenvolvimento biológico normal, seja como fonte de perigo para a saúde, tem resultado na publicação de numerosos trabalhos tratando de métodos para a sua análise, misturados ou combinados com grandes quantidades de materiais orgânicos. Para esse objetivo, é essencial isolar o mineral constituinte após degradação ou destruição de material orgânico.

Em 1950, Schrenk e Smith<sup>1</sup>, utilizaram a técnica de excitação em chama, para a determinação de sódio e potássio em plantas.

Schrenk e Glendening<sup>2</sup> estudaram a performance de filtros de interferência em fotometria de chama, com respeito à determinação de sódio e potássio em plantas. Seus estudos incluíram o efeito de outros elementos como cálcio e magnésio sobre os materiais em análise. Para minimizar os efeitos de materiais orgânicos o procedimento foi padronizado. A calcinação, seguida de tratamento com ácido clorídrico, tende a reduzir todas as amostras a uma matriz comum e tornar a preparação de padrões um problema simples.

Em 1960, Ward e Heney<sup>3</sup>, estudaram métodos de determinação de potássio, cálcio e magnésio em plantas e compararam os resultados obtidos por fotometria de chama com as técnicas de turbidimetria e titulação com EDTA.

O tempo consumido na destruição da matéria orgânica, aliado à outros fatores, tal como a perda de elementos por volatilidade, tem levado os pesquisadores a buscarem outras técnicas de introdução de material sólido diretamente na chama. Este método de introdução da amostra sólida, diretamente da chama seria válido para a espectrometria de absorção atômica, plasma e outros. Gilbert<sup>4</sup>, propôs um método de análise de solos para a determinação de metais alcalinos e alcalinos terrosos e outros como o alumínio e o ferro, preparando uma suspensão de solo em uma mistura de glicerol e isopropanol. Mason<sup>5</sup>, em 1963, utilizando o método anterior, determinou potássio em folhas de diversas plantas, encontrando valores similares àqueles obtidos por outras técnicas.

Particularmente, para o caso do potássio, fez-se o uso de reagente tetrafenilborato de sódio em determinações de microquantidades desse elemento em

diferentes materiais. Assim é que, em 1964, Reed e Scott<sup>6</sup> determinaram potássio em extratos de solos, após precipitação com tetrafenilborato de sódio.

Em 1979, Zagatto<sup>7</sup> e outros, determinaram cálcio, magnésio e potássio em plantas com absorção atômica e emissão em chama, acoplados à técnica de injeção em fluxo contínuo.

Walsh<sup>8</sup>, publicou uma coletânea de métodos envolvendo a análise de solos e tecidos de plantas, incluindo nestas, técnicas como uso de eletrodos seletivos, espectrografia de raios X, cromatografia gasosa e análise por ativação de neutrons. As amostras tomadas para análise foram previamente tratadas por incineração e oxidação nitroperclórica.

Chapman<sup>9</sup> e outros, publicaram uma série de métodos de análise para a determinação de grande número de cátions e ânions em amostras de solos, plantas e águas.

Visando desenvolver um método rápido de tratamento de tecidos vegetais para a determinação de elementos tais como potássio, fósforo, cálcio, magnésio e sódio, pesquisou-se neste nosso trabalho, uma técnica de extração em água-etanol. Desenvolveu-se estudos no sentido de se determinar o tempo adequado de extração bem como a quantidade de material a ser extraído e a relação etanol-água. Os materiais submetidos a este procedimento, foram também tratados por incineração e oxidação para fins de comparação. Obteve-se resultados satisfatórios para os elementos potássio, fósforo e cálcio.

Finalmente, foram desenvolvidos dois métodos para determinação turbidimétrica de potássio em tecidos de plantas e outros materiais, com o reagente tetrafenilborato de sódio, sendo que um deles envolve a análise por injeção de fluxo contínuo.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. SCHRENK, W.G. e SMITH, F.M., Anal. Chem., 22, 1023, (1950).
02. SCHRENK, W.G. e GLENDENING, B.L., Anal. Chem., 27(6), 1031-1033, (1955).
03. WARD, G.M. e HEENEY, H.B., Can. J. Plant Sci., 40(4), 589-595(1960).  
595, (1960).
04. GILBERT, P.T., Anal. Chem., 34, 1025, (1962).
05. MASON, J.L., Anal. Chem., 35(7), 874-875, (1963).
06. REED, M.G. e SCOTT, A.D., Anal. Chem., 33(6), 773-775, (1961).
07. REIS, B.F., ZAGATTO, E.A.G., JACINTO, A.O., KRUG, F.L., BERGAMIN, H., Anal. Chim. Acta., 119(2), 305-311, (1980).
08. WALSH, L.M., Instrumental Methods for Analysis of Soils and Plant Tissue, Soil Science Society of America, Inc. Madson, Wiscosin-USA, (1971).
09. CHAPMAN, H.D. e PRATT, P.F., Métodos de Analisis para Suelos, Plantas e Águas, Ed. Trillas, México, (1973).

## 2. A DESTRUIÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA

A determinação rotineira de íons em materiais de plantas é usualmente efetuada por métodos tediosos que envolvem calcinação seguida de dissolução ou, tratamento drástico com ácidos concentrados.

O método de calcinação é o mais satisfatório caso não ocorram perdas em temperaturas próximas de 500°C. A adição de pequenas quantidades de ácido sulfúrico, pode ser usada com o objetivo de remover halogênios no último estágio da calcinação. O método, todavia não pode ser usado para o mercúrio e o arsênico. Outros elementos como o chumbo e o ferro, são preferencialmente tratados pelos métodos de oxidação. Para estes, comumente são usados os ácidos sulfúrico e nítrico, até completa oxidação. Entretanto, certos materiais biológicos nunca são completamente oxidados, resultando muitas vezes num líquido amarelado.

Quando grandes quantidades de material são envolvidos, e quando este contém de 25 a 100 mg do metal, é preferível o tratamento com ácido clorídrico, água e clorato de potássio. Embora nesse método a oxidação não seja completa, consegue-se uma boa recuperação do metal após demorada ebulição seguida de filtração e vigorosa lavagem.

Middleton e Stuckey<sup>1</sup>, em 1953, propuseram um método de destruição da matéria orgânica envolvendo o ácido nítrico como reagente e com a temperatura máxima não ultrapassando 350°C.

O método apresenta como vantagem a reduzida perda por volatilização dos elementos traços, com exceção do mercúrio. Por outro lado, a matéria orgânica em 5 g de material seco, pode ser completamente destruída em duas horas sem necessidade de maiores cuidados. Enquanto em todos os outros métodos, ocorrem problemas quando grandes quantidades do material são tratados, especialmente tecidos animais, com este método a única atenção requerida é a adição intermitente de ácido.

Comparando este método com o que utiliza a mistura ácido nítrico-ácido sulfúrico, o procedimento proposto é mais efetivo na destruição da matéria orgânica que o anterior.

Em 1959, Gorsuch<sup>2</sup> utilizou técnicas radioquímicas para acompanhar a recuperação dos metais zinco, chumbo e selênio em materiais orgânicos e biológicos tratados pelo procedimento de oxidação. Llano e Ulrich<sup>3</sup> descreveram com alguns

detalhes, várias modificações introduzidas no procedimento de calcinação, recomendando temperaturas entre 475 e 550°C com período de aquecimento de duas a oito horas, sendo necessário um período maior para tecidos altamente carbonáceos.

Isaac e Jonas<sup>4</sup>, em 1972, calcinaram diferentes tecidos de plantas por períodos de 4 a 15 horas, preparando amostras para análises espectrográficas ou absorção atômica. Calcinações efetuadas a 400°C afetaram os resultados da análise de cobre, dando resultados baixos. A 100 e 700°C, foram obtidos erros analíticos para alguns elementos. Ocorreram perdas para o potássio à temperaturas mais elevadas, enquanto que os resultados da determinação de Al, B, Fe e Mn, foram afetados, possivelmente, por contaminação de mufla.

Basson e Bahmer<sup>5</sup>, desenvolveram um procedimento mais rápido para preparação de amostras de tecidos de folhas para análise, comparando os resultados obtidos com aqueles encontrados pelos procedimentos de oxidação e calcinação. Nesse trabalho foram estudados os elementos cobre, ferro, manganês, zinco, cálcio, e magnésio, não sendo encontradas diferenças importantes nos três casos, exceção do ferro. O método consiste na extração direta com soluções ácidas.

Parkinson e Allen<sup>6</sup> desenvolveram um procedimento de oxidação para a determinação de nitrogênio e nutrientes minerais em materiais biológicos, utilizando uma mistura de ácido sulfúrico com peróxido de hidrogênio como oxidante, selênio como catalisador e sulfato de lítio para elevar a temperatura necessária à destruição da matéria orgânica. Os resultados foram comparados àqueles obtidos pela técnica usual de mistura ácida e digestão Kjeldahl para o nitrogênio.

Zasoski e Burau<sup>7</sup>, desenvolveram um procedimento rápido de digestão para análise multielementar de tecidos biológicos, usando a mistura nitro-perclórica em blocos de aquecimento de alumínio.

Ortega e outros<sup>8</sup>, desenvolveram um estudo comparativo dos métodos de mineralização por via úmida em plantas, para a análise de P, K, Ca, Mg e Na, utilizando um reator à pressão, sendo este constituído de um derivado de teflon isento de silício e qualquer elemento metálico.

Havlin e Soltanpour<sup>9</sup>, desenvolveram um método de digestão para tecidos de plantas, para determinação de macro e micronutrientes por espectroscopia de plasma, usando apenas ácido nítrico como oxidante.

Lintsen<sup>10</sup>, comparou os métodos de calcinação e oxidação para determinação de Ca, Mg e Zn em tecidos de plantas por absorção atômica, encontrando apenas para o cálcio um resultado mais baixo, quando as amostras foram tratadas pelo procedimento de oxidação, devido à precipitação do cálcio na solução.

Hunt<sup>11</sup>, desenvolveu um método de extração de material de plantas para análise rotineira de cátions, utilizando como extratos o ácido clorídrico diluído.

Novozamsky e outros<sup>12</sup>, desenvolveram um método de extração com HCl, e determinaram cálcio, magnésio, potássio, manganês, cobre, zinco, ferro e fósforo em diferentes amostras de tecido foliar, encontrando resultados similares àqueles obtidos quando os mesmos materiais foram tratados por digestão nitro-perclórica. Naturalmente, todos os métodos aqui descritos são de importância fundamental à análise de tecidos vegetais cabendo ao químico analítico a escolha do método que mais se adapte ao seu material em estudo, levando em consideração outros fatores como consumo de tempo, reagentes e outros acessórios necessários às técnicas de abertura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. MIDDLETON, G. e STUCKEY, R.E., Analyst, 79, 138-142, (1953).
02. GORSUCH, T.T., Analyst, 84, 135, (1959).
03. GRAHAM, E.D., LLANO, C. e ULRICH, A., Comm. Soil. Sci. Plant Anal., 1, 379-382, (1970).
04. ISAAC, R.A. e JONAS, Jr. J.B., Comm. in Soil Sci. and Plant Anal., 3(3), 261-269, (1972).
05. BASSON, W.D. e BAHMER, R.G., Analyst, 97, 482-489, (1972).
06. PARKINSON, J.A. e ALLEN, S.E., Comm. Soil Sci. and Plant Anal., 6(1), 1-11, (1975).
07. ZAROSKI, R.J. e BURAU, R.G., Comm. in Soil Sci. and Plant Anal., 8(5), 425-436, (1977).
08. ORTEGA, C., CONDE, M<sup>a</sup>, P.S. e AZIARA, P., Anales de Edafologia y Agrobiologia, 39(9-10), 1719-24, (1980).
09. HAVLIN, J.L. e SOLTANPOUR, P.N., Comm. in Soil Sci. and Plant Anal., 11(10), 969-980, (1980).
10. LINTSEN, D.T., Agricultura Técnica. 4(4), 273-276, (1981).
11. HUNT, J., Comm. in Soil Science Plant Anal., 13(1), 49-55, (1982).
12. NOVOZAMSKY, I., HOUBA, V.J.G., ECK, R. e VARK, W., Comm. in Soil Sci. Plant Anal., 14(3), 239-248, (1983).

### 3. INTERFERÊNCIAS EM FOTOMETRIA DE CHAMA

Há muitos métodos analíticos para a determinação de pequenas quantidades ou baixas concentrações da maioria dos elementos que exibem espectro de emissão de chama. Águas, fluidos biológicos, produtos alimentícios líquidos, etc, podem ser analisados para a determinação de metais alcalinos e alcalinos terrosos com elevada especificidade, com rapidez, simplicidade de operação e baixo custo.

A presença de certos íons e moléculas estranhas na amostra desconhecida é, na maioria dos casos, o maior inconveniente na fotometria de chama, e a causa de grande parte dos erros.

Berri<sup>1</sup> e outros e Parks<sup>2</sup>, demonstraram os efeitos de depressão, de ácidos e sais inorgânicos, nas medidas de sódio e potássio. Trabalhos similares foram também desenvolvidos por Brown, Inman<sup>4</sup> e outros.

Estudos têm sido desenvolvidos sobre o efeito da viscosidade das soluções, atribuindo-se à esta interferências em função da alterações da taxa de atomização da amostra na chama.

Conrad e Johnson<sup>5</sup>, aplicando a técnica fotométrica, na determinação de metais alcalinos e alcalinos terrosos em óleos lubrificantes, atribuíram os erros principalmente à problemas de viscosidade.

Numa tentativa de eliminar o efeito de interferentes, alguns pesquisadores tem empregado tampões de radiação, como no caso da análise de amostras de água, ou o uso de padrões com composição aproximada à do material que está sendo analisado.

Caton e Bremner<sup>6</sup>, estudaram o efeito de diferentes solutos orgânicos como glicose, uréia, sacarose e gelatina, em solução aquosa utilizada na determinação de sódio, potássio e cálcio. Observaram em todos os casos, uma diminuição na intensidade da chama. Este efeito aumenta à medida que aumenta a concentração do soluto orgânico. Aplicaram algumas correções nas soluções onde as interferências foram atribuídas à viscosidade.

Contudo, ficou evidente que outros fatores também contribuíram para as interferências. Assim, enquanto na solução contendo gelatina, a interferência, foi atribuída principalmente à viscosidade, no caso da uréia o tamanho das partículas que chega à chama constituindo o spray, parece ter uma contribuição primordial nos problemas de interferências.

Bills, McDonald e outros<sup>7</sup>, também estudaram os efeitos do glicerol e álcool terbutílico em experimentos que visavam a determinação de sódio e potássio, encontrando alterações não só na velocidade de aspiração das amostras, como também na depressão da intensidade da chama.

Um método geral de correção de interferência de contaminantes orgânicos não se mostrou satisfatório. Portanto, parece que a melhor opção é a remoção das substâncias interferentes, diluição da amostra até tornar negligível a interferência ou fazer uso de padrões de composição aproximada àquela da amostra.

A eliminação de interferentes torna-se, não raro, impraticável ou impossível. A diluição é melhor onde a concentração do metal é suficientemente alta para dar resultados mensuráveis na solução final.

Por outro lado, onde a composição química das amostras varia consideravelmente, o procedimento de compor soluções padrão, não é prático. O uso de padrões sintéticos é aplicável apenas quando se pode predizer aproximadamente a composição da amostra. Caso a mesma seja viscosa, o composto que causa a viscosidade deve estar presente nos padrões, desde que este causará, provavelmente, significativa interferência.

Parks, Johnson e Likken<sup>8</sup>, estudaram os efeitos de diversos ácidos e seus ânions na determinação de sódio e potássio, bem como o efeito de diferentes cátions na determinação fotométrica destes elementos. Simultaneamente, estudaram o erro causado pela presença de etanol na determinação do sódio.

Destes estudos, conclui-se que, erros negativos muito grandes, são causados por apreciáveis concentrações de íons fosfato, borato e oxalato e por elevadas concentrações de ácidos minerais. Erros importantes também foram encontrados em amostras onde estava presente o etanol.

Baker e Johnson<sup>9</sup>, estudaram o efeito de ânions na determinação de cálcio por fotometria de chama. Os resultados obtidos indicavam que íons de fósforo ou enxofre, podem ser responsáveis por anomalias resultantes de soluções de cálcio. Enquanto estes íons, quando presentes em misturas contendo perclorato, conduzem a valores mais baixos para o teor de cálcio, o íon perclorato sozinho intensifica a emissão de chama para este elemento.

Fox<sup>10</sup>, estudou o uso de padrões internos na determinação de potássio por fotometria de chama, em amostras de sangue, urina e outros fluidos biológicos, sendo os resultados comparados aos obtidos pelo método gravimétrico do acetato de zinco uranil sódio. Simultaneamente, o mesmo efetuou estudos sobre vários

parâmetros, inerentes à técnica usada, como o efeito da variação da pressão de ar comprimido, pressão do gás e velocidade de aspiração da amostra.

No presente trabalho, a técnica de fotometria de chama foi aplicada à determinação de potássio em extratos de plantas. A interferência espectral de elementos como o sódio e o potássio na determinação do cálcio, nos levou a optar pela técnica de absorção atômica para este último elemento. De qualquer modo, cuidados quanto aos interferentes, como é o caso do fosfato, são também fundamentais nesta última.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BERRY, J.W., CHAPPELL, D.G. e BARNES, R.S., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 18, 19-24, (1946).
02. PARKS, T.D., JOHNSON, H.O. e LYKKEN, L., Anal. Chem., 20, 822-825, (1948).
03. BROWN, J.G., LILELAND, O. e JACKSON, R.K., Proc. Am. Soc. Hort., Sci., 52, 1-6, (1948).
04. INMAN, R.W., ROGERS, R.A. e FOURNIER, J.A., Anal. Chem., 23, 482-3, (1951).
05. CONRAD, A.L. e JOHNSON, W.C., Anal. Chem., 22(12), 1530-33, (1950).
06. CATON Jr. R.D. e BREMNER, R.W., Anal. Chem., 26(5), 805-813, (1954).
07. BILLS, C.E., MCDONALD, F.G., NIEDERMEIR, W. e SCHWARTZ, M.C., Anal. Chem., 21(9), 1076-1080, (1949).
08. PARKS, T.D., JOHNSON, M.O. e LIKKEN, L., Anal. Chem., 20(8), 822-825, (1948).
09. BAKER, G.L. e JOHNSON, L.H., Anal. Chem., 26(3), 464-468, (1954).
10. FOX, Jr., C.L., Anal. Chem., 23(1), 137-142, (1951).

## 4. DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO EM EXTRATOS DE PLANTAS

### 4.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.

A determinação de potássio em plantas, é geralmente efetuada a partir de extratos preparados por via seca, através de calcinação e dissolução das cinzas ou através de digestão nitro-perclórica.

A escolha de um ou de outro procedimento, depende das condições de cada laboratório, devendo-se examinar os aspectos econômicos e práticos de cada um.

O preparo por via seca para a determinação de nutrientes inorgânicos, ao contrário da digestão ácida, introduz menos contaminantes nos extratos. Por outro lado, a análise de materiais que não sejam submetidos às técnicas usuais citadas, têm sido objeto de estudo por parte de alguns pesquisadores. Gilbert<sup>1</sup>, em 1962, mostrou que materiais pulverizados, suspensos em um meio moderadamente viscoso, poderiam ser introduzidos diretamente em um fotômetro de chama sugerindo que o método teria grande aplicação em problemas analíticos. Mason<sup>2</sup>, determinou potássio em folhas de plantas, encontrando ótimos resultados, ao comparar a análise de suspensão de folhas no solvente glicerol-2-propanol, por fotometria de chama, com o mesmo material quando tratado pelos métodos usuais já citados.

Sahrawat<sup>3</sup>, desenvolveu um método rápido e simples de digestão de plantas para a determinação de potássio, por extração com HCl 0,5 M e posterior determinação por absorção atômica em chama. O método oferece resultados concordantes com os obtidos pelas técnicas usuais de digestão para diferentes espécies de plantas e permite uma melhor precisão e rapidez para determinação do elemento em estudo.

A técnica de extração com HCl foi refinada por Miyazawa<sup>4</sup> et.al. com o objetivo de determinar outros elementos como cálcio, magnésio, cobre, manganês e zinco além do potássio. Não foram encontrados resultados satisfatórios para o ferro e o fósforo.

No presente trabalho, tem-se como objetivo, o desenvolvimento de um método rápido de abertura da amostra que permita a determinação de macronutrientes em plantas, sem uso das técnicas usuais de tratamento com ácidos.

O método consiste em refluxar a amostra usando como solvente etanol-água com posterior filtração por carvão ativado. Estudos referentes ao tempo de refluxo, bem como da relação etanol-água e quantidade do material a ser extraído, foram desenvolvidos e constam das figuras 4.1, 4.2 e 4.3.

Os resultados obtidos para o potássio a partir desta técnica, foram comparados àqueles obtidos para os mesmos materiais, quando submetidos à incineração ou oxidação nitro-perclórico.

O método foi aplicado à análise de diferentes amostras de referências fornecidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas e CENA (Piracicaba), bem como de outros vegetais, obtendo-se resultados satisfatórios para os elementos em estudo.

## 4.2. PARTE EXPERIMENTAL

### Estudo da Influência do Teor em Etanol no Solvente, Tempo de Extração e Quantidade de Material na Extração do Potássio.

#### 4.2.1. Influência do Teor em Etanol

Diferentes porções de cerca de 0,100 g da amostra IL 6, foram submetidas à refluxo por 30 minutos usando-se como solvente uma mistura água-etanol em composições variáveis. Para isto, utilizou-se um balão de fundo redondo de 100 ml com junta 24/40, acoplado a um condensador Allihn e cerca de 50 ml do solvente extra-  
tor.

Os extratos obtidos foram submetidos à tratamento com carvão ativado e, após filtração em papel quantitativo, transferidas para balão volumétricos de 50 ml, completando-se o volume com o próprio solvente.

Aliquotas destes extratos foram utilizadas no estudo de influência do teor em etanol na extração.

Os resultados representados na fig. 4.1., indicam que valores praticamente idênticos para o teor em potássio, foram encontrados no intervalo de 20 a 50% em etanol.

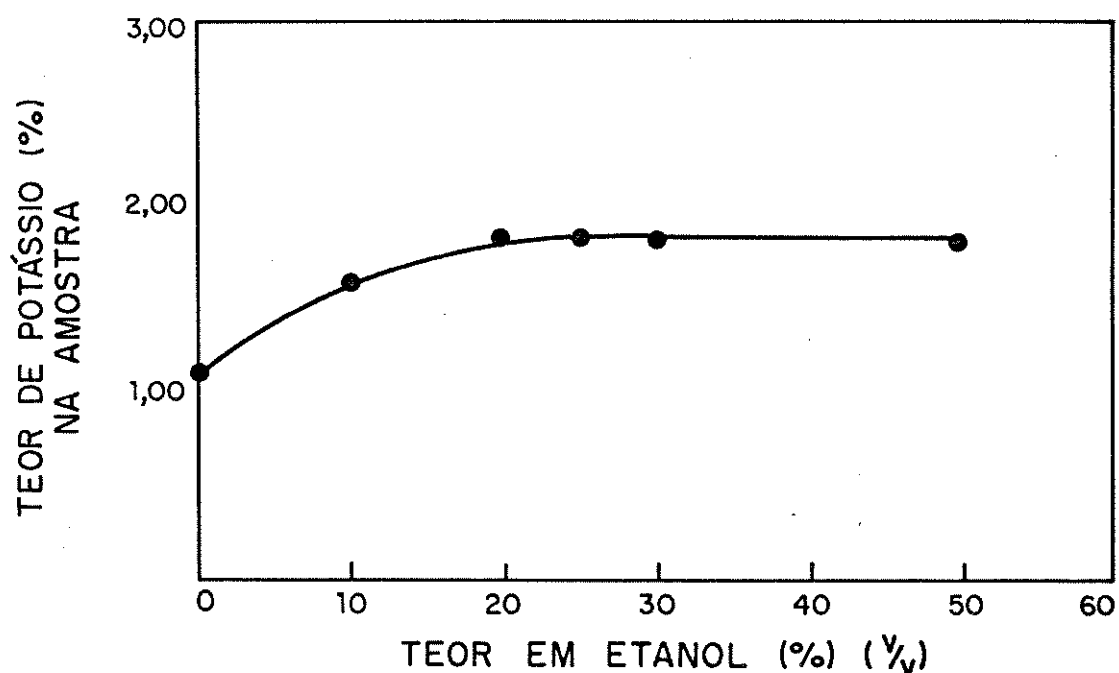


Fig. 4.1. Teor de Potássio na Amostra IL 6 (% sobre matéria seca) em função de Porcentagem de Etanol no Solvente.

#### 4.2.2. Estudo da Influência do Tempo de Refluxo na Extração do Potássio.

Diferentes porções de 0,1000 g do material de referência IL 6, foram submetidos à extração por refluxo em procedimento similar ao anteriormente descrito, usando-se como solvente extrator uma mistura água-etanol a 20% deste último, em intervalo de tempo de 15 a 90 minutos.

Os resultados obtidos, são representados na fig. 4.2.

Analisando o gráfico, verifica-se que o tempo de refluxo ao contrário da relação etanol-água, não é fator preponderante na extração do potássio, embora melhores valores tenham sido obtidos em tempos iguais ou superiores a 30 minutos.

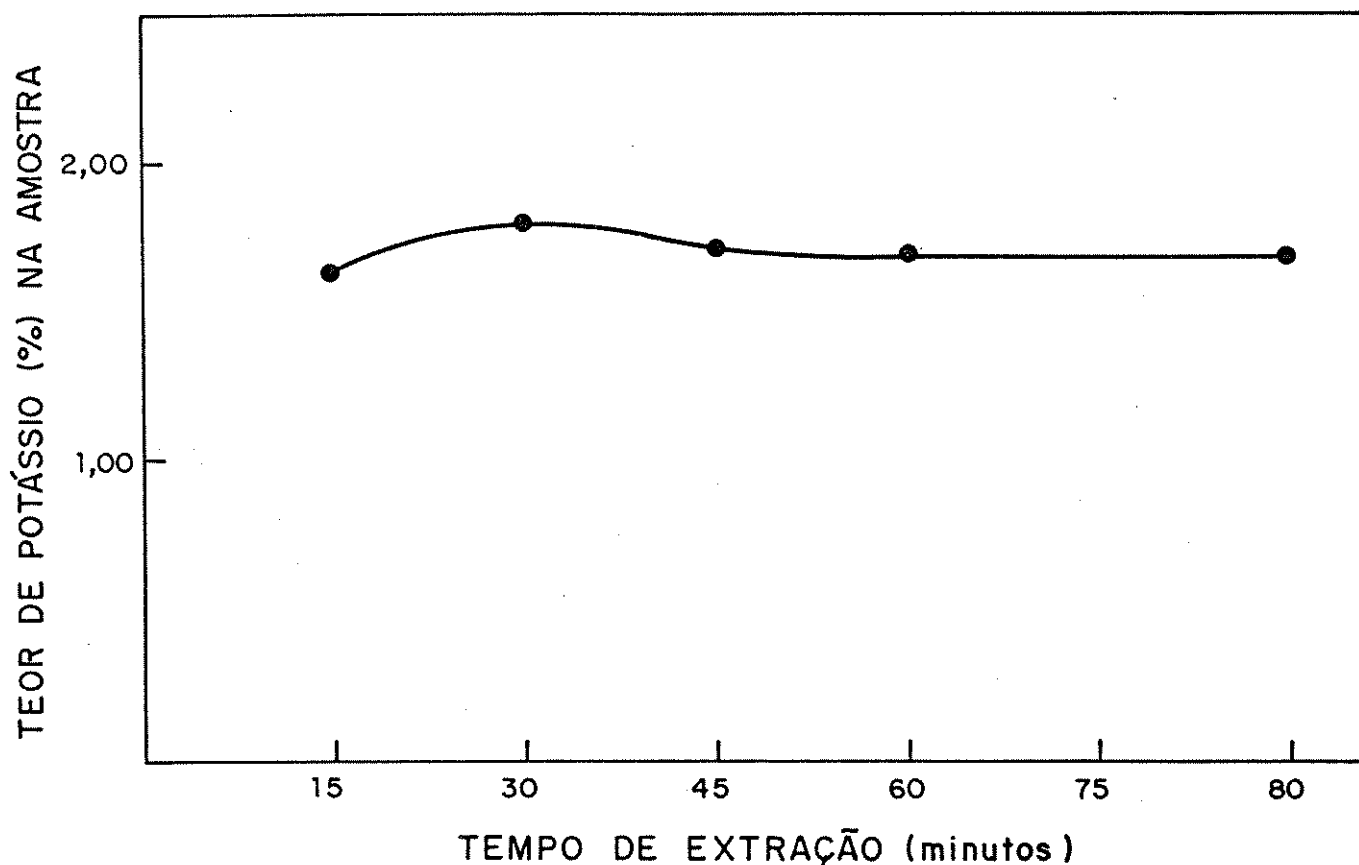


Fig. 4.2. Influência no Tempo de Refluxo na Extração do Potássio da Amostra IL 6.

4.2.3. Estudo da Influência da Quantidade de Material a ser Refluxado na Extração do Potássio.

Pesou-se porções da amostra IL 6 em quantidades que variaram de 0,1000 g a 0,2500 g e submeteu-se à extração por 30 minutos, usando-se como solvente uma mistura água-etanol a 20% deste último. A representação dos resultados obtidos, na figura 4.3, indica que os teores encontrados para o potássio, não são influenciados por este parâmetro.

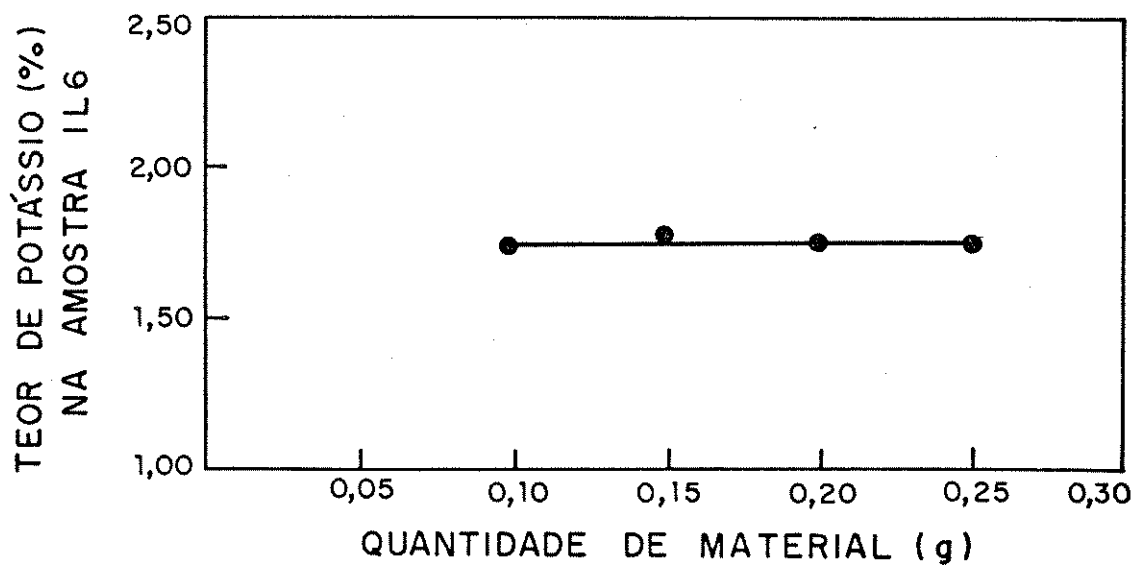


Fig. 4.3. Influência da Quantidade de Material na Extração do Potássio da Amostra IL 6.

#### 4.3. Extração em Água-Etanol.

Pesou-se 0,1000 g de amostra do material seco em estufa, e submeteu-se à extração com etanol-água a 20% (v/v), tendo sido utilizado um volume de 40 ml do extrator. Procedeu-se o refluxo por 30 minutos, deixando-se em seguida esfriar. Lavou-se o condensador com pequenas porções do mesmo solvente e recolheu-se no balão volumétrico utilizado no refluxo. A amostra foi então submetida ao tratamento com carvão ativado. Filtrou-se em papel quantitativo e lavou-se com solução extratora. Transferiu-se para balão volumétrico de 50 ml e completou-se o volume com água destilada. A solução assim obtida foi utilizada na determinação dos elementos potássio, fósforo e cálcio, após diluição conveniente com água.

#### 4.4. Tratamento da Amostra por Calcinação.

Pesou-se 0,2500 g do material seco e submeteu-se à calcinação por 24 horas à temperatura de 450-500°C. Efetuou-se em seguida, a dissolução do resíduo em HCl 3M, evaporou-se para eliminar o excesso de ácido, filtrou-se e diluiu-se à 50 ml com água destilada. Aliquotas destas dissoluções obtidas foram utilizadas na determinação de potássio, fósforo e cálcio.

#### 4.5. Traçado da Curva de Calibração e Análises dos Extratos Obtidos.

Tomou-se alíquotas de soluções padrão de potássio a  $50 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$  em quantidades que variaram de 0,5 a 7,5 ml e transferiu-se para balões volumétricos de 50 ml. Adicionou-se a cada balão, 1,0 ml de solvente extrator e completou-se o volume com água destilada.

As leituras foram feitas em fotômetro de chama Micronal modelo B 262. A figura 4.4. representa a curva de calibração obtida.

Em alguns casos, a alíquota de por exemplo, 5 ml dos extratos obtidos anteriormente por refluxo, foram transferidos para balões volumétricos de 50 ml. Adicionou-se quantidades conhecidas de padrão de potássio a  $50 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$  e procedeu-se como anteriormente para os padrões.

As amostras tratadas por calcinação foram analisadas de modo similar. Os resultados obtidos constam das tabelas 4.1 e 4.2.

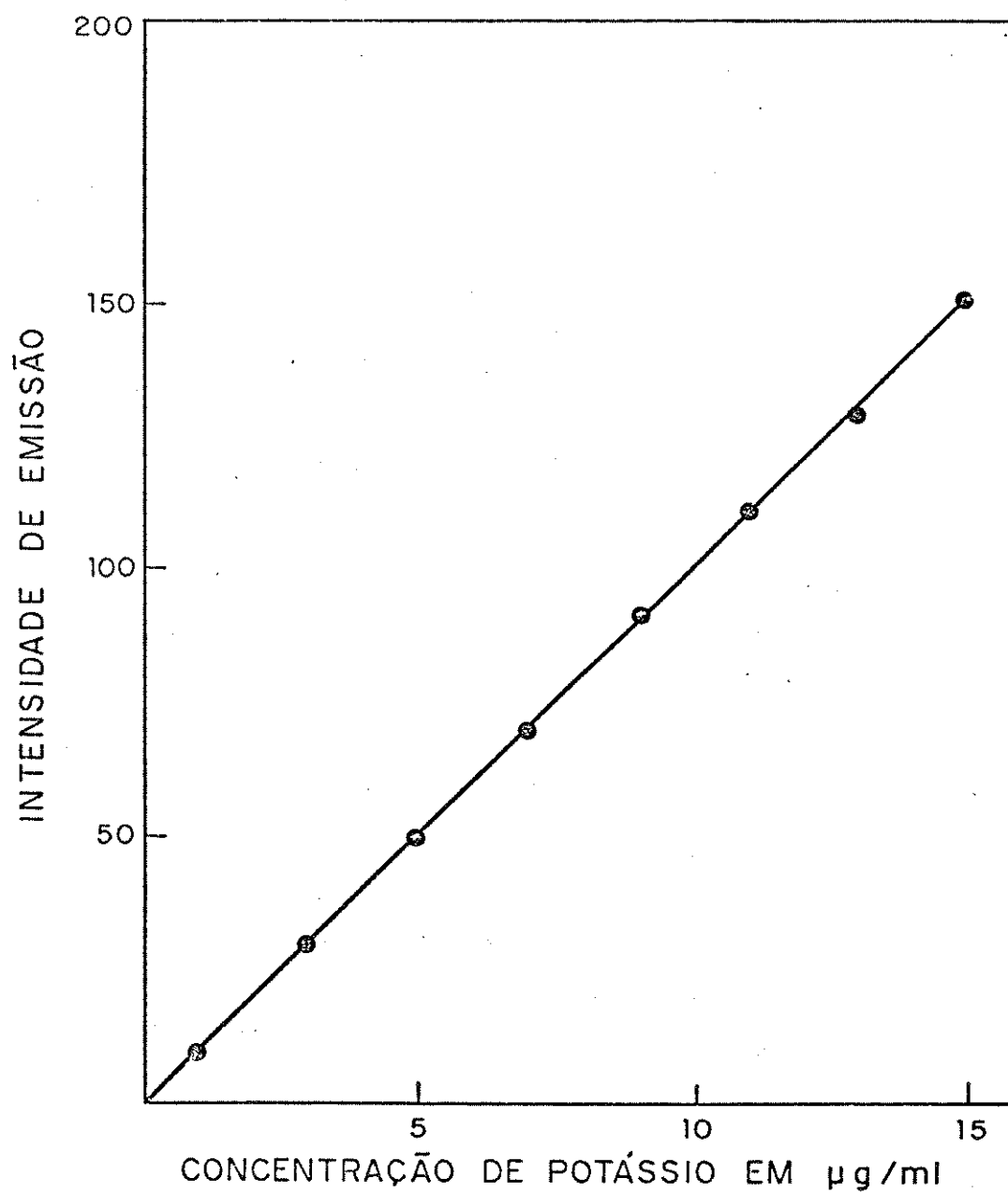


Fig. 4.4. Curva de Calibração para Determinação de Potássio por Fotometria de Chama. Condições: P. ar comprimido: 1 bar; Pressão do gás butano (GLP) 1  $\text{kg/cm}^2$ ; sensibilidade: 2.



TABELA 4.1. Teores de Potássio (%) sobre matéria seca, obtidas para amostras de folhas de soja e café, bem como para os padrões IL 6 e IL 8 (IAC).

Amostra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$	s	Valores Fornecidos
Soja	1,75	1,75	1,75	1,63	1,63	1,63	1,80	1,87	1,70	1,69	1,72	0,08	1,70 <sup>a</sup>
	1,75	1,75	1,70	1,60	1,69	1,70					1,70	0,05	
Café	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,96	0,81	0,88	0,88 <sup>c</sup>	0,04	0,83 <sup>a</sup>
	0,80	0,85	0,80	0,80	0,96	0,96					0,86	0,06	
IL 6	1,80	1,80	1,73	1,70	1,70	1,70	2,10 <sup>*</sup>	1,75			1,74 <sup>c</sup>	0,12	1,83 ± 0,11 <sup>b</sup>
	1,82	1,80	1,63	1,82							1,77	0,09	
IL 8	0,81	0,78	0,80	0,80	0,85	0,85					0,80	0,03	0,76 ± 0,06 <sup>b</sup>
	0,78	0,75	0,75	0,75							0,76	0,02	

a) CENA                      b) IAC                      c) VIDE ÍTEM 4.6                      \* Valor desprezado

TABELA 4.2. Teores de Potássio (%) sobre matéria seca, obtidos para amostras de folhas de outros vegetais analisados.

Amostras	Determinações	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	s	s%
Repolho	(Extrato)	4,06	4,31	4,43	3,81	4,00		4,12	0,25	6,00
	(Calcinado)	4,06	4,31	4,40	4,43	4,16	3,80	4,19	0,24	5,72
Rúcula	(Extrato)	4,00	3,80	4,25	4,90	3,75	4,25	4,30	0,50	11,6
	(Calcinado)	4,00	3,90	4,00	4,80	4,25	4,30	4,20	0,28	6,70
Couve	(Extrato)	5,31	5,12	5,43	6,62	6,63	6,87	5,95	0,75	12,6
	(Calcinado)	5,50	5,80	6,25	6,30	6,30	5,50	5,85	0,40	6,80

#### 4.6 - Avaliação dos Resultados Mediante o Teste - T

Aplicou-se o teste-T aos resultados constantes da tabela 4.1 com a finalidade de se verificar a existência de erros sistemáticos entre as medidas obtidas. Os valores de T calculados, foram comparados àqueles tabelados correspondentes ao número de determinações efetuadas, e considerando-se um valor  $\alpha = 0,05$ . Verificou-se que apenas nos casos dos extratos alcoólicos da amostra de folhas de café, bem como da amostra IL 6, os valores 0,96 e 2,10 respectivamente, teriam que ser eliminados, e, como consequência os teores médios de potássio seriam 0,87% e 1,74%, com os desvios padrões respectivos de 0,02 e 0,05.

TABELA 4.3 - Aplicação do Teste-T aos Resultados de Análises de Folhas de Soja e Café bem como dos padrões IL 6 e IL 8

$\alpha = 0,05.$

Amostra	$T_I$	$T_n$	$T_{\text{crítico}}$
Soja (Extrato)	1,125	1,875	2,294
Soja (Calcinado)	2,000	1,000	2,130
Café (Extrato)	0,000	2,666	2,294
Café (Calcinado)	1,166	1,666	2,130
IL 6 (Extrato)	0,909	2,500	2,172
IL 6 (Calcinado)	1,555	0,550	1,689
IL 8 (Extrato)	0,666	1,666	1,996
IL 8 (Calcinado)	0,500	1,000	1,689

#### 4.7 - COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS POR EXTRAÇÃO ALCÓOLICA E CALCINAÇÃO ATRAVÉS DO TESTE-t.

Os resultados obtidos para as análises dos materiais de referência, constantes da Tabela 4.1., foram submetidas ao teste-t<sup>5</sup>, com a finalidade de se comparar os métodos de extração e calcinação. Pelos resultados apresentados na Tabela 4.4., vê-se que os valores de t calculados são inferiores àqueles valores tabelados, daí os resultados encontrados a partir dos dois métodos de abertura serem considerados virtualmente idênticos.

Tabela 4.4 - Avaliação dos Resultados encontrados para o Teor de Potássio (%) sobre Matéria Seca mediante o teste-t.

Amostra	t <sub>calculado</sub>	t <sub>crítico</sub>
Soja	0,516	2,145
Café	0,747	2,179
IL 6	0,393	2,160
IL 8	2,095	2,300

#### 4.8. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, verificou-se a viabilidade do método de extração proposto, para a determinação do potássio. A simplicidade do experimento, aliado ao pouco tempo dispendido à execução do mesmo, bem como ao baixo consumo de reagente, torna o método competitivo com os procedimentos de calcinação, oxidação nitro-perclórica, extração ácida e outros existentes na literatura.

O estudo de parâmetros como tempo de refluxo, quantidade de material a ser extraído, bem como do teor de etanol, demonstraram que as melhores condições para a determinação do potássio, correspondem à um tempo de 15 a 30 minutos, com etanol de 20% a 50% e, entre 0,10 e 0,20 g de material.

O problema associado à influência do etanol na chama, foi contornado pelo uso de pequenas alíquotas de extratos, que resultam por diluição em teores mínimos de etanol no volume final, bem como pela adição de etanol aos padrões para traçado de curvas de calibração.

Percebe-se pelas tabelas 4.1 e 4.2, que os resultados obtidos por calcinação tendem a fornecer menores valores de desvio padrão. Nota-se também, de modo geral, para as amostras tratadas com solvente água-etanol, que os menores desvios ocorreram para a soja, café IL 6 e IL 8, em comparação com o repolho, a rúcula e a couve. Uma explicação simples seria a homogeneidade das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01. GILBERT, P.T., Anal. Chem. 34, 1025, (1962).
- 02. MASON, J.L., Anal. Chem. 35(7), 874-875, (1963).
- 03. SAHRAWAT, K.L., Commun. in Soil Sci. and Plant Anal. , 11(7), 753-757, (1980).
- 04. MIYAZAWA, M., PAVAN, M.A. e BLACK, M.F.M. Commun. in Soil Sci. Plant Anal. 15(2), 141-147, (1984).
- 05. ECKSCHLAGER, K., Errors, Measurements and Results in Chemical Analysis. Van Nostrand Reinhold Company, London, (1972), pág. 125-126.

## 5. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FÓSFORO EM EXTRATOS DE PLANTAS

### 5.1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

A determinação de fósforo total em plantas é geralmente efetuada por métodos colorimétricos, após tratamento da amostra por calcinação ou oxidação, e, diluição adequada com água destilada. Dois são os métodos usuais: o do amarelo de molibdato - vanadato<sup>1</sup> e o do azul de molibdênio. Quanto a este último há uma variedade de redutores disponíveis entre os quais o cloreto estanoso, o ácido ascórbico e o ácido 1 - amino - 2 - naftol - 4 - sulfônico. Em todos os casos, após o desenvolvimento da cor, faz-se a leitura em espectrofotômetro a 650 nm.

Muitas vezes se faz necessário a determinação de fósforo inorgânico ou fósforo orgânico em plantas, sem a necessidade da determinação de fósforo total.

Assim é que, Pons e Guthrie<sup>2</sup> desenvolveram um método de determinação de fósforo inorgânico em materiais de plantas, usando como extrator, o ácido tricloroacético e álcool isobutílico, e posterior determinação pelo azul de molibdênio.

Malat e Machacek<sup>3</sup>, desenvolveram um novo método de determinação de fósforo em plantas, que consiste na mineralização com ácido sulfúrico e selênio e posterior extração do ânion do ácido 11 - molibdovanadofosfórico com solução  $5 \times 10^{-3} M$  de brometo de 1 - etoxicarbonilpentadeciltrimetilaniônio.

Chapman e Pratt<sup>4</sup>, cita vários métodos de determinações de fósforo em plantas e solos, entre os quais o de Rickman e Bray, que faz uso do cloreto estanoso como redutor. Algumas considerações devem ser feitas quanto a determinação de fósforo total na presença de muita matéria orgânica. O tratamento com ácido sulfúrico, auxiliado pelo ácido nítrico ou peróxido de hidrogênio, tem sua limitação, pois uma quantidade excessiva do ácido sulfúrico pode retardar a redução do ácido fosfomolibdico. Por outro lado, uma pequena quantidade, pode ocasionar perda de fosfato, devido à formação dos ácidos piro ou metafosfórico e a combinação com o vidro<sup>6-8</sup>.

Materiais orgânicos que dão origem ao ácido pícrico, podem oferecer algumas dificuldades quando digeridas, pois dificilmente oferecerão soluções



incolores, sem um sobreaquecimento e conseqüente perda de fosfato.

Quando grandes quantidades de materiais orgânicos devem ser eliminados, a calcinação não é apenas a mais confiável, mas sem dúvida a mais imediata.

No presente trabalho, fez-se uso dos extratos aquo-alcoólicos, anteriormente utilizados na determinação de potássio, para determinações do fósforo. Parâmetros como tempo de refluxo, quantidade de material a ser submetido à extração e relação etanol-água, foram estudados, visando uma maior eficácia do método. Os resultados obtidos foram comparados àqueles encontrados para os mesmos materiais ao serem submetidos a calcinação.

## 5.2 - Parte Experimental

### 5.2.1 - Reagentes

- a) Solução Estoque de Fósforo a 100 ppm. Dissolver 0,4387 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  em água destilada e completar o volume a 1000 ml .  
A partir desta solução, preparar soluções padrão de fósforo para traçado da curva de calibração.
- b) Molibdato de Amônio. Dissolver 12,5 g de molibdato de amônio em cerca de 100 ml de água destilada. Adicionar à 150 ml de ácido sulfúrico 5 M e completar a 500 ml com água destilada. Passar para recipiente escuro e estocar em refrigerador.
- c) Reagente Ácido 1 - Amino - 2 - Naftol - 4 - Sulfônico. Pesar 250 mg do ácido em um becker e adicionar algumas gotas de bissulfito de sódio a 15%, para formar uma pasta. Adicionar então 97 ml da solução de bissulfato e 2,5 ml da solução de sulfito de sódio a 20%. Não havendo dissolução completa, adicionar mais sulfito de sódio. Deixar em repouso por cerca de 12 horas, filtrar em papel quantitativo e estocar em vidro âmbar.

### 5.2.2 - Equipamentos

Espectrofotômetro Micronal UV - VIS Modelo B 382

### 5.2.3 - Método do Azul de Molibdênio

Aliquotas de soluções a serem submetidas para análise, são transferidas para balões volumétricos de 25 ml, adicionando-se a seguir, 5,0 ml de solução de molibdato de amônio. Agita-se, e adiciona-se 1,0 ml do redutor ácido, 1 - amino - 2 - naftol - 4 - sulfônico. Faz-se a leitura após 20 minutos em espectrofotômetro Micronal Modelo B 382, usando-se cubetas de 1,0 cm.

Padrões resultando em concentrações finais que variam de 0,2 a 4,0 ppm de fósforo, foram submetidas a tratamento similar, resultando na curva de calibração representada na figura 5.1.

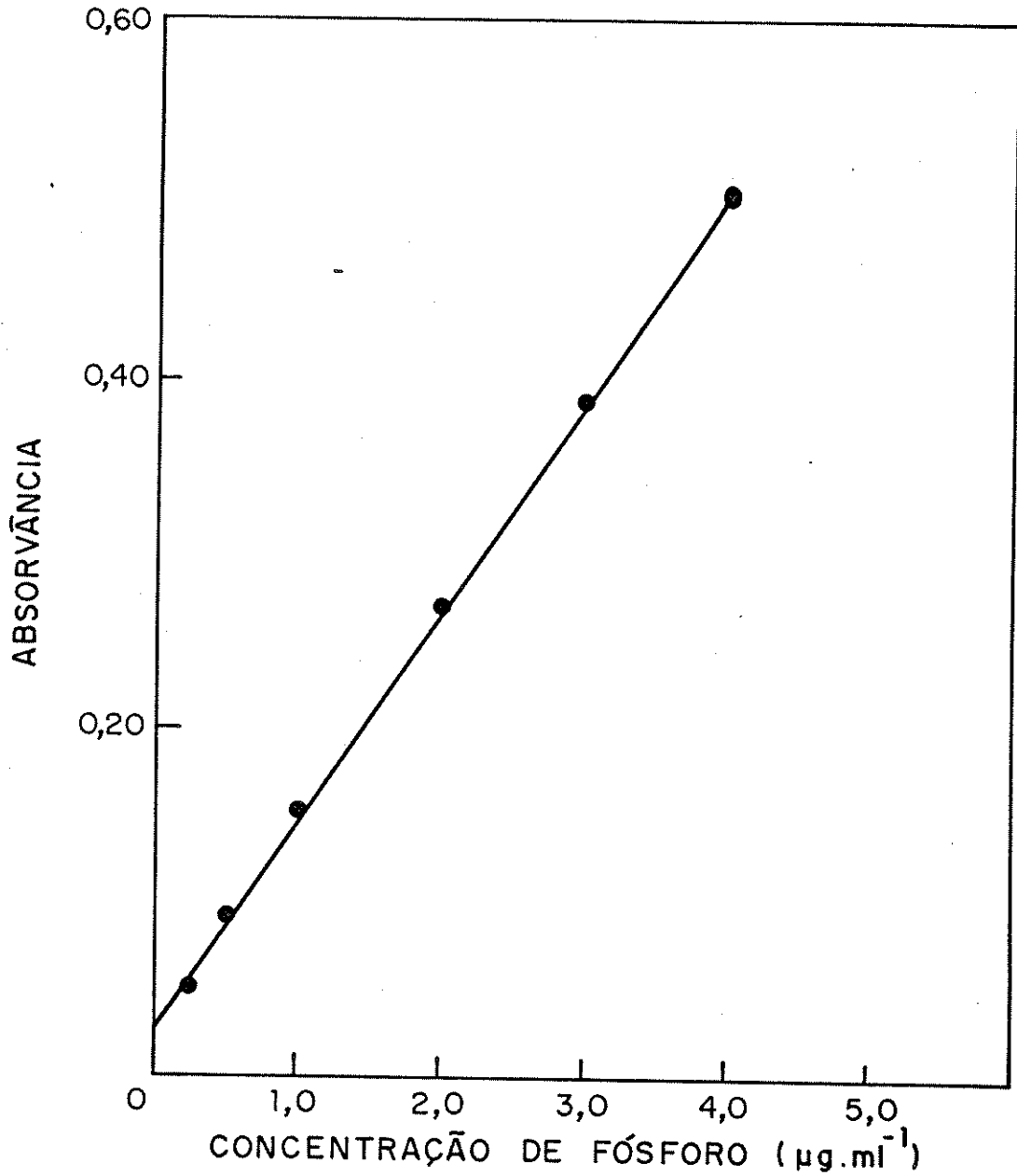


Fig. 5.1. Curva de calibração para determinação espectrofotométrica de fósforo pelo método do azul de molibdênio. ( $\lambda = 650 \text{ nm}$ )

### 5.2.4 - Estudo da Influência da Quantidade de Amostra na Eficiência da Extração.

Pesou-se porções do material de referência IL 6 em quantidades que variaram de 0,1000 a 0,2500 g, e submeteu-se a refluxo por 30 minutos, usando-se como solvente uma solução aquosa a 20% em etanol. Aliquotas dos extratos obtidos foram utilizados na determinação de fósforo pelo método do azul de molibdênio, usando-se o espectrofotômetro Micronal Modelo B 382 e cubetas de 1 cm. Os dados obtidos são representados no gráfico 5.2, e indicam que os melhores resultados correspondem a extração de 0,1000 g de material.

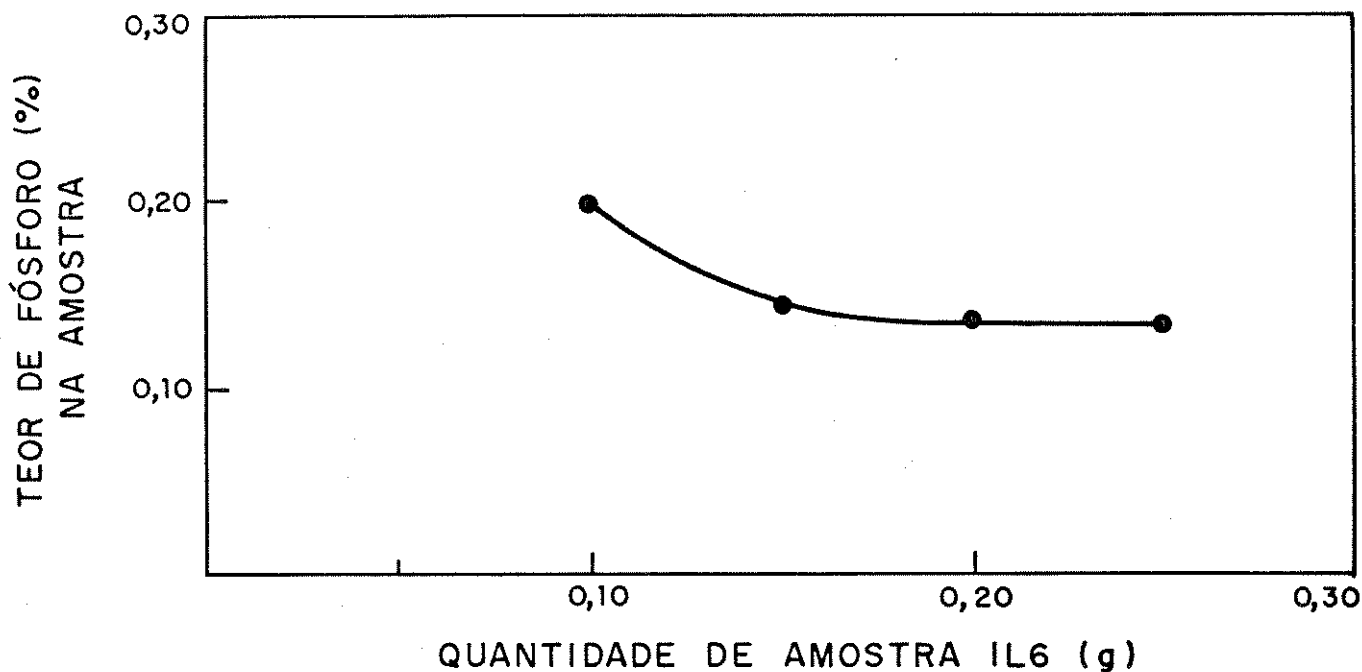


Fig. 5.2 - Estudo da Influência da Quantidade de Amostra na Eficiência da Extração (Amostra IL 6) Teor de fósforo em % sobre matéria seca.

### 5.2.5 - Estudo da Influência do Teor em Etanol na Eficiência da Extração.

Pesou-se diferentes porções de 0,1000 g. do material IL 6 e submeteu-se ao refluxo por um período de 30 minutos, utilizando-se como solvente soluções aquosas com teores variáveis de etanol de 10 a 50%. Os dados estão representados na figura 5.3.

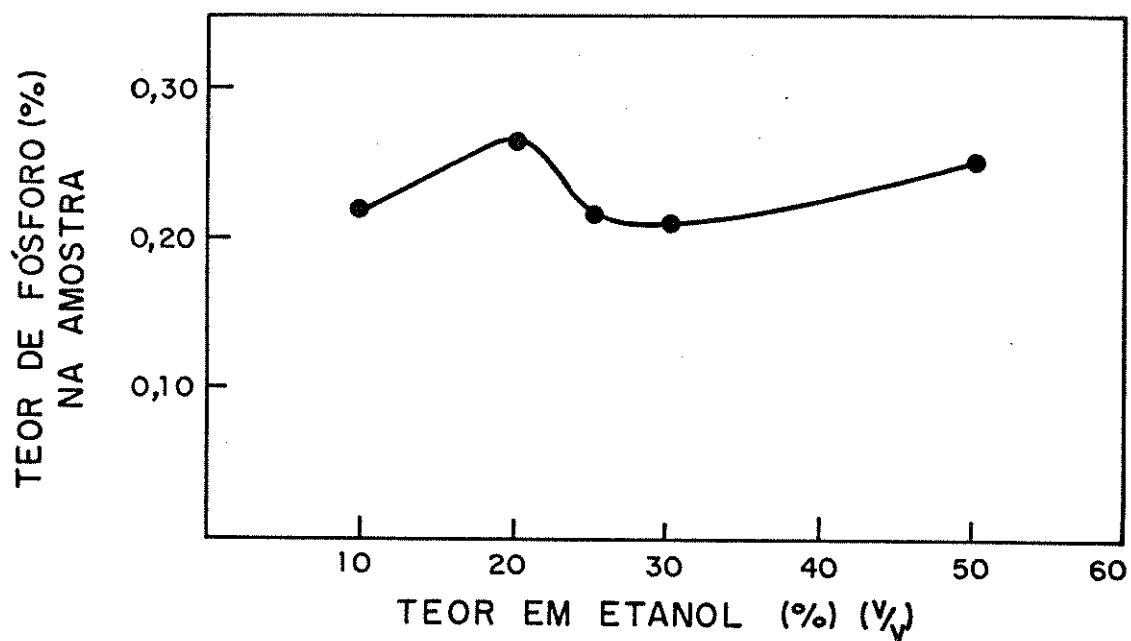


Fig. 5.3. Estudo da Influência do Teor em Etanol na Extração de Fósforo (Amostra IL 6). Teor de fósforo em % sobre matéria seca.

5.2.6 - Estudo da Influência do Tempo de Refluxo na Eficiência da Extração.

Pesou-se porções de 0,1000 g do material de referência IL 6 e submeteu-se a refluxo usando-se como solvente uma solução aquosa a 20% em etanol, em intervalos de tempo que variaram de 15 a 90 minutos. Os resultados representados no gráfico 5.4, indicam que esta variável não é tão crítica na extração, entretanto, melhores resultados foram obtidos para as extrações efetuadas com 30 minutos de refluxo.

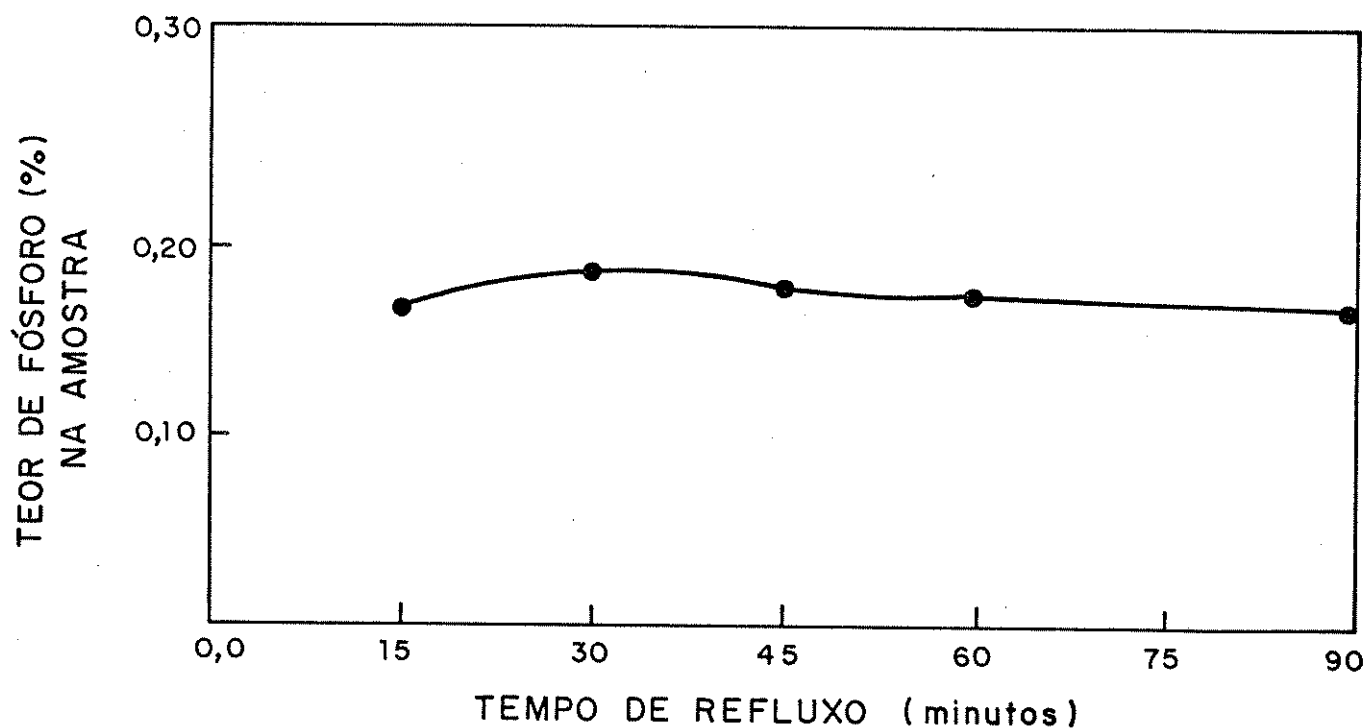


Fig. 5.4. Estudo da Influência do Tempo de Refluxo na Extração de Fósforo (Amostra IL 6) Teor de fósforo em % sobre matéria seca.

### 5.2.7 - Aplicação do Método de Extração Desenvolvido à Análise de Folhas de Plantas.

Amostras de folhas de diferentes vegetais e materiais de referência, foram submetidos à extração segundo procedimento descrito para a determinação do potássio, após estabelecidas as condições ideais relacionadas ao tempo de refluxo, composição do solvente e quantidade de amostra na determinação do fósforo. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 5.1.

Em todos os casos os mesmos materiais foram também submetidos à calcinação e/ou oxidação, com a finalidade de se comparar a eficiência da técnica de abertura proposta.

Quanto a alguns materiais de referência analisados, não nos foi fornecido o procedimento adotado na etapa de abertura nem o método utilizado na determinação do fósforo.

Para a maioria das amostras analisadas, os resultados encontrados, foram bastante concordantes, assegurando a viabilidade da extração na determinação do fósforo total em folhas de plantas.

Os resultados obtidos, foram submetidos a um tratamento estatístico, com a finalidade de se avaliar a exatidão dos mesmos, bem como a eliminação de possíveis erros sistemáticos no conjunto de análises realizadas.

TABELA 5.1. Resultados Obtidos na Determinação de Fósforo em Extratos de Folhas de Plantas pelo Método do Azul de Molibdênio  
( $\lambda = 650 \text{ nm}$ ). Resultados Expressos em % de Matéria Seca.

Amostra/Determinação	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	$\bar{x}$	s	Valor Fornecido%
Soja (Extrato)	0,300	0,300	0,275	0,300	0,287	0,275	0,275	0,275	0,290	0,300	0,300	0,300	0,290	0,011	0,290 <sup>a</sup>
(Calcinação)	0,273	0,276	0,273	0,273	0,281	0,280	0,288						0,277	0,005	
Café (Extrato)	0,095	0,095	0,095	0,100	0,093	0,084	0,100	0,082	0,090	0,090	0,096	0,093	0,093	0,005	0,065 <sup>a</sup>
(Calcinação)	0,073	0,073	0,070	0,070	0,085	0,085	0,084	0,082					0,078	0,007	
IL 6 (Extrato)	0,220	0,240	0,220	0,200	0,220	0,280	0,200						0,225	0,027	0,220 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>
(Calcinação)	0,190	0,190	0,190	0,200	0,190	0,200	0,190						0,190	0,005	
Repolho (Extrato)	0,510	0,470	0,470	0,440	0,480	0,480	0,510						0,480	0,060	
(Calcinação)	0,510	0,510	0,480	0,500									0,500	0,012	
Rúcula (Extrato)	0,390	0,430	0,410	0,390	0,400	0,400							0,400	0,014	
(Calcinação)	0,410	0,400	0,400	0,410	0,400	0,400	0,350						0,390	0,020	
(Oxidado)	0,400	0,400	0,410	0,370	0,400								0,390	0,015	

a) CENA

b) IAC



### 5.3 - TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados das análises, obtidos na determinação de fósforo, foram submetidos a um tratamento estatístico<sup>5</sup>, com vista a determinação da exatidão dos resultados encontrados a partir dos extratos, em comparação às técnicas usuais de abertura.

Inicialmente foram calculados os desvios padrões através da relação  $s_l = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}$  (5.1) para as diferentes séries de medidas, e, em seguida aplicou-se o teste T, com a finalidade de se eliminar possíveis resultados grosseiros entre os dados obtidos. Os valores de T calculados foram comparados aos seus valores críticos correspondentes ao número de determinações efetuadas, considerando-se um valor de  $\alpha = 0,05$ . Para tal cálculo, fez-se uso das expressões:

$$T_l = \frac{\bar{x} - x_l}{s_l} \quad \text{e} \quad T_n = \frac{x_n - \bar{x}}{s_l} \quad (5.2)$$

Os resultados obtidos constam da Tabela (5.2).

Analisando-se os resultados, verificou-se apenas uma pequena diferença, entre os valores de  $T_n$  calculado e o valor crítico, para os extratos de rúcula e de repolho, principalmente neste último, onde o valor encontrado é de 2,100, comparado ao valor de T tabelado igual a 2,093. Nos dois casos, com a eliminação dos resultados discrepantes, não se verifica alteração significativa nos resultados médios.

TABELA 5.2. Valores dos Desvios Padrões e Resultados do Teste-T Aplicado aos Resultados das Análises de Fósforo de Diferentes Amostras de Folhas de Plantas. (  $\alpha = 0,05$  ).

Amostra	$T_I$	$T_n$	$T_{crítico}$
Soja (Extrato)	1,363	0,9	2,387
(Calcinado)	0,80	2,2	2,093
IL 6 (Extrato)	1,11	2,22	2,265
(Calcinado)	0,00	2,00	2,093
Rúcula (Extrato)	0,714	2,14	1,996
(Calcinado)	2,00	1,00	2,265
(Oxidado)	1,33	1,33	1,869
Repolho (Extrato)	0,666	0,50	2,093
(Oxidado)	1,666	0,83	1,689

#### 5.4- CONCLUSÕES

Pela análise dos resultados obtidos, verificou-se a viabilidade da aplicação do método de extração proposto à determinação de fósforo em folhas de plantas, tendo como vantagem um menor tempo de abertura da amostra, evitando-se etapas de calcinação ou oxidação com o conseqüente consumo de ácidos.

No caso dos resultados das análises de folhas de café, embora os resultados obtidos tanto a partir da calcinação, como a partir da extração, sejam superiores aos fornecidos, verificou-se uma boa precisão dos mesmos. O desconhecimento dos diferentes resultados das análises efetuadas com este material, bem como dos métodos empregados na determinação do fósforo, não nos permite, neste caso, maiores conclusões. Para o material de referência IL 6, entretanto, os resultados foram bastante reprodutíveis.

Acreditamos, portanto, que a técnica de extração proposta, é uma alternativa simples e rápida na preparação de amostra para a determinação de fósforo total em plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BATAGLIA, O.C., FURLANI, A.M.C., Métodos de Análise Química de Plantas, IAC, (1983), pág. 15.
02. PONS, Jr. W.A. e GUTHRIE, J.D., Ind. Eng. Chem., vol. 18(3), 184-186, (1946).
03. MACHACEK, V. e MALAT, M., Rostlinna Vyroba, 28, 221-223, (1982).
04. CHAPMAN, H.D. e PRATT, P.F., Métodos de Análises para Suelos, Plantas y Aguas, Ed. Trillas, México, (1973).
05. ECKSCHALAGER, K., Erros Measurements and Results in Analytical Chemistry, Ed, Van Nostrand, (1968).
06. BELL, R.D. e DAISY, E.A., J. Biol. Chem. XLIV. 55 (1920).
07. MARTLAND, M. e ROBISON, R., Biochem. J., XVIII, 765, (1924).
08. WHITEHORN, J.C., J. Biol. Chem., LXII, 133, (1924-25).

6. DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM FOLHAS DE PLANTAS  
POR ABSORÇÃO ATÔMICA APÓS EXTRAÇÃO  
COM ETANOL - ÁGUA

6.1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

A análise foliar visando a determinação de cálcio em tecidos vegetais, tem sido considerada de suma importância, tendo em vista ser este elemento um dos macronutrientes indispensáveis à nutrição vegetal.

Comumente, as amostras tomadas para análise, são submetidas à técnica de abertura por oxidação-ácida, ou à técnica de calcinação para posterior determinação do elemento em estudo. Outras técnicas de extração têm sido desenvolvidas para a determinação deste elemento em diferentes matrizes, oferecendo alternativas às técnicas usualmente conhecidas. Por outro lado, associados aos métodos de abertura da amostra, tem predominado as técnicas de chama<sup>1</sup> e absorção atômica<sup>3</sup> na determinação do cálcio.

Em 1960, Ward e Heeney<sup>2</sup>, determinaram cálcio em diferentes materiais de plantas, comparando os resultados obtidos por fotometria de chama, titulação com EDTA e turbidimetria.

Yanagisawa<sup>3</sup> e outros, determinaram traços de cálcio em ácido fóscico por absorção atômica, após extração do complexo de cálcio hidroxiquinolato com 3-metil-1-butanol. Baker e Greweling<sup>4</sup>, determinaram cálcio por espectrofotometria de absorção atômica, após extração com solução 0,1 M de NH<sub>4</sub> EDTA. Os resultados obtidos foram comparados àqueles encontrados, quando amostras das mesmas plantas foram submetidas à calcinação.

No presente trabalho, estudou-se a viabilidade da determinação de cálcio a partir dos extratos alcoólicos anteriormente utilizados nas determinações de potássio e fósforo e verificou-se os resultados para os mesmos materiais quando submetidos à calcinação.

## 6.2. DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

### 6.2.1. Construção da Curva de Calibração.

Aliquotas de uma solução estoque de cálcio a  $100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , foram transferidas para balões volumétricos de 50 ml, de modo a resultarem em concentrações variáveis de  $1,0$  a  $10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , contendo ainda  $0,1\%$  de lantânio, que foi adicionado para evitar a possível interferência do fosfato.

Fez-se as leituras em espectrofotômetro Zeiss PMQ 3, num comprimento de onda de  $422,7 \text{ nm}$ .

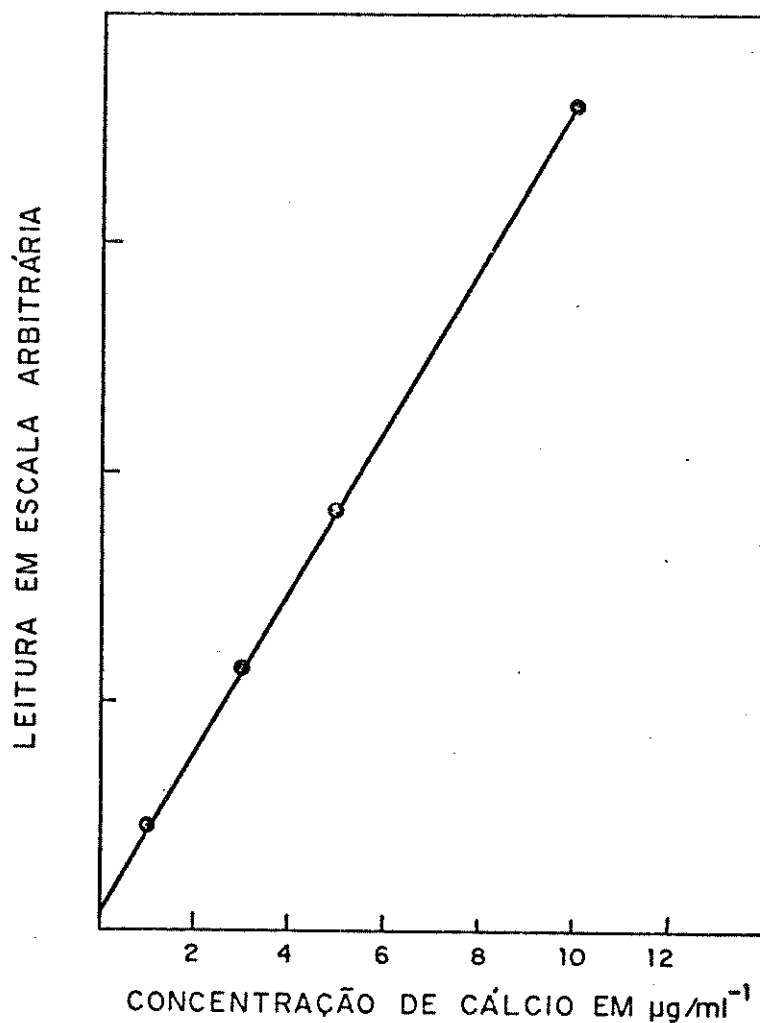


Fig. 6.1. Curva de calibração para a determinação de cálcio por Absorção Atômica ( $\lambda = 422,7 \text{ nm}$ ). Condições: corrente da lâmpada:  $10 \text{ mA}$ ; Pressão do gás acetileno:  $11 \text{ lb/pol}^2$ ; pressão do ar:  $15,5 \text{ lb/pol}^2$ ; altura do queimador:  $4-6 \text{ mm}$ ; Fenda:  $0,25 \text{ mm}$ .

TABELA 6.1. Determinação de Cálcio (%) sobre Matéria seca, em extratos alcoólicos de folhas de plantas por Absorção Atômica.

Amostras/Determinações	1	2	3	4	5	6	7	$\bar{x}$	s	s%	Valores Fornecidos (%)
Couve	2,95	2,94	2,98	2,75	2,63	2,50	2,50	2,75	0,20	7,3	-
Rúcula	1,88	1,75	1,88	1,88	1,94			1,87	0,07	3,7	-
Soja	0,94	0,94	0,97	0,94	0,97	1,00	1,10*	0,96	0,04	2,5	0,94 <sup>a</sup>
Café	0,85	0,94	0,91	0,91	0,90	0,81	0,97	0,90	0,06	6,7	0,81 <sup>a</sup>

a) CENA

\* Valor eliminado, vide em 6.3.

TABELA 6.2. Determinação de cálcio (%) sobre matéria seca, em extratos resultantes da calcinação de folhas de plantas, por absorção atômica.

Amostra /Determinação	1	2	3	4	$\bar{x}$	s	s%	Valores Fornecidos
Couve	2,94	2,88	2,81	2,87	2,88	0,05	1,7	-
Rúcula	1,75	1,81	1,80	1,78	1,79	0,03	1,7	-
Soja	0,95	0,95	1,02	0,85	0,94	0,07	7,4	0,94 <sup>a</sup>
Café	0,75	0,75	0,69	0,69	0,72	0,03	4,2	0,81 <sup>a</sup>

a) CENA



6.2.2 - Determinação de Cálcio nos Extratos Obtidos por Extração e por Calcinação.

Preparação das Amostras

Aliquotas variáveis dos extratos anteriormente obtidos, foram transferidas para balões volumétricos de 50 ml. Adicionou-se então 1,0 ml de solução à 5% em lantânio e completou-se o volume a 50 ml com água destilada.

Fez-se a leitura a 422,7 nm em espectrofotômetro Zeiss Modelo PMQ 3. Em todas as medidas efetuadas, aplicou-se o método de adição de padrão.

Os resultados obtidos para os extratos alcoólicos e de calcinação, constam respectivamente das Tabelas 6.1 e 6.2.

### 6.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS OBTIDOS.

Com a finalidade de se verificar a ocorrência de erros sistemáticos na determinação de cálcio a partir de extratos alcoólicos, bem como daqueles decorrentes de calcinação, aplicou-se o teste t, comparando-se a seguir os valores calculados com os valores críticos correspondentes ao número de determinações e, considerando-se um valor de  $\alpha = 0,05$ .

Os valores obtidos encontram-se na Tabela 6.3.

Ainda com o objetivo de se comparar os resultados decorrentes dos dois métodos de abertura de amostra, o teste t foi aplicado, considerando-se o mesmo valor de  $\alpha$  e fazendo-se uso da expressão.

$$t = \frac{\bar{x}_A - \bar{x}_B}{\sqrt{\frac{(n_A + n_B)(n_A s_A^2 + n_B s_B^2)}{n_A n_B (n_A + n_B - 2)}}} \quad (6.1)$$

onde  $\bar{x}_A$  e  $\bar{x}_B$  são os teores médias de cálcio resultantes do tratamento por extração e calcinação,  $s_A$  e  $s_B$ , os desvios padrões correspondentes, e  $n_A$  e  $n_B$  o número de determinações em cada caso.

Os valores calculados de t, bem como os valores críticos de t, encontram-se na Tabela 6.4.

Analisando-se os resultados obtidos na Tabela 6.3, vê-se que apenas no caso dos resultados obtidos a partir dos extratos alcoólicos de soja\*, o valor mais elevado, 1,10% deve ser eliminado, pois apresenta um valor crítico de 2,093 comparado ao valor calculado 2,400. Refazendo-se os cálculos, agora para um número de seis determinações, encontra-se um valor médio para o cálcio de 0,96% e desvio padrão de 0,027.

\* Vide tabela 6.1.

TABELA 6.3. Aplicação do Teste-T, aos resultados das determinações de Cálcio em diferentes amostras de folhas de plantas.

Amostra	$T_I$	$T_n$	$T_{Crítico}$
Couve (Extrato)	1,250	1,250	2,093
(Calcinado)	1,40	1,200	1,689
Rúcula (Extrato)	1,714	1,000	1,869
(Calcinado)	1,333	0,666	1,689
Soja (Extrato)	0,800	2,400	2,093
(Calcinado)	1,285	1,142	1,689
Café (Extrato)	1,50	1,166	2,093
(Calcinado)	0,666	1,50	1,689

$T_I = T$  calculado para o menor valor

$T_n = T$  calculado para o maior valor

TABELA 6.4. Aplicação do Teste-t aos resultados da determinação de Cálcio em diferentes amostras de folhas de plantas.

Amostra	Nº de Determinações	$t_{\text{Calculado}}$	$t_{\text{Crítico}}$
Couve (Extrato)	7		2,262
(Calcinado)	4	1,155	
Rúcula (Extrato)	5		2,365
(Calcinado)	4	1,882	
Soja (Extrato)	6		2,306
(Calcinado)	4	0,513	
Café (Extrato)	7		2,262
(Calcinado)	4	5,077	

#### 6.4. CONCLUSÕES

Sob o ponto de vista estatístico, os resultados obtidos para o cálcio a partir de extratos alcoólicos, podem ser considerados bastante satisfatórios em comparação aos decorrentes de calcinação das mesmas amostras. A determinação efetuada a partir de pequenas alíquotas dos extratos alcoólicos, se fez necessária para minimizar os efeitos do etanol na chama. O uso de adição de padrões também teve a finalidade de prevenir efeitos de interferentes.

Podemos concluir que o uso de extratos alcoólicos, é uma alternativa simples e rápida na determinação de cálcio em folhas de plantas, do mesmo modo que se tornou viável à determinação de potássio e fósforo, como descrito nos capítulos anteriores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. COOLEY, M.L., Cereal Chemistry. 30, 39-47, (1953).
02. WARD, G.M. e HEEENEY, H.B., Can. J. Plant Sci., 40(4), 589-595(1960).
03. YNAGISAWA, M., SUZUKI, M. e TAKEUCHI, T., Talanta, 14, 933-936, (1967).
04. BAKER, J.H. e GREWELING, T J. Agr. Food. Chem. 15(2), 340-344, (1967).

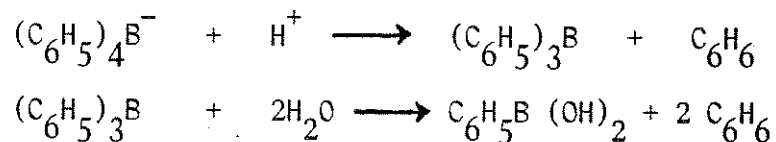
## 7. DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA DE POTÁSSIO USANDO TETRAFENILBORATO DE SÓDIO

### 7.1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

A determinação de potássio em diferentes materiais, tais como fertilizantes, solos e tecidos vegetais, tem sido comumente efetuada pelas técnicas de fotometria de chama e/ou absorção atômica. São ainda conhecidas algumas técnicas gravimétricas utilizadas na determinação deste elemento, entretanto, os métodos necessitam de especificidade e os precipitados podem ser de composição incerta.

Com a preparação do tetrafenilborato de sódio por Wittig e colaboradores<sup>2,3</sup>, foi possível o desenvolvimento de um método de precipitação do potássio em que um grande número de íons associados a este elemento não interferem.

O tetrafenilborato pode ser usado como sal de sódio ou de lítio, formas estáveis ao ar e que podem ser aquecidas a 400°C sem que ocorra fusão. A solução aquosa do sal de sódio, que é aproximadamente neutra, pode ser levada à ebulição sem decomposição. A forma ácida do reagente  $(C_6H_5)_4B$ , que é formada quando o material é tratado com um ácido mineral é, entretanto, instável e se decompõe segundo as equações abaixo:



O sal de potássio é insolúvel em água, mas se dissolve facilmente em acetona e outros solventes orgânicos. Alguns procedimentos baseados no uso do tetrafenilborato para a determinação de potássio foram publicados, sendo que o primeiro deles, desenvolvido por Wittig e colaboradores<sup>4</sup>, recomendava efetuar a precipitação do potássio em solução neutra à quente. O precipitado obtido seria então lavado com água e seco à 120°C. Procedimentos similares foram desenvolvidos para a determinação de íons rubídio, césio e amônio.

Modificações sugeridas ao método gravimétrico proposto, indicaram que o precipitado é de mais fácil separação por filtração, quando a precipitação for efetuada em solução aquosa à quente<sup>5</sup>, ou em ácido acético diluído à quente<sup>6</sup>,

na presença de cloreto de alumínio<sup>7</sup>. Kohler<sup>8</sup>, testou a influência das modificações propostas e sugeriu que a precipitação fosse efetuada à temperatura ambiente em uma solução contendo ácido clorídrico. Tentativas foram feitas para se desenvolver métodos volumétricos baseados na titulação do excesso de reagentes com nitrato de prata ou acidimetricamente<sup>9,10,11,12</sup>. Um método microvolumétrico para a determinação de potássio e sódio<sup>13</sup> e métodos para a determinação de potássio e nitrogênio<sup>14</sup>, com tetrafenilborato, também foram propostos. Experimentos mostraram que a precipitação do sal de potássio deveria ser conduzida em meio fortemente ácido para dar precipitado mais facilmente filtrável e, também, para evitar a precipitação de metais, tais como o ferro e o alumínio, que podem estar presentes na forma de seus hidróxidos.

O aquecimento da solução de reação, acima da temperatura ambiente, causa a rápida decomposição do reagente, e, à temperatura ambiente, o reagente acidificado é estável por apenas alguns minutos. O desenvolvimento da reação de precipitação quando a solução foi esfriada em uma mistura água-gelo, entretanto, evitou a decomposição por um considerável tempo. Experimentos mostraram, ainda, que apenas um ligeiro excesso de reagente é requerido no método gravimétrico. Paul e Gibson<sup>15</sup>, aplicaram o tetrafenilborato em testes qualitativos para a identificação do potássio e encontraram que  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}_2^{+2}$ ,  $\text{Hg}^{+2}$ , e  $\text{NH}_4^+$ , podem precipitar com este reagente. Outros cátions que, usualmente não aparecem nos esquemas de análise, como o  $\text{Tl}^+$ ,  $\text{Ce}^{4+}$ ,  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Rb}^+$  e  $\text{Cs}^+$ , também formam compostos insolúveis com tetrafenilborato. Alguns alcalóides, aminas e sais de amônio quaternários, também tem sido citados como capazes de formar precipitados com este reagente.

A identificação do íon  $\text{K}^+$  com tetrafenilborato, é superior ao teste com cobaltinitrito e ao teste de chama, particularmente na presença de grande quantidade de sódio.

Karman e colaboradores<sup>16</sup>, desenvolveram um método potenciométrico para a determinação de potássio na forma de tetrafenilborato de potássio com ajuda do nitrato de prata. Contudo o método não é suficientemente exato para a determinação de quantidades de potássio abaixo de 100 mg.

Posteriormente, os mesmos autores<sup>17</sup>, desenvolveram um método turbidimétrico para a determinação de potássio, em que o reagente em excesso era titulado fotometricamente com um sal de amônio quaternário, no caso o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). Schall<sup>18</sup>, usou o mesmo titulante para a determinação de quantidades de potássio entre 10 e 100 mg, fazendo uso do indicador azul de



bromofenol para visualizar o ponto final.

Gregoriwicz e Buhl<sup>19</sup>, desenvolveram um método turbidimétrico para a determinação simultânea de potássio e amônio em soluções 0,001 N, encontrando valores bastantes reprodutíveis, mesmo na presença de alguns íons interferentes.

Reed e Scott<sup>20</sup>, desenvolveram métodos para a determinação de potássio, por fotometria de chama, após extração do metal de solos e minerais com tetrafenilborato de sódio. Os métodos apresentam como alternativas: i) a separação do precipitado de tetrafenilborato de potássio com acetona, posterior evaporação desta e aquecimento do resíduo à 350°C; ii) uso da solução cetônica diretamente na chama após ajuste da razão acetona-água, à um nível conhecido, dentro das condições de operação da chama.

Thomas<sup>21</sup>, estudou a influência de alguns ânions na determinação de potássio com o reagente tetrafenilborato. Os resultados mostraram que concentrações maiores que 100 mg por 50 ml para os íons persulfato e periodato, podem causar erros significantes num método gravimétrico, quando da análise de uma solução que contenha 13 mg de potássio.

Mecrackan<sup>22</sup> e colaboradores, compararam os conteúdos de potássio em fertilizantes, obtidos por absorção atômica, com aqueles obtidos pelo método oficial com tetrafenilborato de sódio. Análises de 101 amostras, em triplicatas para cada método, mostraram uma precisão de 0,229% para o do tetrafenilborato de sódio e 0,424% para o de absorção atômica. Outros elementos normalmente encontrados em fertilizantes, tais como Cu, Fe, Mg, Mn, Zn, não interferem à 403,8nm. Pelos resultados obtidos, concluiu-se que o método do tetrafenilborato de sódio, tem uma precisão significativamente maior que o de absorção atômica, embora este último tenha a vantagem de ser mais rápido, comparado aos métodos oficiais, além de minimizar os efeitos de interferência, quando comparado à emissão em chama.

Janson e Zevins<sup>23</sup>, desenvolveram um método quantitativo para a determinação de potássio, rubídio e césio com tetrafenilborato de sódio, co-precipitados com tetraborato de amônio.

Um estudo visando a modificação do método oficial, para a determinação de potássio em fertilizantes com o reagente em estudo, foi desenvolvido por Hambleton<sup>24</sup>. O método modificado usa uma alíquota do extrato obtido para a determinação de  $P_2O_5$ , eliminando assim a pesagem e preparação da solução para a determinação de potássio, reduzindo o tempo de análise. Neste trabalho, o excesso de reagente tetrafenilborato adicionado ao extrato, é titulado com solução de cloreto de benzalcônio.

Os resultados obtidos foram bastante precisos e comparáveis aos método oficial. Para uma melhor precisão nos resultados, deve ser usada uma solução de tetrafe  
nilborato de concentração mais baixa.

Duthion e Grosman<sup>25</sup>, utilizaram o tetrafenilborato de sódio pa  
na a extração de potássio dos solos. Fizeram aplicações agrônômicas, como por  
exemplo, avaliação das reservas de potássio dos solos. Os estudos de extração  
foram desenvolvidos utilizando-se soluções de diferentes concentrações em tetra  
fenilborato, em soluções de variadas concentrações em NaCl.

Jain e Sarkar<sup>26</sup>, propuseram um método para a estimativa de po  
tássio em fertilizantes, comparando os resultados obtidos àqueles de fotometria  
de chama.

Do exposto, vê-se que o reagente tetrafenilborato, tem sido  
largamente aplicado à análises de fertilizantes, bem como de minerais e solos.  
Parece ser interessante, deste modo, o desenvolvimento de métodos automatizados  
com o uso deste reagente, em virtude da necessidade de análises de um grande nú  
mero de amostras destes materiais, como também a utilização do mesmo na análise  
de materiais como plantas, águas minerais e outros.

Procurou-se, neste trabalho, o desenvolvimento de um método  
turbidimétrico aplicado à determinação de potássio em extratos de folhas de  
plantas obtidos por extração usando-se o solvente etanol-água ou tratadas por  
calcinação.

Estudou-se, ainda, a interferência de vários íons como a  $\text{Ca}^{2+}$ ,  
 $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ . Os resultados obtidos foram comparados aos encontrados  
por fotometria de chama, nos mesmos materiais.

## 7.2 - DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

### 7.2.1 - Reagentes e Equipamentos

#### Reagentes

- a) Solução padrão de potássio a  $50 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$   
Pesou-se 0,0477 g de KCl seco e transferiu-se para balão volumétrico de  $500 \text{ cm}^3$  e completou-se o volume com água destilada.
- b) Solução de reagente tetrafenilborato de sódio em concentrações variáveis de 0,5 a 4% (v/v).
- c) Solução de glicerol a 10%.
- d) Solução de EDTA 0,01 M.
- e) Soluções a  $10 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$  de cada um dos íons:  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ .

Estas soluções foram preparadas a partir dos sais:  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$  e  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ .

#### Equipamentos

- a) Espectrofotômetro Micronal Modelo B - 382.
- b) Fotômetro de chama Micronal Modelo B - 262.

### 7.2.2 - Estudo da Estabilidade do Precipitado

Alíquotas de 2,0, 2,5 e 3,0 ml da solução padrão de potássio a  $50 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ , foram transferidas para balões volumétricos de 25 ml. Adicionou-se a seguir, 2,0 ml da solução do reagente a 3%. Tamponou-se a  $\text{pH} = 9$  com tetraborato de sódio 0,01 M. Juntou-se 5 ml de glicerol a 10%. Completou-se o volume e fez-se as leituras a 420 nm, usando-se um espectrofotômetro Micronal Modelo B - 382, com cubetas de 1,0 cm.

Os resultados obtidos estão representados na figura 6.1.

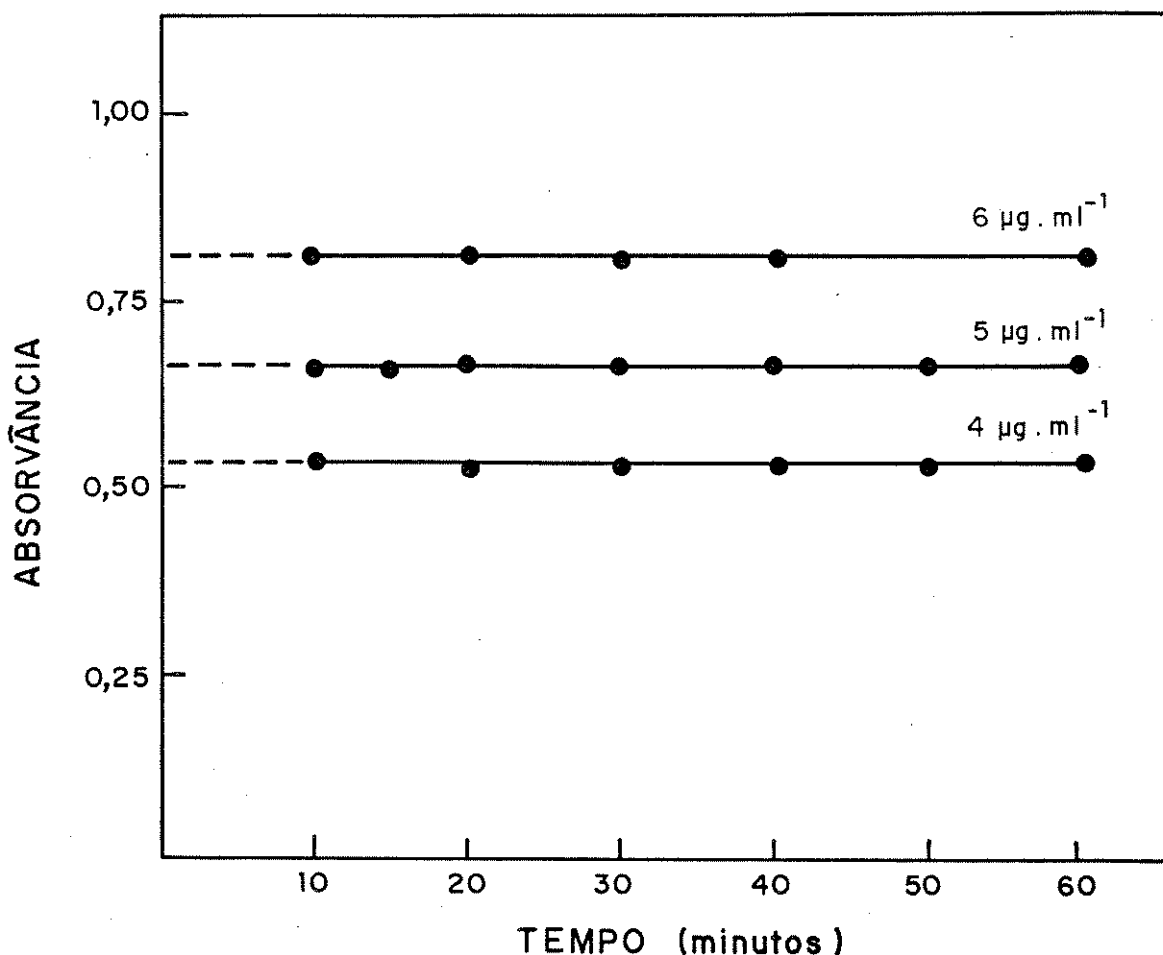


Fig. 7.1. Estudo da Estabilidade do Precipitado de Tetrafenilborato de Potássio.

### 7.2.3 - Estudo da Influência da Concentração do Reagente no Método Turbidimétrico

Alíquotas de 2,50 ml da solução padrão de potássio a 50 ppm, foram transferidas para balões volumétricos de 25 ml. Adicionou-se, então, a cada um, 2,0 ml de solução do reagente em concentrações variáveis de 1 a 3%, sendo as soluções tamponadas a pH = 9 com tetraborato de sódio 0,01 M. 5,0 ml de glicerol a 10%, foram adicionados a cada balão completando o volume com água destilada. Efetuou-se as leituras a 420 nm usando-se um espectrofotômetro Micronal, Modelo B - 382, com cubetas de 1,0 cm.

Os resultados representados na figura 7.2, indicam uma absorvância crescente, com o aumento da concentração do reagente.

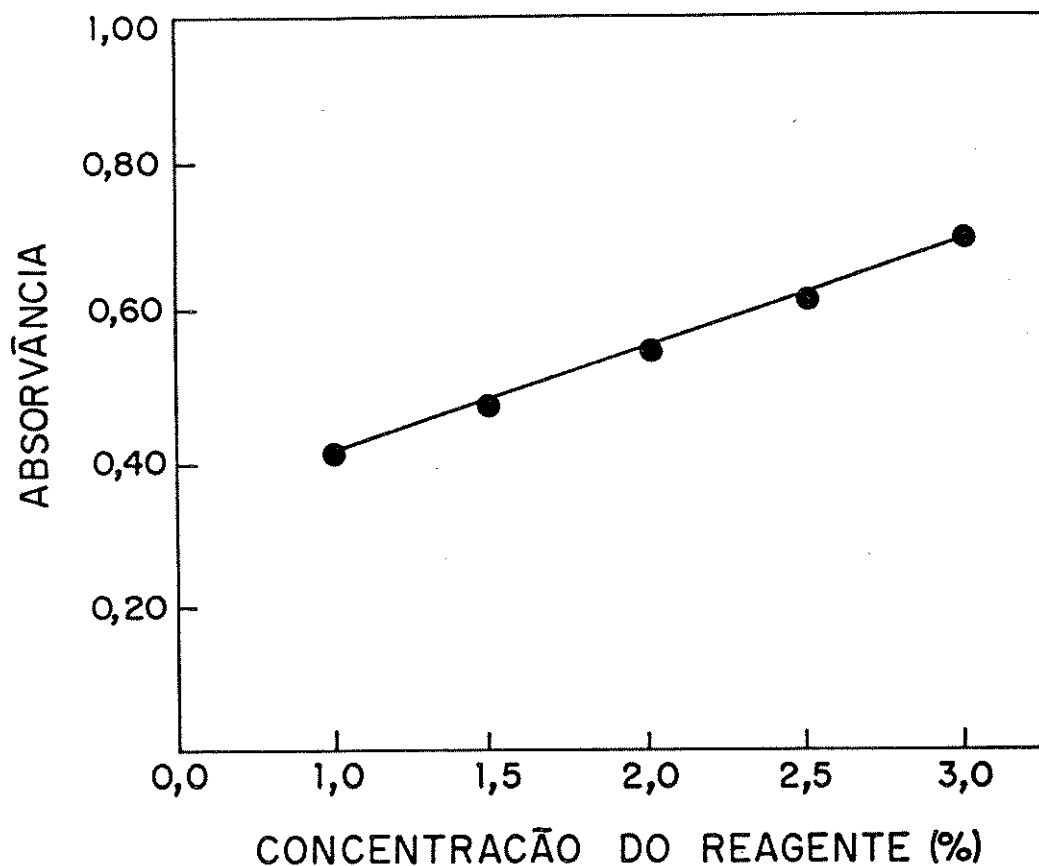


Fig. 7.2. Influência da concentração do reagente no método turbidimétrico do tetrafenilborato de sódio.

#### 7.2.4 - Estudo da Influência do Glicerol como Estabilizante no Método Turbidimétrico.

Aliquotas de 2,50 ml da solução padrão de potássio a  $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , foram transferidos para balões volumétricos de 25 ml, adicionando-se, em seguida, a cada um, 2,0 ml do reagente tetrafenilborato de sódio a 3%. Tamponou-se a pH = 9 com tetraborato de sódio. Quantidades variáveis da solução de glicerol foram adicionadas a cada balão, de modo a resultar concentrações finais de 0,5 a 2,5%. A absorvância foi medida após 20 minutos e os dados estão representados na fig. 7.3.

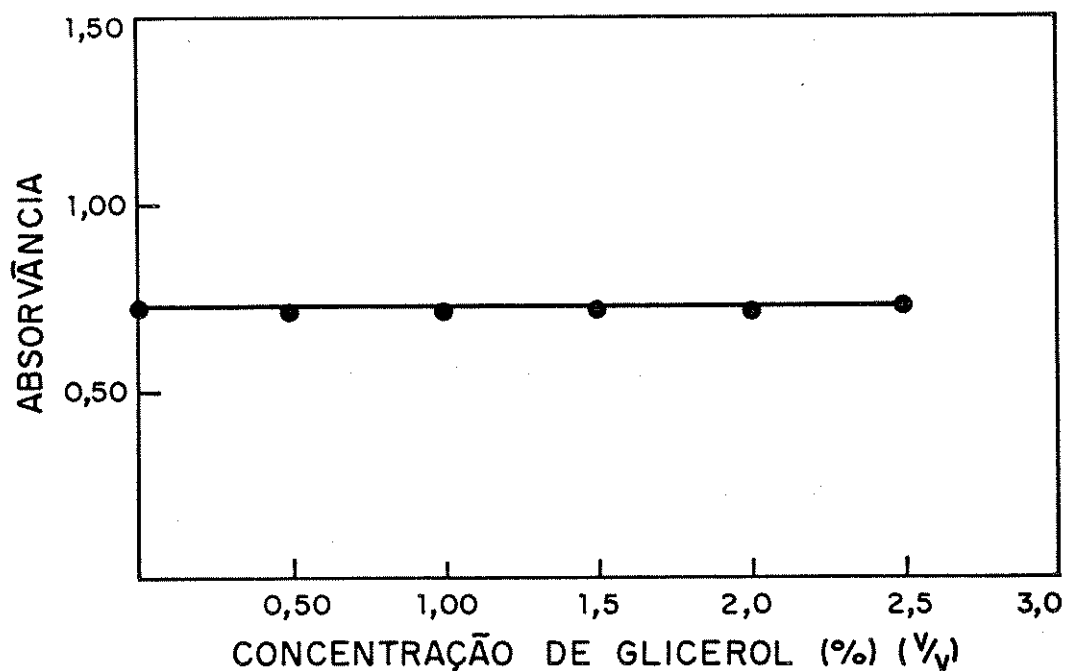


Fig. 7.3. Influência da Concentração de Glicerol no Método Turbidimétrico.

### 7.2.5 - Traçado da Curva de Calibração.

Estabelecidas as condições ótimas para desenvolvimento do método turbidimétrico, alíquotas de 1,0 a 5,0 ml da solução padrão de potássio a  $50 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ , foram transferidos para balões volumétricos de 25 ml. Adicionou-se, então, a cada um, 2,0 ml da solução do reagente a 3%. Tamponou-se a  $\text{pH}=9,0$  com tetraborato de sódio 0,01 M. Finalmente, 5,0 ml de glicerol a 10% foram adicionados, completando-se a seguir o volume com água destilada. Efetuou-se as leituras a 420 nm usando um espectrofotômetro Micronal Modelo B - 382, com cubetas de 1,0 cm.

Os resultados obtidos constam da Tabela 7.1, e estão representadas na fig. 7.4.

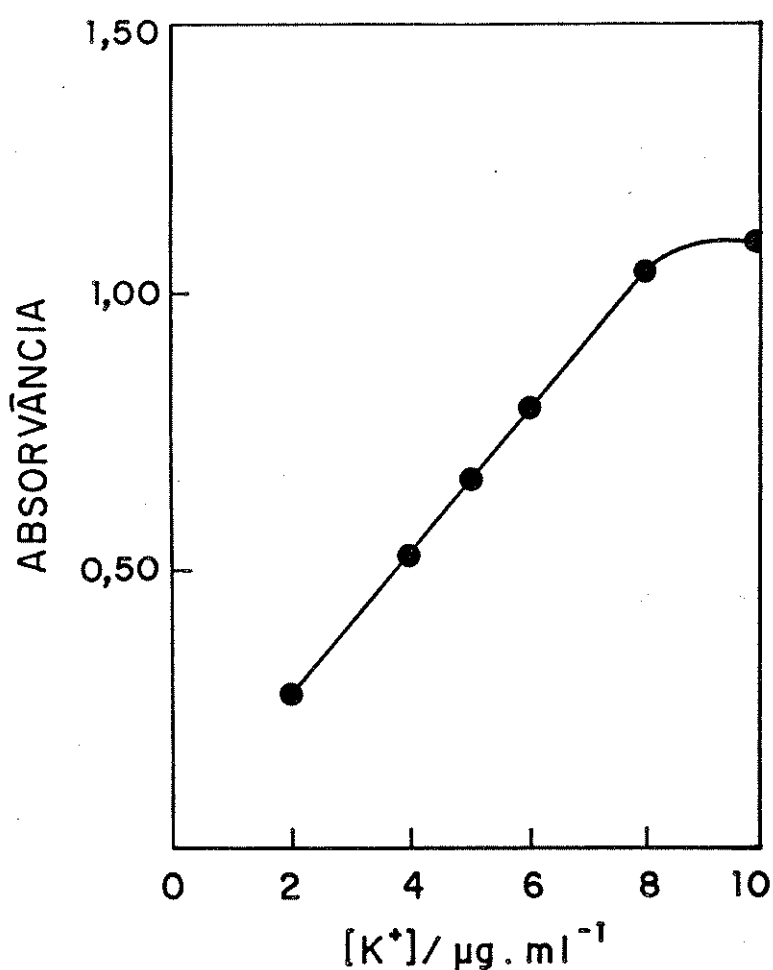


Fig. 7.4. Curva padrão para a determinação turbidimétrica de potássio com tetrafenilborato de sódio.

TABELA 7.1. Valores de absorvância obtidos para construção da curva de calibração do método turbidimétrico do tetrafenilbora to de sódio. pH = 9,0 (tetraaborato de sódio) Glicerol 2% - TFB 3%.  $\lambda = 420 \text{ nm}$

ml de solução a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ em potássio	Absorvância			A (Média)
1,0	0,253	0,252	0,252	0,252
2,0	0,530	0,529	0,528	0,529
2,5	0,655	0,657	0,655	0,655
3,0	0,809	0,808	0,809	0,808
4,0	1,027	1,028	1,028	1,027
5,0	1,091	1,091	1,091	1,091



Analisando-se a fig. 7.4, vê-se que a curva de calibração apresenta linearidade na faixa 50 a 200  $\mu\text{g}$  de potássio, no volume final de 25 ml. A curva de calibração, assim obtida, será utilizada na análise de extratos de plantas e os resultados serão comparados aos obtidos por fotometria de chama, para as mesmas amostras.

### 7.3 - ESTUDO DE INTERFERENTES NO MÉTODO TURBIDIMÉTRICO

Para se estudar o efeito de interferentes no método desenvolvido, quantidades conhecidas de potássio,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , foram adicionadas às soluções de amostras de referência.

Os resultados obtidos para as amostras IL 6 e IL 8, analisadas, mostraram que o efeito de matriz pouco influencia na determinação do elemento em estudo. Estes resultados, e os obtidos pela adição dos elementos acima às alíquotas das amostras em estudo, constam da Tabela 7.2.

Em todos os casos, utilizou-se alíquotas de 2,0 ml das soluções obtidas, e adicionou-se 2,0 ml de EDTA 0,1 M com a finalidade de se minimizar o efeito de interferentes.

Pelos resultados obtidos, vê-se que certos íons como o  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , e  $\text{Cu}^{2+}$ , podem interferir quando presentes nos níveis aqui estudados.

Pode-se concluir que o método é adequado para análise de extratos de plantas, pois elementos como o cobre e o ferro apenas estão presentes em níveis de ppm. Quando aplicado a outros materiais, que apresentem teores dos demais elementos, mais elevado que o do potássio, são necessárias etapas prévias de separação.

TABELA 7.2. Resultados obtidos por determinação turbidimétrica em amostras de extratos alcoólicos de folhas de plantas. Potássio adicionado: 50,0 µg/25 ml. EDTA adicionado:  $8 \times 10^{-3}$  M.

Amostras	Interferentes Adicionado	Quantidade Adicionada (µg)	Teor de K %	Teor Fornecido
IL 6	-	-	1,86	$1,83 \pm 0,11^a$
	K <sup>+</sup>	50,0	1,86	-
	Ca <sup>2+</sup>	50,0	1,60	-
	Cu <sup>2+</sup>	1,0	1,73	-
	Mg <sup>3+</sup>	50,0	2,18	-
	Fe <sup>+</sup>	5,0	1,65	-
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	50,0	1,71	-
IL 8	-	-	0,79	$0,76 \pm 0,06^a$
	K <sup>+</sup>	50,0	0,78	-
	Ca <sup>2+</sup>	50,0	0,81	-
	Cu <sup>2+</sup>	1,0	0,80	-
	Mg <sup>3+</sup>	50,0	0,97	-
	Fe <sup>+</sup>	5,0	0,73	-
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	50,0	1,09	-

\* Os resultados tabelados são a média de quatro determinações efetuadas. Teores de K% sobre matéria seca.

a = IAC

#### 7.4. Aplicação do Método Turbidimétrico à Determinação de Potássio em Extratos de Plantas.

O método turbidimétrico desenvolvido neste trabalho, foi aplicado à análise de extratos de plantas, com a finalidade de se determinar o seu teor em potássio.

Para isto, alíquotas variáveis de 2,0 a 5,0 ml do extratos obtidos, foram transferidas para balões volumétricos de 25 ml, adicionando-se a seguir, 2,0 ml da solução do reagente a 3%, 2,0 ml de EDTA 0,1 M 2,0 ml de tetraborato de sódio 0,01 M e 5,0 ml de glicerol a 10%, completando-se então o volume com água destilada. As leituras foram efetuadas a 420 nm, usando-se um espectrofotômetro Micronal Modelo B-382, com cubetas de 1,0 cm. Os resultados obtidos foram comparados aqueles da fotometria de chama e constam da tabela 7.3.

Posteriormente, estes dados foram submetidos a um tratamento estatístico com a finalidade de se eliminar possíveis erros nos sistemas. Foi feita, também, uma comparação dos resultados obtidos pelos dois métodos.

TABELA 7.3. Teores de Potássio (%) sobre Matéria Seca obtidas a partir de Extratos Alcoólicos de Materiais de Referência, pelo Método Turbidimétrico do Tetrafenilborato de Sódio.

Amostra/Determinação	1	2	3	4	5	6	7	8	$\bar{x}$	s	Valor Fornecido
IL 6 (Turbidimetria)	1,85	1,85	1,87	1,87					1,86	0,01	1,83 ± 0,11 <sup>b</sup>
(Fotometria de chama)	1,80	1,80	1,73	1,70	1,70	1,75	2,10	1,75	1,80	0,12	
IL 8 (Turbidimetria)	0,78	0,78	0,85	0,75					0,79	0,04	0,76 ± 0,06 <sup>b</sup>
(Fotometria de chama)	0,81	0,78	0,80	0,80	0,85	0,85			0,80	0,03	
Soja (Turbidimetria)	1,63	1,81	1,63	1,60					1,67	0,09	1,70 <sup>a</sup>
(Fotometria de chama)	1,75	1,80	1,75	1,69	1,70	1,80			1,75	0,04	

a) CENA

b) IAC

## 7.5. Análise dos Resultados Obtidos na Determinação de Potássio Através dos Testes -T e t.

### 7.5.1. Avaliação Mediante o Teste-T.

Com a finalidade de se detectar a presença de medidas grosseiras entre os resultados obtidos, aplicou-se o teste T aos resultados constantes da Tabela 7.3. Os valores de T calculados foram comparados aos valores  $T_c$  para o número de determinações efetuadas, considerando-se um valor  $\alpha = 0,05$ . Os valores obtidos constam da Tabela 7.4.

Verificou-se que, apenas o valor mais elevado na determinação de potássio na amostra IL 6, por fotometria de chama, deve ser eliminado, resultando, portanto, num teor médio para o potássio de 1,75% e desvio padrão igual 0,05.

TABELA 7.4. Avaliação dos Resultados Obtidos nas Determinações de Potássio em Extratos de Plantas Mediante o Teste-T ( $\alpha = 0,05$ ).

Amostra	$T_I$	$T_n$	$T_{\text{crítico}}$
IL 6 (Turbidimetria)	1,000	1,000	1,689
(Fotometria de chama)	0,830	2,500	2,172
IL 8 (Turbidimetria)	1,000	1,500	1,689
(Fotometria de chama)			
Soja (Turbidimetria)	0,444	1,555	1,689
(Fotometria de chama)	1,500	1,250	1,689

### 7.5.2. Avaliação dos Resultados Mediante o Teste-t.

Aplicou-se o teste-t aos resultados constantes da Tabela 7.3., com a finalidade de se comparar o teor de potássio obtido para os extratos analisados por turbidimetria e fotometria de chama. Os valores de t calculados, bem como os valores críticos de t, encontram-se na Tabela 7.5.

Tabela 7.5. Avaliação dos Resultados Obtidos na Determinação de Potássio em Extratos de Plantas Mediante o teste-t ( $\alpha = 0,05$ ).

Amostra	$t_{\text{calculado}}$	$t_{\text{crítico}}$
IL 6	0,911	2,201
IL 8	0,403	2,228
Soja	1,710	2,228

Os valores constante da Tabela 7.5., indicam que os resultados obtidos para o potássio, pelos métodos turbidimétricos e de fotometria de chama, são bastantes concordantes, uma vez que os valores t calculados, são inferiores aos valores críticos correspondentes ao número de determinações e coeficiente de confiança ( $\alpha = 0,05$ ) considerado.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. DUPUIS, T., Anal. Chim. Acta, 1953, 493.
02. WITTIG, G., KEICHER, RUCKERT, A., e RAFF, P., Annalen, 1949, 563, 110.
03. WITTIG, G., Angew. Chem., 1950, 62, 231.
04. WITTIG, G., e RAFF, P., Annalen, 1951, 573, 195.
05. RAFF, P., e BROTZ, W., Z. Anal. Chem. 1951, 133, 241.
06. FLASCHKA, H. Z. Anal. Chem., 1952, 136, 99.
07. RUDORFF, W. e ZANNIER, H., Z. Anal. Chem., 1952, 137, 1.
08. KOHBER, M. Z. Anal. Chem., 1953, 138, 9.
09. GEILMANN, W. e GEBAUHR, W., Z. Anal. Chem., 1953, 139, 161.
10. RUDORFF, W. e ZANNIER, H., Z. Anal. Chem., 1953, 140, 1.
11. FLASCHKA, H., AMIN, A.M. e HOLOSEK, A. Z. Anal. Chem., 1953, 138, 241.
12. RUDORFF, W., e ZANNIER, H., Z. Anal. Chem., 1953, 140, 241.
13. FLASCHKA, H., e AMIN, A.M. Chemist-Analyst., 1953, 42, 78.
14. SCHWAIBALD, Y. e KOHBER, M., Landw. jb. Bayern., 1953, 30, 55.
15. KARMAN, K.J., EINER BLADH e PER-GLOF-GEDDA., Mikrochim. Acta (Wien)., 1959, 5, 775-778.
16. PAUL, A.D. e GIBSON, JR. A.A., J. Chem. Ed. 1959, 36(8), 380-1.
17. KARMAN, K.J., BLADH, E. e GEDDA, P., Mikrochim. Acta., 1959, 5, 779-85.
18. SCHALL, E.D., Anal. Chem. 1957, 29, 1044.
19. GREGOWICZ, Z., e BUHL, FRANCISZEK., Mikrochim Acta, 1961, 130.
20. REED, M.G. e SCOTT, A.D., Anal. Chem. 1961, 33(6), 773-5.
21. THOMAS, J.D.R., Analyst, 1962, 87, 151-152.
22. MCCRACKAN, M.L., WEBB, H.J., HAMAMAR, H.E. e LVADHOLT, C.B., J. Ass. Offic. Anal. Chem., 1967, 50(1), 5-7.
23. JANSON, E. e ZEVINS, A., Uch. Zap. Rizkok.. Politekin Inst. Khim. Fask., 1962, 6(8), 57-62. of. CA, 60, 8633 a.

24. HAMBLETON, L.G., Journal of the ADAC., 1969, 52(3), 566-569.
25. DUTHION, C., e GRASMAN, R., Sci. Sol., 1971, 1, 79-91. Fr.
26. JAIN, I.M. e SARKAR, M.C., Fertilizer Technology, 1976, vol. 13. nº 1, 50-51.

## 8. DETERMINAÇÃO TURBIDIMÉTRICA DE POTÁSSIO POR ANÁLISE DE INJEÇÃO EM FLUXO

### 8.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS:

A demanda crescente de análises químicas, tem levado ao desenvolvimento de um grande número de diferentes métodos automatizados. O progresso, neste campo, tem sido estimulado pelas vantagens da automação, tais como: aumento de precisão, decréscimo de custos das análises e confiabilidade dos resultados. Os métodos automatizados, tem sido, ainda, como vantagem a análise de um grande número de amostras por unidade de tempo.

O método de análise por injeção em fluxo contínuo, desenvolvido por Ruzicka<sup>1,2</sup>, Bergamin<sup>6,8</sup> e colaboradores, tem sido aplicado por exemplo, na determinação espectrofotométrica e/ou potenciométrica<sup>3,4</sup> de fosfato<sup>5</sup>, nitrogênio<sup>6</sup> e cloro<sup>7</sup> em águas naturais ou materiais de plantas pré-digeridas, conseguindo-se um número superior a 250 determinações por hora.

O sistema de análise por injeção em fluxo, também foi adaptada à absorção atômica, à fotometria de chama e espectrometria de emissão, permitindo a determinação de cálcio, manganês e potássio em plantas. Os resultados são bastantes concordantes, com aqueles obtidos pelo procedimento convencional de absorção atômica.

Krug e outros<sup>8</sup>, adaptaram a injeção em fluxo contínuo, à determinação turbidimétrica de sulfato em águas naturais e plantas digeridas, conseguindo mais que 180 amostras por hora, e obtendo resultados satisfatoriamente comparáveis ao método turbidimétrico usual.

Trabalhos posteriores de Reis<sup>9</sup> e Krug<sup>10</sup>, propuseram a técnica de aprisionamento de amostra em análise por injeção em fluxo e a aplicaram com uma pequena variação à determinação espectrofotométrica de baixos níveis do íon amônio em águas naturais.

No presente trabalho, procurou-se desenvolver um método rápido, e relativamente de baixo custo, para a determinação de potássio em fertilizantes, plantas, etc, por precipitação com tetrafenilborato de sódio, num sistema de fluxo coalescente.

O sistema desenvolvido (fig. 8.1) consiste de dois fluxos separados de água (A) sobre os quais se injeta independentemente 400  $\mu$ l de solução a 3% de tetrafenilborato de sódio (B) e 400  $\mu$ l (C) da amostra. Todas as soluções, inclusive o carregador, contém 2% de glicerina como estabilizador da suspensão. Após a coalescência (E), há uma bobina (F) de 150 cm para que a reação se complete. A leitura é efetuada a 420 nm, num espectrofotômetro (G) com cela de fluxo de 1 cm de caminho ótico. Nestas condições, é possível se determinar entre 5 a 30 ppm de potássio. Para melhorar a sensibilidade, pode-se adicionar (D), em fluxo mais lento, uma solução concentrada de potássio de modo a se obter na linha, uma concentração na faixa de 1,5 a 3 ppm destes elementos. Isto cria condições mínimas para a precipitação permitindo uma melhor sensibilidade do método, isto é, até 1 ppm de potássio na amostra. O fluxo total usado foi de 2,76 ml/min, sendo o fluxo do reagente 1,2 ml/min, fluxo de amostra 1,2 ml/min e fluxo do KCl injetado 0,36 ml/min. Para se estabelecer as condições acima citadas, desenvolveu-se experimentos onde se estudou a influência do comprimento da bobina, volume da amostra, concentração dos reagentes e fluxo total. Por outro lado, estudos preliminares indicaram que o uso de glicerol a 2% em todas as soluções, resultou numa melhor precisão das medidas, bem como na altura do sinal obtido, ao contrário do uso do álcool polivinílico, que não apresentou resultados satisfatórios.

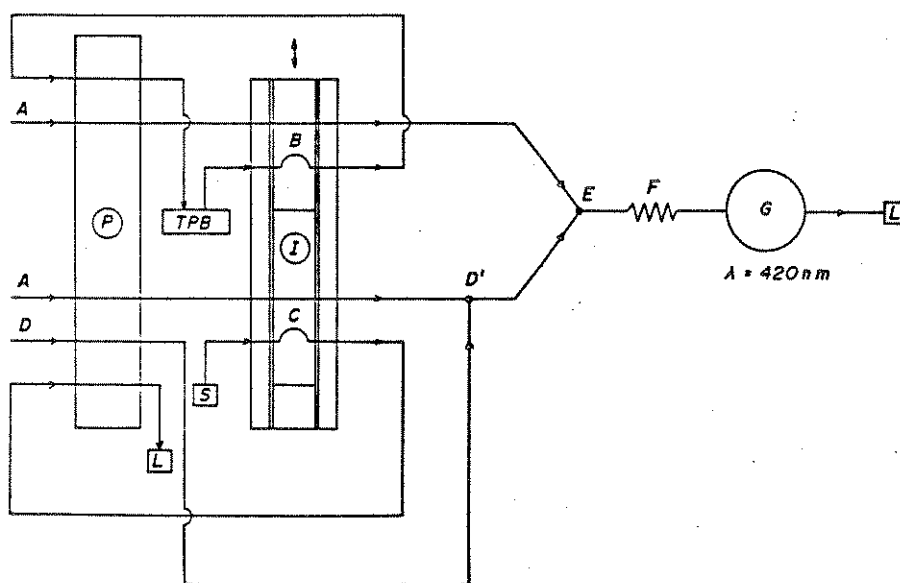


Fig. 8.1. Diagrama de fluxo de um sistema com zona coalescente para a determinação turbidimétrica de potássio com tetrafenilborato de sódio.

## 8.2. - INFLUÊNCIA DO COMPRIMENTO DE BOBINA.

Estudou-se a influência do comprimento da bobina no método proposto. Para isto, utilizou-se uma solução a 2,5% de tetrafenilborato e volume de amostra de 300  $\mu$ l, obtendo-se curvas de calibração para comprimentos de bobina de 60, 90, 150 e 200 cm.

Posteriormente, efetuou-se um estudo estatístico, tomando-se como base a concentração de 15 ppm, obtendo-se um menor desvio padrão relativo para o comprimento de bobina  $L = 150$  cm (Tabela 8.1).

Tabela 8.1. Desvio Padrão Relativo das Medidas de Absorvância de uma Solução a 15 ppm em Potássio, para diferentes Comprimentos de Bobina.

Comprimento de Bobina, L (cm)	Desvio Padrão (%)
60	1,73
90	0,70
150	0,59
200	1,40

A figura 8.2. representa a altura do sinal em centímetros em função do comprimento da bobina para uma solução a 15 ppm em potássio. Aí também pode ser vista a variação do desvio padrão relativo em função do comprimento da bobina.

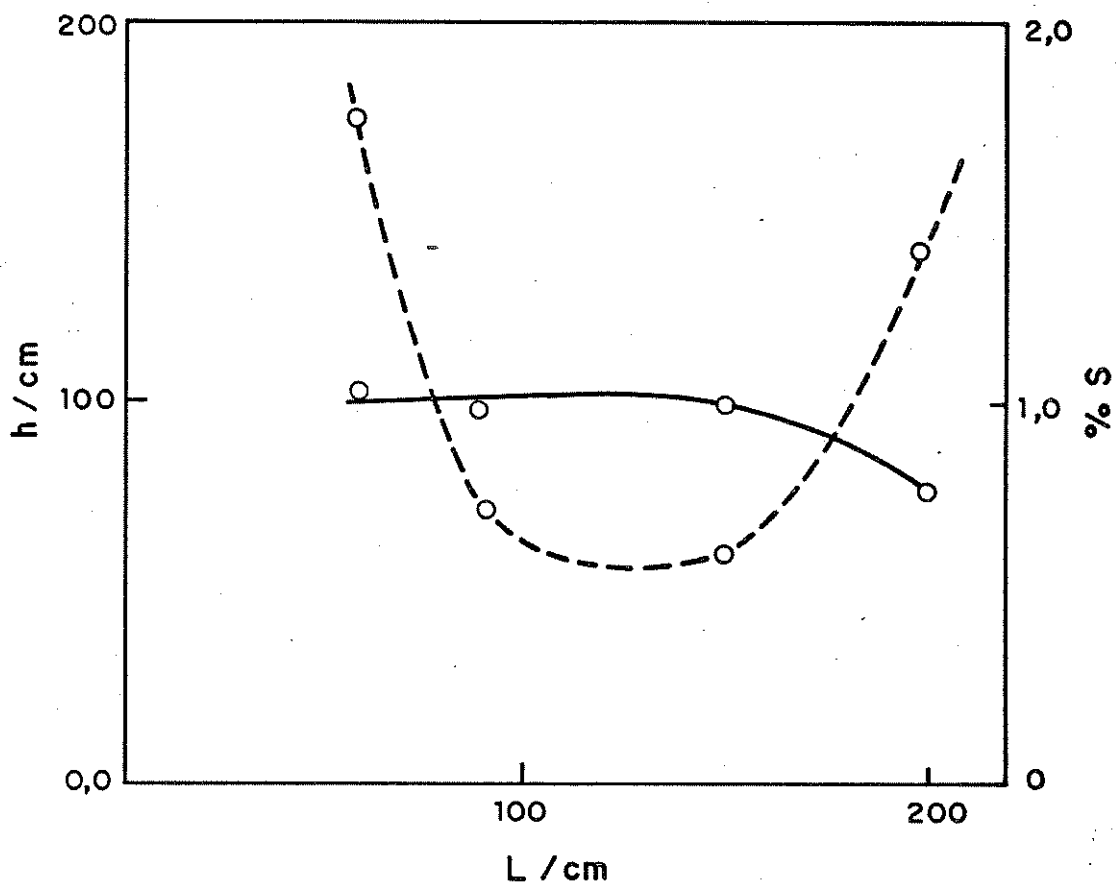


Fig. 8.2. Influência do comprimento da bobina.

— na altura do sinal  
- - - na estimativa do desvio padrão relativo.

concentração do potássio: 15,0 ppm

concentração do reagente: 2,5%

### 8.3. INFLUÊNCIA DO VOLUME INJETADO, DE AMOSTRA

Com a finalidade de se investigar a influência de volume de amostra na altura do sinal e precisão da medida, soluções com concentrações de potássio a 15 ppm foram injetadas em fluxo em volumes variáveis de 200 a 600  $\mu\text{l}$ , mantendo-se constantes outros parâmetros como concentração de reagente, fluxo total de amostra e teor em glicerol. Os resultados obtidos constam da Tabela 8.2.

TABELA 8.2. Estudo da Influência do Volume Injetado de amostra, na altura do Sinal e na Precisão da Medida. Concentração do Reagente 3,0%. Fluxo Total. 2,76 ml/min. Glicerol a 2%. Concentração de potássio 15 ppm.

Volume $\mu\text{l}$	h mm	s	s%	Nº de Medidas
300	93	1,0	1,1	5
400	104	2,0	2,0	5
600	100	2,0	2,0	5

Apesar do desvio padrão relativo apresentar-se mais favorável com um volume injetado de 300  $\mu\text{l}$ , adotou-se o volume de 400  $\mu\text{l}$  devido à maior altura do sinal. Além disto, como vemos na Tabela 8.3, a precisão obtida no estudo da influência do fluxo, fica melhor que 1%, mesmo com o uso de 400  $\mu\text{l}$  de volume injetado. Isto indica haver erros ocasionais que não justificam extremo rigor na escolha dos parâmetros.

#### 8.4. ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO FLUXO TOTAL.

Estudou-se a influência do fluxo total na cela, na altura do sinal e na precisão das medidas. Para isto, utilizou-se uma solução à 15 ppm em potássio, injetando-se um volume de amostra de 400  $\mu$ l e uma solução do reagente tetrafenilborato a 2,5%.

Os resultados obtidos constam da Tabela 8.3.

Tabela 8.3. Estudo da Influência do Fluxo Total, na altura do sinal e na precisão das medidas. Volume injetado: 400  $\mu$ l. Concentração do reagente: 2,5%. Concentração do potássio: 15 ppm. Glicerol: 2,0%.

Fluxo Total	h mm	s	s%	Nº de Medidas
2,76	107	0,7	0,7	5
3,40	109	0,5	0,5	5
3,70	84	1,1	1,8	5

Em virtude dos dois primeiros resultados obtidos, pouco diferirem com relação à altura do sinal, bem como referentemente ao desvio padrão, nos procedimentos seguintes foi usado um fluxo total de 2,76 ml/min. A menor altura de sinal, obtida quando se usou um fluxo total de 3,70 ml/min, deve ser atribuída ao fator velocidade, uma vez que o caminho analítico foi mantido constante em todo o experimento.

É interessante comparar os desvios padrões relativos, s%, obtidos no estudo da influência do fluxo (Tabela 8.3.) com aquele resultante no estudo do volume injetado (Tabela 8.2.). Observa-se uma diferença significativa nos desvios obtidos em experiências similares, o que pode ser, talvez, atribuído à fatores ocasionais.



### 8.5. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO REAGENTE;

Além do estudo da influência dos parâmetros como comprimento de bobina, volume injetado e fluxo na cela, estudou-se a influência da concentração do reagente no desenvolvimento do precipitado. Concentrações de 2,0%, 2,5% e 3,0% de tetrafenilborato foram usadas, obtendo-se melhores resultados quando se usou uma solução à 3% do reagente. A figura 8.3 representa os resultados obtidos para estas três concentrações usando soluções de potássio a 2,50, 5,00 e 7,50 ppm. Os mesmos resultados podem ser vistos na Tabela 8.4.

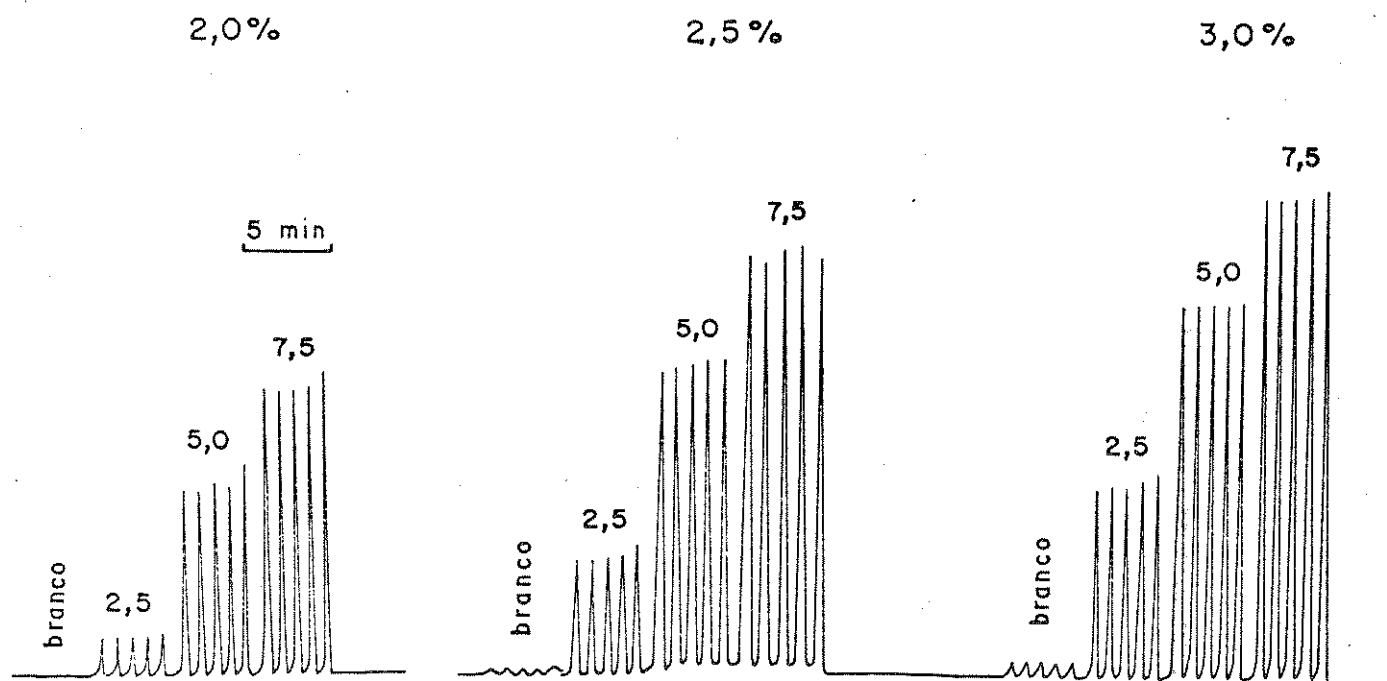


Fig. 8.3. Influência da concentração de reagentes na altura do sinal. Volume injetado. 400  $\mu$ l. Fluxo total. 2,76 ml/min. Glicerol. 2%.

TABELA 8.4. Estudo da Influência da concentração do reagente no sinal analítico.  
Volume injetado 400  $\mu$ l. Nº de medidas: 5 de cada. Fluxo total: 2,76  
ml/min: Glicerol: 2%.

Conc. reagente %	conc. K <sup>+</sup>	h mm	s	s%
2,0	0	0	-	-
	2,5	5,4	0,5	1,0
	5,0	26,2	1,0	3,8
	7,5	39,6	1,3	3,4
2,5	0	1	-	-
	2,5	16,6	0,9	5,4
	5,0	42,2	0,8	2,0
	7,5	57,4	1,1	1,9
3,0	0	5,4	0,5	1,0
	2,5	26,4	1,1	4,2
	5,0	51,5	0,4	0,7
	7,5	66,6	0,9	1,3

## 8.6. CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO.

Estabelecidas as condições anteriormente descritas, e, seguindo o esquema representado na figura 8.1., obteve-se a curva de calibração que vem representada na figura 8.5.

Para isto, soluções padrão de potássio, em concentrações variáveis de 1,25 a 30 ppm, foram injetadas e precipitadas com soluções de tetrafenilborato de sódio a 3%. Todas as soluções continham 2% de glicerina como estabilizador da suspensão. A solução do reagente foi tamponada a pH = 9 com solução 0,01 M de tetraborato de sódio.

Para os experimentos, usou-se uma bomba peristáltica Ismatec mp 13 GJ 4 e um espectrofotômetro Zeiss PM 2 D.

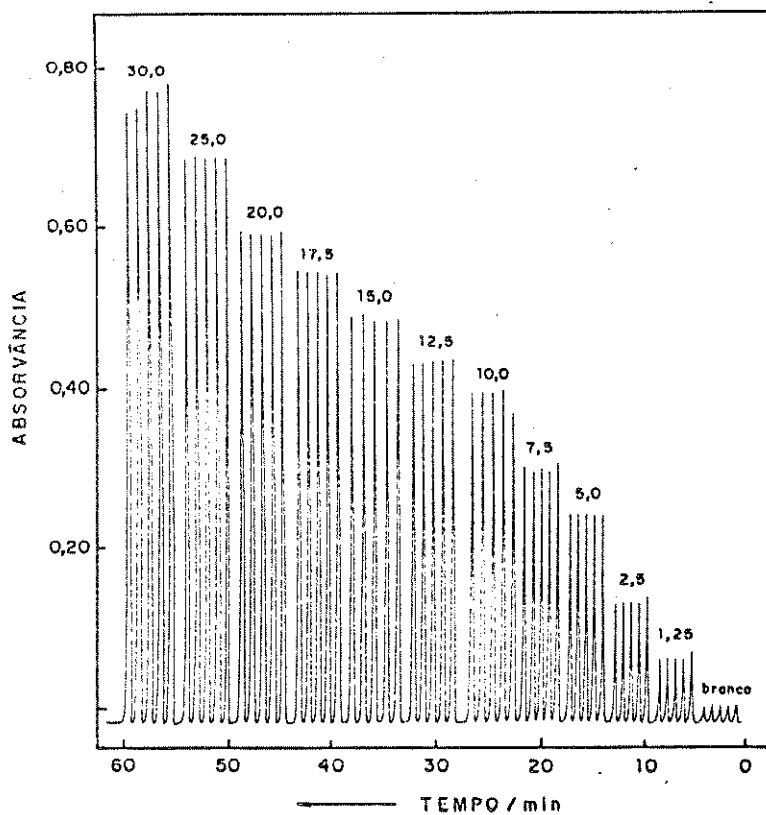


Fig. 8.4. Registro experimental da curva de calibração para determinação turbidimétrica de potássio com tetrafenilborato de sódio. Volume injetado 400  $\mu$ l. Reagente 3%. Fluxo total: 2,76 ml/min. Comprimento de bobina: 150 cm. Glicerol, 2%.

Por outro lado na fig. 8.7 uma outra representação da curva de calibração, mostra com maior clareza a faixa de linearidade seguida pelo método proposto.

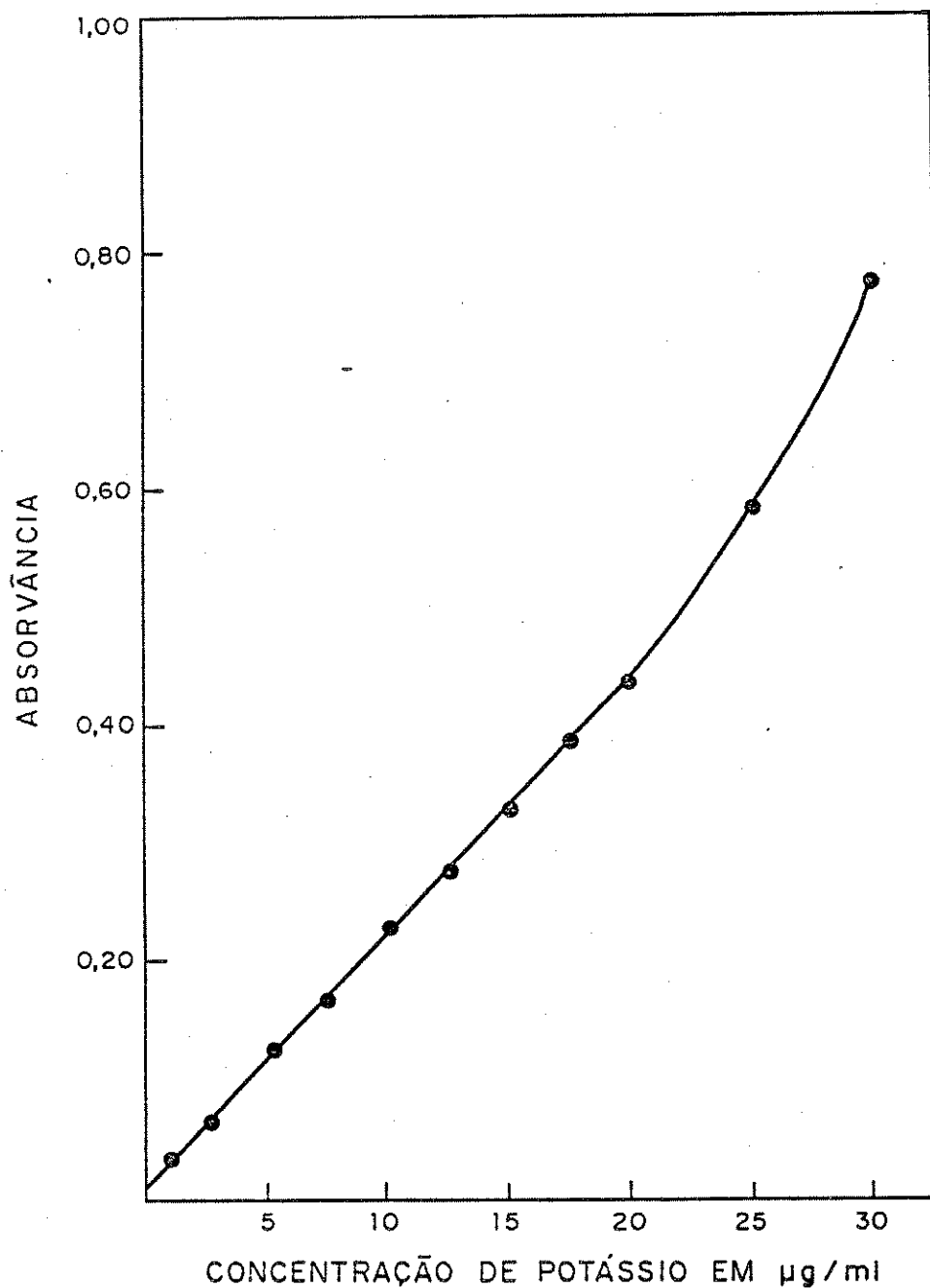


Fig. 8.5. Curva de calibração para determinação turbidimétrica de potássio com tetrafenilborato de sódio. Volume injetado 400 µl, Reagente 3%. Fluxo total 2,76 ml/min. Comprimento de bobina 150 cm. Glicerol 2%.

### 8.7. TESTES DE APLICAÇÃO DO MÉTODO.

Com a finalidade de estudar a viabilidade do método turbidimétrico desenvolvido, amostras de materiais diversos foram analisadas. Algumas foram aspiradas diretamente no sistema de fluxo como é o caso de amostras de águas minerais. Outras após diluição das soluções resultantes de extração aquo-alcoólica. Os resultados foram comparados com aqueles constantes nos rótulos de algumas amostras analisadas e, no caso das amostras de plantas, com os resultados obtidos por análise de fotometria de chama.

Os resultados tabelados a seguir, mostraram-se bastante satisfatórios, comprovando a viabilidade do método proposto.

TABELA 8.5. Teor de HCl em g/dm<sup>3</sup> em amostras de medicamentos, determinados por turbidimetria.

Amostra	a	b	
Hidrax	1,864	1,816 ± 0,013	(4)
Pedialite	1,54	1,496 ± 0,015	(5)

a) Concentração indicada no rótulo

b) Valor encontrado

Os valores entre parênteses, correspondem ao número de medidas.

TABELA 8.6. TEOR DE POTÁSSIO (%) SOBRE MATÉRIA SECA DE PLANTAS, DETERMINADOS POR TURBIDIMETRIA E FOTOMETRIA DE CHAMA, APÓS EXTRAÇÃO ALCOÓLICA.

Amostra	Fotometria de Chama	Fluxo Turbidimétrico
Rúcula	4,20 ± 0,28 (8)	4,50 ± 0,10 (3)
Repolho	4,19 ± 0,24 (6)	4,10 ± 0,04 (13)
Couve	5,85 ± 0,68 (7)	5,16 ± 0,20 (7)

Os valores entre parênteses, correspondem ao número de medidas.

TABELA 8.7. TEOR DE CLORETO DE POTÁSSIO EM g/LITRO EM AMOSTRAS DE ÁGUAS MINERAIS.

Amostra	a	b
Prata <sup>c</sup>	0,0107	0,00877 ± 0,00026 (5)*
Camanducaia <sup>d</sup>	0,0047	0,00522 ± 0,00009 (5)
Camanducaia <sup>e</sup>	0,0047	0,00483 ± 0,00010 (3)

a) valor do rótulo

b) valor encontrado

c) água de garrafa gasosa

d) água de copinho

e) água de garrafa gasosa

\* expressa como KCl. No rótulo, encontra-se KCl = 0,0059, KNO<sub>3</sub> = 0,026 e KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 0,053 g/l.

Os valores entre parênteses correspondem ao número de medidas.

## 8.8. CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, concluiu-se pela viabilidade do uso do método proposto, à análise de plantas, águas minerais, etc. Os resultados concordaram satisfatoriamente com os obtidos por outros métodos e com o especificado no produto. A precisão e a exatidão, mostraram-se melhores que 1%, na média, sendo possível realizar pelo menos 60 determinações por hora.

Portanto, o método se apresenta como uma alternativa à fotometria de chama e absorção atômica na determinação do potássio, bem como aos outros métodos existentes que usam o tetrafenilborato.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. RUZICKA, J. e HANSEN, E.H., Anal. Chim. Acta. 79, 145, (1975).
02. RUZICKA, J., STEWART, J.W.B. e ZAGATTO, E.A.G., Anal. Chim. Acta., 81, 387, (1976).
03. RUZICKA, J., HANSEN, E.H. e ZAGATTO, E.A.G., Anal. Chim. Acta., 88,1, (1977).
04. HANSEN, E.H., KRUG, F.J. e GHOSE, A.K. e RUZICKA, J., Analyst., 102-714 , (1977).
05. RUZICKA, J. e STEWART, J.W.B., Anal. Chim. Acta., 79, 79, (1975).
06. STEWART, J.W.B. e RUZICKA, J., BERGAMIN, Filho, H. e ZAGATTO, E.A.G., Anal. Chim. Acta., 81, 371, (1976).
07. RUZICKA, J., STEWART, J.W.B., e ZAGATTO, E.A.G., Anal. Chim. Acta., 81, 381, (1976).
08. KRUG, F.J., BERGAMIN, Filho, H. ZAGATTO., E.A.G., e JORGENSEN, S., Analyst., 102, 503-508, (1977).
09. REIS, B. F. JACINTO, A.D., MORTATTI, J., KRUG, F.J. e ZAGATTO, E.A.G., Anal. Chim. Acta., 123, 221-228 (1981).
10. KRUG, F.J., REIS, B.F., GINÉ, M.F. e ZAGATTO, E.A.G., Anal. Chim. Acta., 151, 39-48, (1983).