

BRAGANTIA

Boletim Científico do Instituto Agronômico do Estado de S. Paulo

Vol. 30

Campinas, novembro de 1971

N.º 16

DETERMINAÇÃO DE COBRE, FERRO, MANGANÊS E ZINCO, NUM MESMO EXTRATO DE PLANTA, POR FOTO- METRIA DE CHAMA DE ABSORÇÃO (1)

J. ROMANO GALLO (2), O. C. BATAGLIA (2) e P. T. NAYME MIGUEL (3),
*engenheiros-agrônomo, Seção de Química Analítica, Ins-
tituto Agronômico*

SINOPSE

É apresentado um método de determinação, num mesmo extrato de planta, de ferro, manganês e zinco na fase aquosa, e de cobre, após sua extração em solvente orgânico. Para êsse estudo usou-se um analisador automático de absorção atômica Perkin-Elmer, modelo 4A.

Somente a sílica, em certas concentrações, poderá constituir problema na determinação de manganês ou ferro, na ausência de cálcio.

Na extração quantitativa do cobre é necessário conservar o pH abaixo de 2, para evitar interferência de ferro.

1 — INTRODUÇÃO

O emprêgo do método de fotometria de chama de absorção não é praticável em pequenos laboratórios. Introduce muito mais variáveis que os métodos químicos e instrumentais mais simples, tornando-se necessário incluir os efeitos do sistema completo para avaliar o resultado da análise.

(1) Este trabalho recebeu auxílios do Instituto Brasileiro do Café e do convênio com o Banco Nacional do Desenvolvimento Econômico. Apresentado no XIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, realizado em Vitória, Estado do Espírito Santo, de 12 a 22 de julho de 1971. Recebido para publicação em 30 de julho de 1971.

(2) Com bolsa de suplementação do CNPq.

(3) Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo; posteriormente contratado para o Projeto 19, do Convênio entre o Instituto Agronômico e o Banco Nacional do Desenvolvimento Econômico — Fundepro 42.

Justifica-se quando houver interesse para um número considerável de determinações em relação à análise da maioria dos elementos contidos na amostra. Essa técnica vem sendo usada na Seção de Química Analítica, Instituto Agrônomo, na análise de materiais de interesse na agricultura, e particularmente em tecidos vegetais (3).

A dificuldade da determinação química do cobre e do zinco reside na ocorrência desses elementos em baixa concentração nas plantas (5, 6, 7, 11). Assim, os níveis críticos indicativos de deficiência para as principais culturas estão em torno de 5 ppm de cobre e 5 a 20 ppm de zinco, nas folhas. O ferro e o manganês ocorrem em concentrações relativamente mais elevadas.

Para ser considerado satisfatório é necessário que o método possibilite a determinação dos elementos em quantidades associadas a deficiências na planta, isto é, significativamente abaixo dos níveis de nutrição aceitos como críticos.

No presente trabalho, resultados satisfatórios foram obtidos para ferro, manganês e zinco, dosados diretamente no extrato aquoso, e para o cobre pela extração do íon complexo com solvente orgânico, depois da oxidação da amostra de planta por via úmida.

2 — MATERIAL E MÉTODOS

As determinações foram conduzidas utilizando-se de um sistema automatizado Perkin-Elmer, Modelo 4A, composto essencialmente de um espectrofotômetro de absorção atômica, modelo 303, dispositivo de leitura digital DCR 1, mesa de amostras LKB, impressor seqüenciador PRS 8 e contrôle D. Usou-se chama de ar-acetileno, com queimador padrão de $0,015 \times 4$ polegadas. O aparelho foi ajustado para as seguintes condições de trabalho:

	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco
Comprimento de onda, Å .	3247	2483	2795, 2798, 2801	2138
Fenda, mm	1	0,3	1	3

Leituras no medidor de escala arbitrária

Vazão de acetileno	5,5	9,0	9,0	9,0
Vazão de ar	6,5	9,0	9,0	9,0

Além dos reagentes normalmente necessários, foram empregados pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC), como agente de complexação, e isobutilmetil cetona (MIBK), como solvente extrator, na determinação de cobre. Na análise de matéria vegetal, pesou-se 1,000 g de amostra seca e moída e processou-se a digestão em balões de Kjeldahl de 50 ml, com 8 ml de HNO_3 , a baixa temperatura até coloração amarelo-palha. Acrescentaram-se, a seguir, 2 ml de uma mistura de $\text{HClO}_4 - \text{H}_2\text{SO}_4$ (7:1), e a digestão foi completada em chapa a temperatura elevada, acomodando-se os balões sobre copos de 250 ml. Deixou-se esfriar, adicionaram-se cerca de 5 ml de água desmineralizada e aqueceu-se à ebulição, por alguns segundos, à chama de um bico de Bunsen. Deixou-se esfriar, completou-se o volume a 50 ml com água desmineralizada e filtrou-se através de papel de filtro Whatman n.º 40.

Foram transferidos 30 ml do extrato para funis de separação, juntou-se 1 ml de solução de APDC a 1% e efetuou-se a extração do cobre em 10 ml de MIBK, por agitação durante 1 minuto. O cobre foi determinado na fase orgânica.

A porção remanescente de 20 ml foi reservada para a determinação direta de ferro, manganês e zinco.

3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 — ESTUDO DOS INTERFERENTES

Inicialmente estudou-se a influência dos ácidos clorídrico, nítrico, perclórico, sulfúrico e fosfórico na absorbância de soluções que continham 2 ppm de Zn, 5 ppm de Fe e 10 ppm de Mn.

As porcentagens de recuperação para cada elemento em função da prova em branco mostraram que soluções 0,5 N de HCl, HNO_3 ou HClO_4 não acarretaram qualquer interferência. Uma solução 0,5N de H_2SO_4 só afetou a determinação de manganês, obtendo-se uma recuperação de 90%. Na concentração 0,1N de H_3PO_4 houve recuperação de 100% de Zn, 91% de Fe e 90% de Mn; na concentração 0,5N a recuperação foi de 94% de Zn, 84% de Fe e 86% de Mn.

A interferência do fósforo foi constatada anteriormente por Allan (2), na determinação de ferro e manganês, e por Platte e Marcy (10), na determinação de zinco.

No quadro 1 são apresentados os dados sobre a influência do fósforo na determinação de Fe, Mn e Zn.

QUADRO 1. — Influência do fósforo na absorvância (*) de soluções que contêm diferentes concentrações de fósforo e 5 ppm de ferro, 5 ppm de manganês e 1 ppm de zinco

Fósforo (P)	Ferro 5 ppm	Manganês 5 ppm	Zinco 1 ppm
ppm			
0	33	96	81
100	34	105	84
200	33	97	80
500	34	101	80
1000	28	83	77

(*) Absorvância \times 1000

Verifica-se que até 500 ppm — 2,5% de P na amostra, nas condições do método — não houve interferência do fósforo.

A presença de 200 ppm de cada um dos íons Na^+ , Mg^{2+} ou Al^{3+} , 500 ppm de K^+ ou 1000 ppm de Ca^{2+} não afetou a absorvância de soluções com 1 ppm de zinco, 5 ppm de ferro e 5 ppm de manganês.

Segundo Platte e Marcy (10) a sílica interfere na determinação de ferro e manganês pela formação de silicatos, com redução do número de átomos no estado fundamental na chama. Não obtiveram, porém, interferência na determinação de 1 ppm de Zn, na presença de 1000 ppm de sílica. Esses autores sugerem a eliminação da interferência de 1000 ppm de sílica pela adição de 200 microgramas de Ca^{2+} por ml, na forma de cloreto de cálcio.

A interferência de silício e sua eliminação aparecem no quadro 2. Em virtude da variação do teor de cálcio nas plantas, procurou-se conhecer o efeito desse íon na eliminação da interferência do silício, na faixa de concentração entre 100 e 1000 ppm, equivalente a 0,5% e 5% de cálcio na amostra, respectivamente.

Nota-se pelos dados que houve maior interferência para o manganês.

QUADRO 2. — Eliminação da influência do silício na absorbância (*) de soluções que contêm ferro ou manganês, pela adição de cálcio na forma de cloreto de cálcio

Ferro	Manganês	Cálcio	Concentração do ion Si^{4+} em ppm			
			0	50	100	200
ppm	ppm	ppm				
5	---	0	46	47	45	35
5	---	100	48	51	49	39
5	---	200	45	49	54	51
5	---	500	49	53	49	49
5	---	1000	45	49	49	44
---	5	0	99	85	79	63
---	5	100	90	98	93	81
---	5	200	89	94	91	90
---	5	500	96	101	100	91
---	5	1000	97	95	88	86

(*) Absorbância $\times 1000$

A presença de 100 ppm de cálcio só não eliminou a interferência de 200 ppm de silício sobre a determinação de ferro ou manganês. A partir de 200 ppm de cálcio houve completa remoção da interferência do silício sobre a determinação de ferro. As concentrações de 200 e 500 ppm de cálcio foram as mais eficientes na determinação de manganês.

Outros dados, não apresentados no quadro, indicaram que até 200 ppm de silício não interferiram na determinação de 1 ppm de zinco, na ausência ou na presença das mesmas concentrações de cálcio.

O silício parece não constituir problema na determinação desses elementos, considerando o teor de cálcio normalmente presente no extrato e que na digestão em meio ácido do material vegetal a solubilização do silício dificilmente atinge 50 ppm no extrato.

De acôrdo com Bradfield e Spincer (4), os elementos Mg e S contidos nas plantas isoladamente não causam interferência na determinação do zinco. Juntos, porém, poderão provocar redução na absorção de zinco, o máximo de redução ocorrendo na razão molar de Mg para S de 2:3. Na chama de ar-acetileno êsse efeito é desprezível para soluções aquosas, acentuando-se em isopropanol a 20%. Atribuem o efeito à formação, na chama, de um composto que contém Mg e S na proporção indicada e que se ligaria ao zinco, impedindo sua completa dissociação em átomos. A interferência pode ser contornada pela adição de 1000 µg/ml de Mg nas soluções de amostra e nos padrões.

A fim de obter informações a êsse respeito, nas condições do presente método, organizou-se o estudo cujos dados são apresentados no quadro 3. A concentração máxima de enxôfre procedente do ácido sulfúrico usado na digestão da amostra está em tôrno de 3000 ppm. Na prática, essa concentração se situa entre 1000 e 2500 ppm de S.

QUADRO 3. — Influência de diversas concentrações e proporções de magnésio e enxôfre sôbre a absorbância (*) de soluções de ferro, manganês e zinco

Magnésio	Enxôfre	Ferro 5 ppm	Manganês 5 ppm	Zinco 1 ppm
ppm	ppm			
0	0	32	94	76
50	50	30	91	76
50	75	30	91	76
50	100	32	92	75
50	250	32	90	73
100	100	32	89	73
100	150	32	89	72
100	200	28	89	72
100	1000	31	93	72
100	2500	30	90	76
500	500	24	70	72
500	750	22	70	61
500	1000	22	76	63
500	2500	23	73	63

(*) Absorbância × 1000

Os dados do quadro evidenciam que os efeitos sôbre as absorbâncias das soluções de ferro, manganês e zinco, dentro dos limites das concentrações de magnésio e enxôfre estudados, estão relacionados com as concentrações elevadas de magnésio, associadas a quaisquer das concentrações de enxôfre.

Para uma concentração de 100 ppm de Mg ou 0,5% na amostra os efeitos são desprezíveis.

3.2 — EXTRAÇÃO DE COBRE

A determinação de cobre, diretamente no extrato aquoso ou pelo uso de solventes orgânicos miscíveis com a água (9), em geral não oferece sensibilidade suficiente na análise de plantas, em virtude da ocorrência desse elemento em baixas concentrações.

O cobre é quantitativamente extraído usando-se o sistema APDC/MIBK, numa faixa de pH de 0 a 6, na solução aquosa (figura 1).

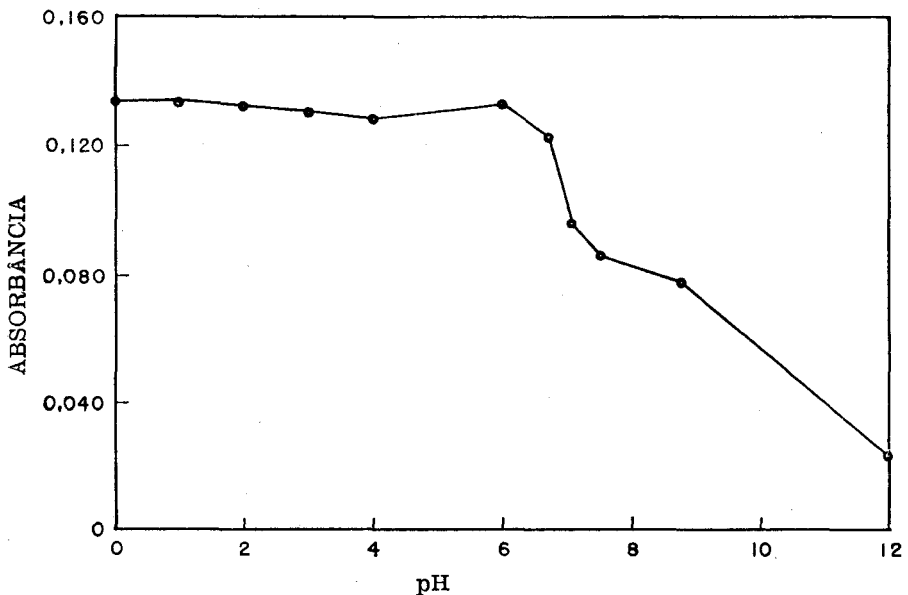


Figura 1. — Eficiência da extração do complexo cobre-pirrolidina ditiocarbamato de amônio em isobutilmetil cetona, em função do pH. Curva obtida para 10 microgramas de cobre na fase aquosa e 10 ml do solvente orgânico.

Mulford (8) apresenta uma tabela indicando uma faixa mais ampla de pH (abaixo de 0,1 a pH 8) como favorável para extração do cobre pelo mesmo sistema, quando aplicado à análise de diversos materiais.

Na separação do cobre pela extração, o ferro é co-extraído, dependendo a interferência da acidez e da quantidade de reagente usada (1, 12).

Para verificar o efeito do pH na separação do ferro foi organizado o estudo do quadro 4, de acordo com o procedimento descrito a seguir.

Em copos de 100 ml juntaram-se 25 ml de água desmineralizada, 10 microgramas de cobre e 1000 microgramas de ferro, e ajustou-se o pH com soluções diluídas de HCl e de NaOH. A solução foi então transferida para funil de separação, juntou-se 1 ml de solução a 1% de APDC e procedeu-se à extração em 10 ml MIBK. Determinou-se o cobre na fase orgânica e verificou-se novamente o pH da fase aquosa.

QUADRO 4. — Efeito do pH na extração de cobre, em presença de ferro, empregando-se o sistema de extração APDC/MIBK

Cobre	Ferro	pH inicial	pH final	Absorbância (*)
µg	µg			
10	0	0	0,2	166
10	1000	0	0,1	165
10	1000	1	1,0	165
10	1000	2	2,0	172
10	1000	5	7,0	100
10	1000	11	9,0	12

(*) Absorbância \times 1000

Pelos dados do quadro 4, observa-se que até pH 2 a presença de ferro não alterou os valores da absorbância na determinação de 10 microgramas de cobre. Valores de pH mais elevados alteraram a absorbância, pelo efeito direto do pH na extração do cobre ou pela co-extração de ferro.

Tentou-se a determinação de zinco na mesma fase reservada para o cobre, porém foram observadas dificuldades quanto à extração do zinco, que é muito sensível a variações de pH, exigindo o uso de soluções-tampão numa faixa de pH entre 3,5 e 5, e às devidas às oscilações verificadas nas absorbâncias, trabalhando-se com lâmpadas de cátodo ôco de Zn-Ca.

3.3 — PRECISÃO E EXATIDÃO

A precisão da determinação de cobre, ferro, manganês e zinco é apresentada no quadro 5 e foi determinada pela análise de amostras de material vegetal, com cinco repetições para cada amostra.

A exatidão do método foi testada adicionando-se quantidades conhecidas dos íons cobre, ferro, manganês e zinco a extratos de amostras de plantas. Os dados da recuperação são apresentados nos quadros 6 e 7.

QUADRO 5. — Precisão da determinação de cobre, ferro, manganês e zinco. Resultados em partes por milhão sobre matéria seca, na amostra

Material	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco
	ppm	ppm	ppm	ppm
Fólha de laranjeira	5,2 ± 0,2	109,4 ± 3,9	22,2 ± 0,7	19,0 ± 0,7
C.V. %	6,9	3,6	3,0	8,8
Fólha de cafeeiro	11,2 ± 0,1	106,4 ± 2,4	181,0 ± 4,9	6,8 ± 0,3
C.V. %	2,7	5,1	6,0	11,2
Fólha de feijoeiro	8,2 ± 0,2	107,6 ± 2,1	460,7 ± 17,6	21,9 ± 0,2
C.V. %	4,4	4,4	8,6	2,0
Fólha de milho (lâmina) ...	8,9 ± 0,1	74,7 ± 2,1	44,6 ± 0,6	11,6 ± 0,3
C.V. %	2,5	6,3	3,2	6,8
Fólha de bananeira (limbo) .	10,1 ± 0,1	110,0 ± 2,2	1173,0 ± 3,4	20,6 ± 0,2
C.V. %	1,5	2,0	0,6	2,7

QUADRO 6. — Recuperação de ferro e manganês adicionados a extratos de amostras de plantas

Material	Ferro		Recupe- ração	Manganês		Recupe- ração
	Na alíquota	Na alíquota + 4 ppm do íon		Na alíquota	Na alíquota + 4 ppm do íon	
	ppm	ppm	%	ppm	ppm	%
Cacau (fôlha)	4,24	8,17	98	6,62	10,50	97
Café (fôlha)	2,00	5,95	98	1,89	5,98	102
Alfafa (parte aérea) ..	2,42	6,36	96	0,42	4,72	107
Milho (lâmina foliar) .	3,43	7,36	98	0,84	4,93	102

QUADRO 7. — Recuperação de cobre e zinco adicionados a extratos de amostras de plantas

Material	Cobre		Recupe- ração	Zinco		Recupe- ração
	Na alíquota	Na alíquota + 0,5 ppm do íon		Na alíquota	Na alíquota + 1 ppm do íon	
	ppm	ppm	%	ppm	ppm	%
Cacau (fôlha)	0,45	0,95	100	0,88	1,90	102
Café (fôlha)	0,57	1,06	98	0,22	1,20	98
Alfafa (parte aérea) ..	---	---	---	6,55	7,44	98
Milho (lâmina foliar) .	1,00	1,52	104	0,40	1,38	99

Os resultados obtidos permitem afirmar que o método apresenta boa precisão e exatidão quando aplicado à análise de material vegetal, com algum erro na precisão para o zinco, decorrente da sua baixa ocorrência no extrato aquoso.

4 — CONCLUSÕES

Conclui-se pelos resultados obtidos que:

a) A determinação num mesmo extrato de plantas dos elementos cobre, ferro, manganês e zinco pelo método proposto requer concentração do cobre pela técnica de extração com solvente orgânico, enquanto para os demais elementos há sensibilidade suficiente para sua determinação diretamente no extrato aquoso.

b) Não interferiram nas determinações de ferro, manganês e zinco soluções 0,5 normal dos ácidos clorídrico, nítrico, perclórico. Nessa concentração o ácido sulfúrico afetou a recuperação de manganês. Não houve recuperação total de ferro e manganês em presença de solução de ácido fosfórico 0,1 normal e de zinco, quando na concentração 0,5 normal. Até 500 ppm de fósforo na solução não houve interferência.

c) A presença de 200 ppm de cada um dos íons Na^+ , Mg^{2+} ou Al^{3+} , 500 ppm de K^+ ou 1000 ppm de Ca^{2+} não provocou interferência na determinação de 5 ppm de ferro ou manganês ou 1 ppm de zinco.

d) O silício na concentração de 50 ppm interferiu na determinação de 5 ppm de manganês. Na concentração de 200 ppm interferiu sobre a determinação de 5 ppm de ferro. A presença de 100 ppm de cálcio eliminou a interferência de 100 ppm de silício, na determinação de manganês.

e) A presença de 500 ppm de magnésio no extrato juntamente com enxôfre provocou uma depressão na absorbância de soluções de ferro, manganês ou zinco.

f) O cobre pode ser extraído quantitativamente pelo sistema pirrolidina ditiocarbamato de amônio em isobutilmetil cetona na faixa de pH de 0 a 6. Até pH 2, a presença de 1000 microgramas de ferro não interferiu na determinação de 10 microgramas de cobre.

g) Os dados de precisão e exatidão obtidos permitem a aplicação do método na determinação de cobre, ferro, manganês e zinco em material vegetal.

THE DETERMINATION OF COPPER, IRON, MANGANESE AND ZINC IN
A BULK PLANT EXTRACT BY ATOMIC ABSORPTION SPECTRO-
PHOTOMETRY

SUMMARY

A method was developed to determine quantitatively Cu, Fe, Mn and Zn in a bulk plant extract, using flame absorption photometry. The process measures Fe, Mn and Zn directly in the aqueous solution, but a concentration of the extract with organic solvents is required for copper determination.

Essentially the process consists in obtaining the plant extract through digestion of 1.000 g of the ground dry samples, with HNO₃ and later with HClO₄-H₂SO₄ (7:1 v/v), then the solution is diluted to 50 ml with water. Thirty ml of this solution are transferred to a separatory funnel, where the copper is extracted by the ammonium pyrrolidine dithiocarbamate/methyl isobutyl ketone system, and its amount determined. It is necessary to keep the pH below 2 to avoid interference of Fe on Cu determination. Mn, Fe and Zn are determined directly in the remaining 20 ml of plant extract. It has been noticed that silicon might cause some problems in the determination of Fe and Mn, in the absence of Ca.

All the determinations were made in a Perkin-Elmer mod. 4A atomic absorption automatic analyser.

LITERATURA CITADA

1. ALLAN, J. E. The determination of copper by atomic absorption spectrophotometry. *Spectrochimica Acta* 17:459-466, 1961.
2. ————. The determination of iron and manganese by atomic absorption. *Spectrochimica Acta* 10:800-806, 1959.
3. BATAGLIA, O. C. & GALLO, J. R. A determinação de cálcio e magnésio em plantas, por fotometria de chama de absorção. *Bragantia* (a publicar)
4. BRADFIELD, E. G. & SPINCER, D. Leaf analysis as a guide to the nutrition of fruit crops. VI. Determination of magnesium, zinc and copper by atomic absorption spectroscopy. *J. Sci. Fd Agric.* 16:33-38, 1965.
5. GALLO, J. R.; HIROCE, R. & ALVAREZ, R. Levantamento do estado nutricional de canaviais de São Paulo pela análise foliar. *Bragantia* 27:149-166, 1968.
6. ————; ————; BATAGLIA, O. C. & MORAES, F. R. P. Levantamento de cafézais do Estado de São Paulo pela análise química foliar. II. Solos Podzolizados de Lins e Marília, Latossolo Roxo e Podzólico Vermelho Amarelo-Orto. *Bragantia* 29:237-248, 1970.

7. IGUE, K. & GALLO, J. R. Deficiência de zinco em milho no Estado de São Paulo. São Paulo, IBEC Research Institute, 1960. 16p. (Boletim 20)
8. MULFORD, C. E. Solvent extraction techniques for atomic absorption spectroscopy. Atomic Absorption Newsletter 5:88-90, 1966.
9. PANDAY, V. K. & GANGULY, A. K. The use of water — miscible organic solvents in atomic absorption spectrophotometry. Anal. Chim. Acta 52:417-423, 1970.
10. PLATTE, J. A. & MARCY, V. M. Atomic absorption spectrophotometry as a tool for the water chemists. Atomic Absorption Newsletter 4:289-292, 1965.
11. RODRIGUEZ, O. & GALLO, J. R. Levantamento do estado nutricional de pomares cítricos de São Paulo pela análise foliar. Bragantia 20:1183-1202, 1961.
12. SLAVIN, W. Atomic absorption spectroscopy. New York, Interscience, 1968. p.102-104.