

Sobre a determinação do Nitrogênio, do Fósforo e do Potássio no mesmo extrato

E. MALAVOLTA, J. P. ARZOLLA e H. P. HAAG

Cadeira de Química Orgânica e Biológica

E. S. A. "Luiz de Queiroz" U. S. P. — Piracicaba

ÍNDICE

1 — Introdução	14
2 — Material e métodos	14
3 — Resultados e discussão	15
4 — Resumo e conclusões	19
5 — Summary	19
6 — Agradecimentos	19
7 — Literatura citada	19

1. INTRODUÇÃO

DAMLE e KRISHNAN (1954) descreveram um método para a determinação do nitrogênio e fósforo totais no mesmo extrato, usando na digestão ácido sulfúrico e água oxigenada a 30 por cento.

No presente trabalho adaptamos a marcha analítica para a determinação do nitrogênio, fósforo e potássio contido em tecidos vegetais. Isto foi feito para facilitar a dosagem desses três macronutrientes — os mais importantes para o metabolismo das plantas superiores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. *Obtenção do extrato.* Coloca-se em um balão de Kjeldahl de 30 ml — ou num tubo de ensaio com tamanho correspondente — 250 mg de material seco e triturado. Junta-se 4 ml de H₂SO₄ concentrado, cobre-se frouxamente e leva-se para um banho de arcia aquecido por bico de gás. Digere-se a princípio com chama fraca e, depois que o material se dissolveu, aquece-se fortemente até ao aparecimento de fumos; resfria-se durante meio minuto e junta-se, deixando correr pelas paredes, 4 gotas de Perhydrol Merck. Torna-se a cobrir os tubos frouxamente continuando o aquecimento; de 15 em 15 minutos juntam-se mais 4 gotas de Perhydrol; a digestão prossegue até que o extrato fique completamente incolor; em geral são necessárias 24-30 gotas de água oxigenada. Continuar o aquecimento durante meia hora mais; esfriar, diluir com água e aquecer à ebulição durante 3 minutos. A digestão em geral se completa em 3-4 horas. Filtrar para um balão de 50 ml e completar ao volume.

2.2. *Determinação do nitrogênio.* No método de DAMLE e KRISHNAN (1954) o nitrogênio era determinado mediante microdestilação da amônia formada. Verificamos, porém, que resultados idênticos podiam ser conseguidos fazendo-se nesslerização direta do extrato; é necessário, entretanto, usar uma quantidade relativamente grande (10 ml) do reagente para compensar a acidez da amostra. A determinação é feita pipetando-se uma alíquota de 1 a 5 ml para um balão de 100 ml, juntando-se mais ou menos 50 ml de H₂O destilada e agitando-se;

adiciona-se então 10 ml do reagente de Nessler, completa-se ao volume, agita-se e depois de 20 minutos lê-se a densidade ótica num colorímetro fotoelétrico com filtro azul. Simultaneamente faz-se uma prova em branco e vários padrões.

2.3. *Determinação do fósforo.* É feita colorimetricamente, com base na conhecida reação do azul de molibdênio. Uma alíquota de 1-5 ml é pipetada para um balão de 100 ml a que se junta mais ou menos 50 ml de H₂O destilada; adiciona-se 5 ml de molibdato de amônio a 2,5 por cento em H₂SO₄ 10 N, completa-se ao volume e agita-se; junta-se 2 ml de SnCl₂ a 2% agita-se e 10 minutos depois faz-se a leitura (filtro vermelho).

2.4. *Determinação do potássio.* Devido à simplicidade de técnica escolhemos o método volumétrico do cobaltinitrito para a determinação do potássio. Como o NH₄⁺ dá um precipitado com esse reagente, torna-se necessário eliminá-lo previamente; isto se faz com água régia. A marcha operatória é a seguinte: 10-25 ml de alíquota (entre 0,2 e 2 mg de K) são transferidas para uma cápsula de porcelana de 50 ml de capacidade que é posta em banho d'água para evaporar; quando no fundo da cápsula houver apenas ácido sulfúrico com substâncias em solução, retira-se a mesma e junta-se 4-5 ml de água régia que deve correr pelas paredes. Cobre-se com vidro de relógio e leva-se para evaporar sobre chapa quente; quando não houver mais reação violenta, deixa-se as cápsulas semidescobertas, mantendo-as sobre a chapa quente até secar; passa-se 1 ml de HNO₃ concentrado pelo vidro de relógio recolhendo o ácido na cápsula; seca-se em banho d'água fervente e, se necessário, filtra-se para outra cápsula retomando-se previamente com 2-3 ml de água destilada. A seguir o potássio é precipitado pelo cobaltinitrito, seguindo-se a marcha usual.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. *Nitrogênio.* Inicialmente procuramos comparar a recuperação conseguida mediante microdestilação com a obtida por nesslerização direta (10 ml do reativo de Nessler). Os resultados foram os seguintes:

Material	Leitura colorimétrica	
	Destilação	Nesslerização direta
10 ml padrão (*)	7,75	8,00
2 ml extrato (**)	10,25	10,55

(*) 1 ml padrão = 0,012mg N

(**) 250 mg folha de cana de açúcar em 50 ml

Os dados acima são médias de várias determinações bem concordantes. Vê-se, portanto, que a destilação não é necessária; pode-se determinar o nitrogênio total por nesslerização direta numa alíquota apropriada. A coloração se desenvolve bem sendo as soluções perfeitamente transparentes.

Como dissemos no início, a acidez do extrato deveria provavelmente influir na coloração desenvolvida, porque iria neutralizar em parte a acidez do reagente de Nessler. Foram ensaiadas, então, várias quantidades do Nessler, chegando-se à conclusão de que 10 ml é a quantidade a usar. Resultados típicos são os seguintes :

Material	ml reag. Nessler	Leitura colorimétrica
2 ml extrato	5	9,0
2 ml extrato	10	10,5
2 ml extrato	15	10,5
4 ml extrato	10	21,5
4 ml extrato	15	21,25

Foi ensaiada depois a recuperação obtendo-se valores como os que seguem :

Recuperação do nitrogênio

Material	mg N encontradas	Recuperação
1. 10 ml padrão	0,100	6
2. 2 ml extrato	0,131	—
3. 1 + 2	0,229	99
4. 4 ml extrato	0,268	102
5. 1 + 4	0,362	98

Finalmente, para testar a validez do método comparâmo-lo com o macro Kjeldahl. Os resultados das determinações feitas em diferentes folhas de fórmio (*Phormium tenax*) são dados a seguir :

Comparação de métodos

Amostra	Nesslerização diréta	Macro Kjeldahl
	N %	
1	1,20	1,10
2	0,77	0,80
3	0,75	0,79
4	0,89	0,81
5	0,93	1,00

Vê-se no quadro acima, que a técnica ora em discussão dá resultados comparáveis aos obtidos com a macrodeterminação.

3.2. *Fósforo*. Como na preparação do extrato usamos substâncias altamente oxidantes — ácido sulfúrico e H₂O₂ a 30 por cento apareceu logo a possibilidade de interferência na dosagem colorimétrica do fósforo, uma vez que, a mesma se baseia na redução (pelo cloreto estanhoso) do complexo de fosfomolibdato de amônio. Verificamos logo que a dificuldade podia ser contornada usando-se 2 ml da solução de cloreto estanhoso a 2%. E' o que demonstram os dados seguintes :

Recuperação do fósforo

Material	mg P encontradas	Recuperação %
1. 1 ml padrão (*)	0,025	—
2. 2 ml padrão	0,050	—
3. 1 ml extrato	0,006	—
4. 2 ml extrato	0,012	100
5. 3 ml extrato	0,019	105
6. 1 + 3	0,030	96
7. 2 + 4	0,059	95

(*) 0,4394 g KH₂PO₄ em 1.000 ml; 250 em 1.000; 1 ml = 0,025 mg P.

3.3 *Potássio*. Na determinação do potássio usamos para fator de conversão: 1 ml KMnO₄ 0,05 N = 0,310 mg de K. Como

já foi mencionado, em vista do método analítico usado para a determinação do potássio, havia necessidade de eliminar os sais amoniacais formados durante a digestão a fim de não se ter resultados erroneamente altos. A eficácia da eliminação do sulfato de amônio com água régia se acha ilustrada na tabela seguinte :

A recuperação do potássio foi aceitável como se vê a seguir :

Eliminação dos sais amoniacais com água régia

Material	ml KMnO ₄ 0,05 N gastos	
	Marcha usual	Água régia
1. 20 ml extrato	2,6	2,2
2. 2 mg K	7,0	7,1
3. 4 mg K	14,1	14,1
4. 1 + 2	9,6	9,3
5. 5,5mg (NH ₄) ₂ SO ₄	5,1	0,1
6. 1 + 5	6,7	2,3

Recuperação do potássio

Material	mg K existentes	mg K encontradas	Recuperação %
1. 20 ml extrato	—	0,682	—
2. 5 ml solu. padrão K ₂ SO ₄	2,0	2,1	105
3. 10 ml solu. padrão K ₂ SO ₄	4,0	4,3	107
4. 1 + 5	2,682	2,883	106

4. RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho descreve-se a determinação do nitrogênio, fósforo e potássio em tecidos vegetais no mesmo extrato. A digestão é feita oxidando-se 250 mg de material seco e triturado com ácido sulfúrico concentrado e água oxigenada a 30 por cento.

O nitrogênio é determinado por nesslerização direta usando-se uma alíquota de 1-5 ml que depois de diluída a 50 ml recebe 10 ml de reagente de Nessler; completa-se a 100 ml e depois de 20 minutos lê-se a extinção.

Uma alíquota de 1-5 ml presta-se para a determinação do fósforo depois de redução do fosfomolibdato com 2 ml de SnCl₂ a 2%.

O potássio é determinado volumetricamente pelo cobaltinitrito numa alíquota de 10-25 ml, depois, da destruição dos sais amoniacais com 4 ml de água régia.

5. SUMMARY

The determination of total nitrogen, phosphorus, and potassium in plant material can be carried out in a common extract prepared with sulphuric acid and 30 per cent hydrogen peroxide.

Nitrogen is estimated by direct nesslerization of a suitable aliquot (1-5 ml of the 50 ml extract made out of 250 mg of dried material); in order to avoid excessive acidity, 10 ml of Nessler's reagent should be employed.

An aliquot of 1-5 ml suffices for the colorimetric determination of phosphorus by the molybdenum method; to reduce the phosphomolybdate complex 2 ml of a 2% SnCl₂ soln are necessary.

Potassium is determined by the cobaltinitrite method after elimination of ammonium salts with the aid of aqua-regia.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem: 1) Ao Prof. J. Mello Moraes pelas facilidades apresentadas em seu laboratório; 2) Ao Prof. R. A. Catani por sugestões apresentadas.

7. LITERATURA CITADA

DAMLE, S. P. and P. S. KRISHNAN, 1954 — One step digestion procedure for the estimation of total phosphorus and nitrogen in mould tissue. *Anal. Chim. Acta.* 11 (3): 225-228.

