

A DETERMINAÇÃO DO NITRATO EM EXTRATOS DE PLANTA E DE
SOLOS PELO MÉTODO DE ABSORÇÃO NO ULTRA-VIOLETA ¹

V.C. Bittencourt²

RESUMO

Este trabalho apresenta dados referentes à determinação do íon nitrato em extratos aquosos de vegetais e em extratos de solos obtidos com solução de ácido sulfúrico 0,01 N. Em ambos os casos, a matéria orgânica presente mostrou forte interferência, impedindo totalmente a determinação do ânion nas soluções, sem qualquer tratamento prévio.

Os extratos aquosos de vegetais foram tratados com peróxido de hidrogênio em presença de carbonato de magnésio, para a eliminação de quantidades consideráveis de matéria orgânica. Os extratos de solos que apresentam quantidades menores do interferente, foram analisados através de uma técnica diferente. Uma alíquota da amostra, tratada com sulfato de hidrazina para a eliminação total do nitrato, foi usada como prova em branco, na correção das absorbâncias.

Após o tratamento inicial, as soluções foram tratadas com os ácidos sulfúrico, perclórico e clorídrico para a formação do cloreto de nitrosilo, o qual mostra um máximo de absorção em 230 milimicrons.

INTRODUÇÃO

A possibilidade para o desenvolvimento de um método quantitativo de análise, baseado na absorção de luz de soluções aquosas de nitrato, na região de 305 milimicrons, foi considerada satisfatória por DOLANCE & HEALY (1945). Entretanto, esse método está sujeito a uma série grande de interferentes, como por exemplo, dos íons vanadato, tiosulfato, ferro III, cobre II, etc, os quais mostram forte absorção na região estudada

¹ Entregue para publicação em 20/5/1969.

² Cadeira de Química Analítica e Físico-Química. E.S.A. "Luiz de Queiroz". USP.

(BUCK et al, 1954). BASTIAN et al (1957) verificaram que as soluções de nitrato seguem a lei de Beer para os comprimentos de onda de 203, 219 e 220 milimicrons. Escolheram o comprimento de onda de 220 milimicrons para as leituras, devido a uma menor interferência dos íons em geral.

ARMSTRONG (1963) determinando o íon nitrato em água, estabeleceu que a adição de um volume igual de ácido sulfúrico concentrado e um pequeno volume de ácido clorídrico a uma solução contendo nitrato, ocasiona uma troca no espectro de absorção, o qual passa a apresentar um máximo de absorção em 230 milimicrons. Verificou que a determinação do íon nestas condições é mais fácil, pois, a interferência de outras substâncias é bem menor. Supôs que a espécie absorvente formada é o cloreto de nitrosilo.

BITTENCOURT (1968), realizando estudos sobre o método, verificou que uma mistura formada pelos ácidos perclórico, sulfúrico e clorídrico é mais apropriada para as determinações, porque nessas condições a solução final se apresenta menos viscosa e não produz um aquecimento excessivo, o que pode ocasionar perdas da espécie absorvente.

A determinação do íon nitrato em extratos de solos e vegetais pelos métodos espectrofotométricos tem sido difícil devido à presença da matéria orgânica solúvel, a qual, além de conferir cor aos extratos, absorve fortemente na região do ultravioleta.

O trabalho que pode ser considerado básico sobre a clarificação dos extratos de solo é aquele de HARPER, em 1924. Esse autor, estudando uma série de agentes flocculantes como o sulfato de cobre, sulfato de alumínio, óxido de cálcio, carbonato de cálcio, etc, concluiu que extratos incolores são obtidos pela agitação da amostra com solução de sulfato de cobre 0,02 N e pelo tratamento posterior com óxido de cálcio.

VERDADE (1951), determinando o íon nitrato em solos do Estado de São Paulo, pelo método do ácido fenoldissulfônico, verificou que extratos incolores são obtidos quando se emprega solução de ácido sulfúrico 0,01 N como agente extrator.

CAWSE (1967), usando o método de absorção no ultravioleta, empregou uma suspensão de hidróxido de alumínio para a clarificação dos extratos.

Além desses trabalhos em solos, convém ressaltar o de ARMSTRONG (1963) em água, o qual corrige a absorção devida

às substâncias estranhas, pelo emprego de uma prova em branco, obtida a partir de uma porção do extrato na qual se elimina o nitrato com o sulfato de hidrazina.

Em vegetais, o primeiro estudo completo para a eliminação da matéria orgânica solúvel, foi realizado por JOHNSON & UL RICH, em 1950. Estes autores, empregando o método do ácido fenoldissulfônico, destruíram o interferente através da oxidação com peróxido de hidrogênio.

Em nossas condições, GALLO & LOTT (1965) aconselharam o tratamento com sulfato de cobre e a precipitação com óxido de cálcio para extratos muito coloridos como os de folhas de caféiro. O extrato clarificado é então oxidado com peróxido de hidrogênio.

MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado neste trabalho constituiu-se de 16 amostras de solo, das quais 11 apresentam teor variável de carbono (Quadro 1) e 5 correspondem a cada um dos tipos principais de solos do Estado de São Paulo.

Para o estudo da aplicação do método em vegetais, usaram-se amostras de folhas de cana-de-açúcar, caféiro, milho, guandú, soja, tomateiro e pecíolos de batatinha.

QUADRO 1 - Características das amostras de solos que apresentam teor variável de carbono

Solo	pH	%C
1	4,90	0,54
2	5,40	1,02
3	5,45	1,80
4	3,90	3,11
5	4,50	6,33
6	4,65	8,56
7	3,40	10,05
8	4,55	11,86
9	4,40	12,19
10	4,75	17,96
11	4,50	20,41

Reativos

Dos reativos usados merecem menção especial os seguintes:

Solução estoque de KNO_3 . Transferir 4,0725 g de KNO_3 sêco em estufa a 105-110°C para balão volumétrico de 1 litro. Dissolver com água desmineralizada e completar o volume. Esta solução contém 2,5 mg de NO_3^- por mililitro.

Solução padrão de KNO_3 . Transferir 10 ml da solução estoque para balão volumétrico de 1 litro e completar o volume com água desmineralizada. Esta solução contém 25 ug de NO_3^- por mililitro.

Solução de sulfato de hidrazina a 2%. Pesar 2 g de $\text{H}_2\text{NNH}_2\text{H}_2\text{SO}_4$ e dissolver a 100 ml com água desmineralizada.

Métodos

Obtenção da relação padrão entre as concentrações das soluções padrões de nitrato e as absorbâncias

Transferiram-se para balões volumétricos de 25 ml, 0-0,5-1,0-1,5-2,0-2,5-3,0-3,5-4,0-4,5 e 5,0 ml da solução padrão de KNO_3 contendo 25 ug do íon por ml. Adicionaram-se 10 ml de HClO_4 70-72%, 7,5 ml de H_2SO_4 concentrado, 1,5 ml de HCl (1 + 1) e deixaram-se as soluções esfriar em banho de água corrente. Completaram-se os volumes com água desmineralizada, esfriaram-se e transferiram-se as soluções para células de quartzo de 1 cm de espessura, providas de tampas. Obtiveram-se as leituras em espectrofômetro Beckman, modelo DU-2, contra a prova em branco, em 230 milimicrons.

Determinação do nitrato em solos

Dez gramas de terra fina e sêca ao ar foram percolados com 20 ml de solução de ácido sulfúrico 0,01 N em tubo de percolação de 300 milímetros de comprimento por 25 milímetros de diâmetro. A solução resultante foi dividida em duas porções, sendo uma delas tratada com 0,1 ml de solução de sulfato de hidrazina a 2%. Aliquotas variáveis de 1 a 5 mililitros de cada solução foram então transferidos para balões volumétricos de 25 ml, aos quais se juntaram os ácidos perclórico, sulfúrico e clorídrico, de acordo com o procedimento já citado.

Determinação do nitrato em vegetais

Um decigrama do vegetal foi transferido para erlenmeyer de 50 ml e agitado por 10 minutos com água desmineralizada. A solução resultante foi filtrada e alíquotas de 15 ml foram transferidas para copos de 100 mililitros. Adicionaram-se 2 mililitros de uma suspensão de $MgCO_3$ a 0,5% e 1 ml de peróxido de hidrogênio a 30%. Os copos, após serem cobertos com vidros de relógio, foram deixados por duas horas em banho-maria à ebulição. Decorrido esse tempo, retiraram-se os vidros de relógio e deixaram-se secar. Quando secos, após meia hora, adicionaram-se 5 ml de água desmineralizada e transferiram-se as soluções para balões volumétricos de 25 ml. O volume foi completado com água desmineralizada e alíquotas variáveis de 1 a 5 ml foram transferidas para balões volumétricos de 25 ml, aos quais juntaram-se os diversos ácidos e procedeu-se conforme já foi descrito.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Solos

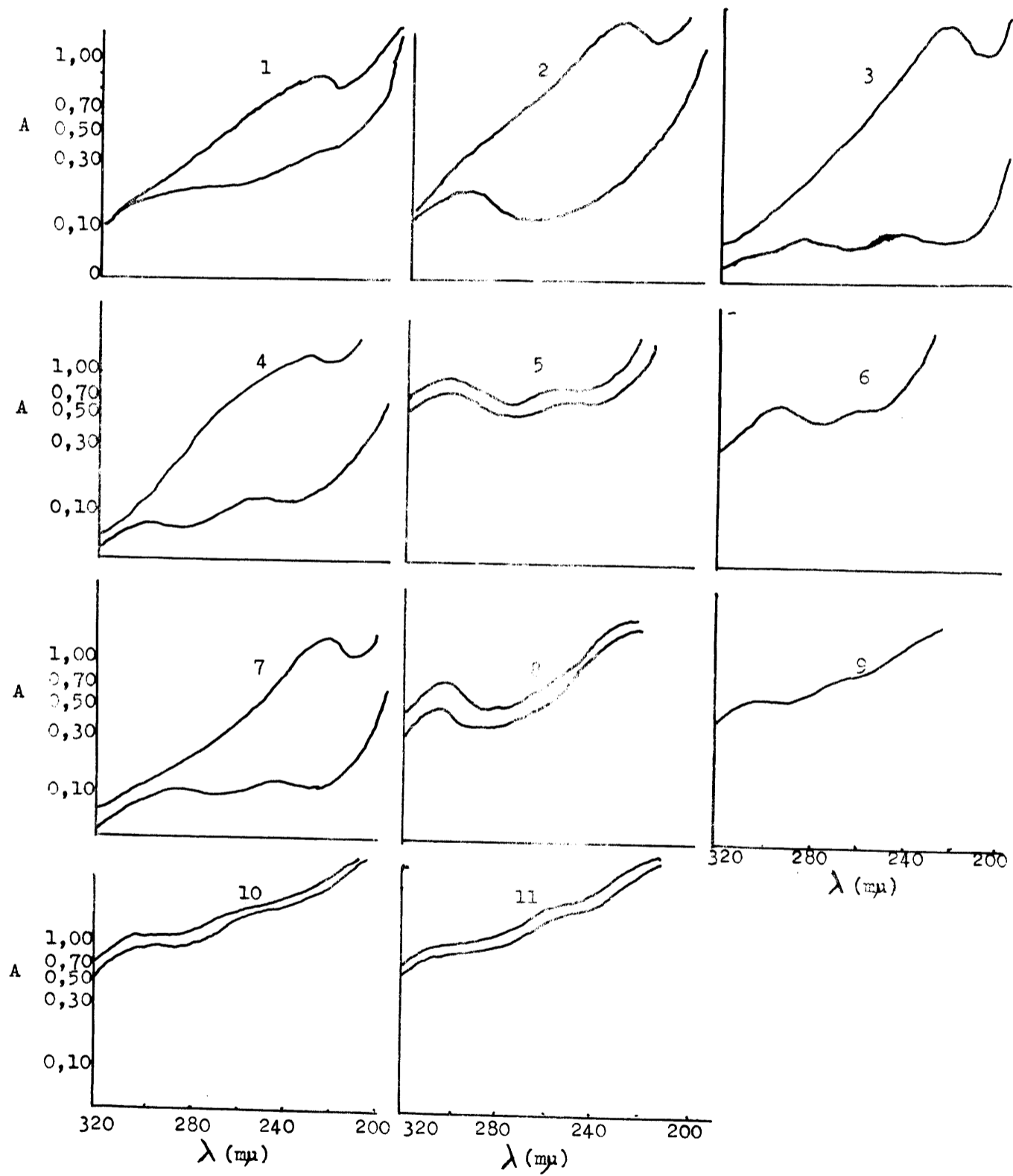
Estudos preliminares revelaram que extratos de solos contendo alto teor em carbono, mesmo depois de descoloridos com qualquer das substâncias já citadas, ainda mostravam absorção na região de 230 milimicrons, o que impedia a determinação do nitrato pelo método proposto. Foi verificado também que 0,1 ml de uma solução de sulfato de hidrazina a 2%, elimina até 500 microgramas de nitrato, de modo que essa quantidade foi usada nos extratos que se seguem.

Através do procedimento citado, obtiveram-se inicialmente espectros de absorção de extratos de solos tratados e não tratados com sulfato de hidrazina, os quais são mostrados na Figura 1.

Pelos dados obtidos, verificou-se que o espectro de absorção das soluções contendo sulfato de hidrazina, isto é, a absorção devido às substâncias estranhas, é variável e depende da natureza do solo. Dêsse modo, resultados exatos da concentração do íon nitrato, são conseguidos quando se emprega uma correção para cada solo, através do uso de alíquotas do respectivo extrato contendo o redutor em aprêço.

Para se comprovar a técnica proposta, realizaram-se ensaios de recuperação, através da adição de quantidades variáveis de nitrato, aos extratos de solos obtidos de maneira já descrita. Os resultados são apresentados no Quadro 2.

FIGURA 1 - Espectros de absorção de extratos de solos em presença e em ausência de sulfato de hidrazina.



QUADRO 2 - Recuperação do nitrato em extratos de solos

Solo	Nitrato adic. em ug de NO ₃ ⁻ /25 ml	Nitrato det. em ug de NO ₃ ⁻ /25 ml	Diferença em ug de NO ₃ ⁻ /25 ml	Recuperação em %
1	0	31,94	-	-
	25	56,90	-0,04	99,9
	50	81,50	-0,44	99,4
3	0	112,83	-	-
	25	139,00	+1,17	100,8
	50	162,00	-2,30	99,5
4	0	72,68	-	-
	25	98,10	+0,42	100,4
	50	122,68	0,00	100,0
9	0	0,00	-	-
	25	25,43	+0,43	101,7
	50	49,80	-0,20	99,6

Os dados da última coluna indicam que a recuperação do íon foi excelente para diversos tipos de solo, mostrando que a técnica proposta permite eliminar a interferência devido à absorção da matéria orgânica solúvel.

Para se concluir o estudo referente à determinação do ânion nitrato em solos, conduziu-se uma série de 5 determinações em cada tipo principal de solo do Estado de São Paulo. Os valores obtidos são apresentados no Quadro 3.

QUADRO 3 - Determinação do nitrato em solos. Média de 5 repetições

Terra	Microgramas de NO ₃ ⁻ /g de solo	C.V. (%)
Latosol vermelho-escuro-orto	69,092 ± 1,008	3,26
Podzólico, vermelho-amarelo-orto	96,144 ± 1,542	3,58
Podzólico-variação, Lins-Marília	29,278 ± 0,529	4,03
Latosol Roxo	29,204 ± 0,448	3,42
Hidromórfico	67,308 ± 0,834	2,74

Os valores encontrados indicam que a precisão do método é satisfatória, podendo o método ser empregado perfeitamente na determinação do ânion nitrato em solos.

Vegetais

O estudo da determinação do nitrato em vegetais consistiu de vários ensaios, os quais tiveram por finalidade averiguar o procedimento mais indicado para a eliminação da interferência da matéria orgânica solúvel.

Inicialmente, foi verificado que a matéria orgânica solúvel dos extratos aquosos de vegetais, impede a determinação do ânion nitrato, conforme mostra a Figura 2, a qual apresenta espectros de absorção de extratos aquosos de folhas de café e de cana-de-açúcar, tratados e não tratados com sulfato de hidrazina.

Os espectros indicam a não existência do íon nitrato, pois, as absorvâncias em 230 milimicrons das duas soluções são praticamente idênticas. Atribui-se a isso, uma possível redução do nitrato pela matéria orgânica, quando em presença de ácidos fortes como o perclórico e sulfúrico. Verifica-se também que a matéria orgânica apresenta uma absorção intensa em toda região do espectro estudada, o que também impede a determinação do íon através dessa técnica.

O segundo ensaio consistiu da tentativa da eliminação da matéria orgânica através do tratamento com sulfato de cobre e precipitação com MgO. Os espectros de absorção obtidos na presença e ausência do sulfato de hidrazina são apresentados na Figura 3.

Apesar do procedimento descrito fornecer extratos incolores, estes apresentam quantidades razoáveis de matéria orgânica, a qual ainda interfere na determinação do ânion, conforme mostram os ensaios de recuperação apresentados no Quadro 4.

Passou-se então ao estudo do emprego do peróxido de hidrogênio como agente oxidante para a eliminação da interferência da matéria orgânica. Inicialmente, procurou-se determinar a influência do agente oxidante sobre a transformação de outras formas de nitrogênio existentes nos extratos, em nitrogênio nítrico e a influência do tratamento prévio com sulfato de cobre e precipitação com óxido de magnésio. Obtiveram-se extratos de vegetais em água (coloridos) e com solução de sul-

FIGURA 2 - Espectros de absorção de extratos aquosos de vegetais em presença e em ausência de sulfato de hidrazina.

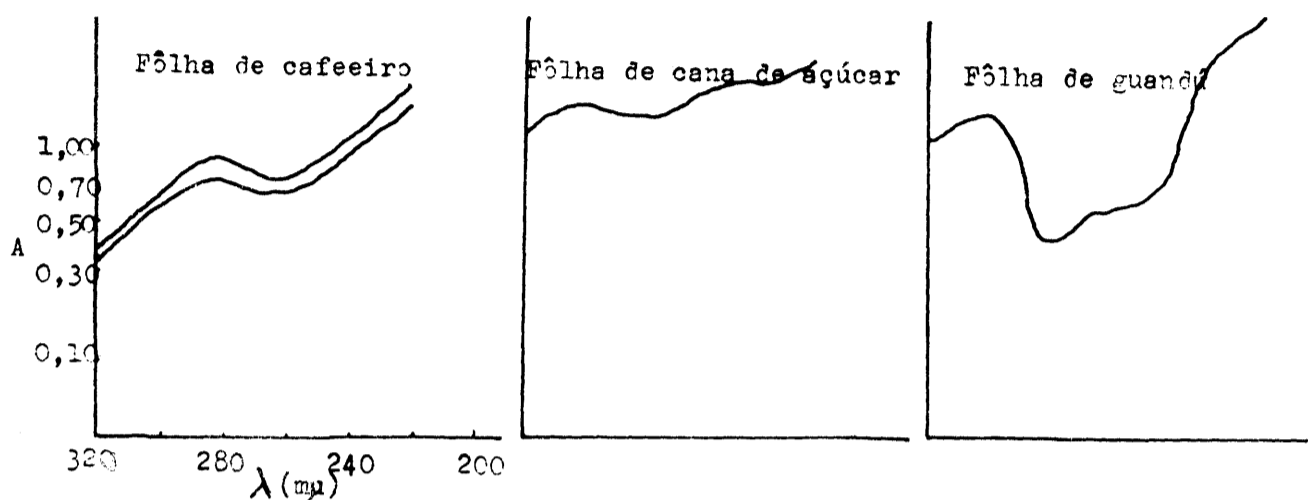
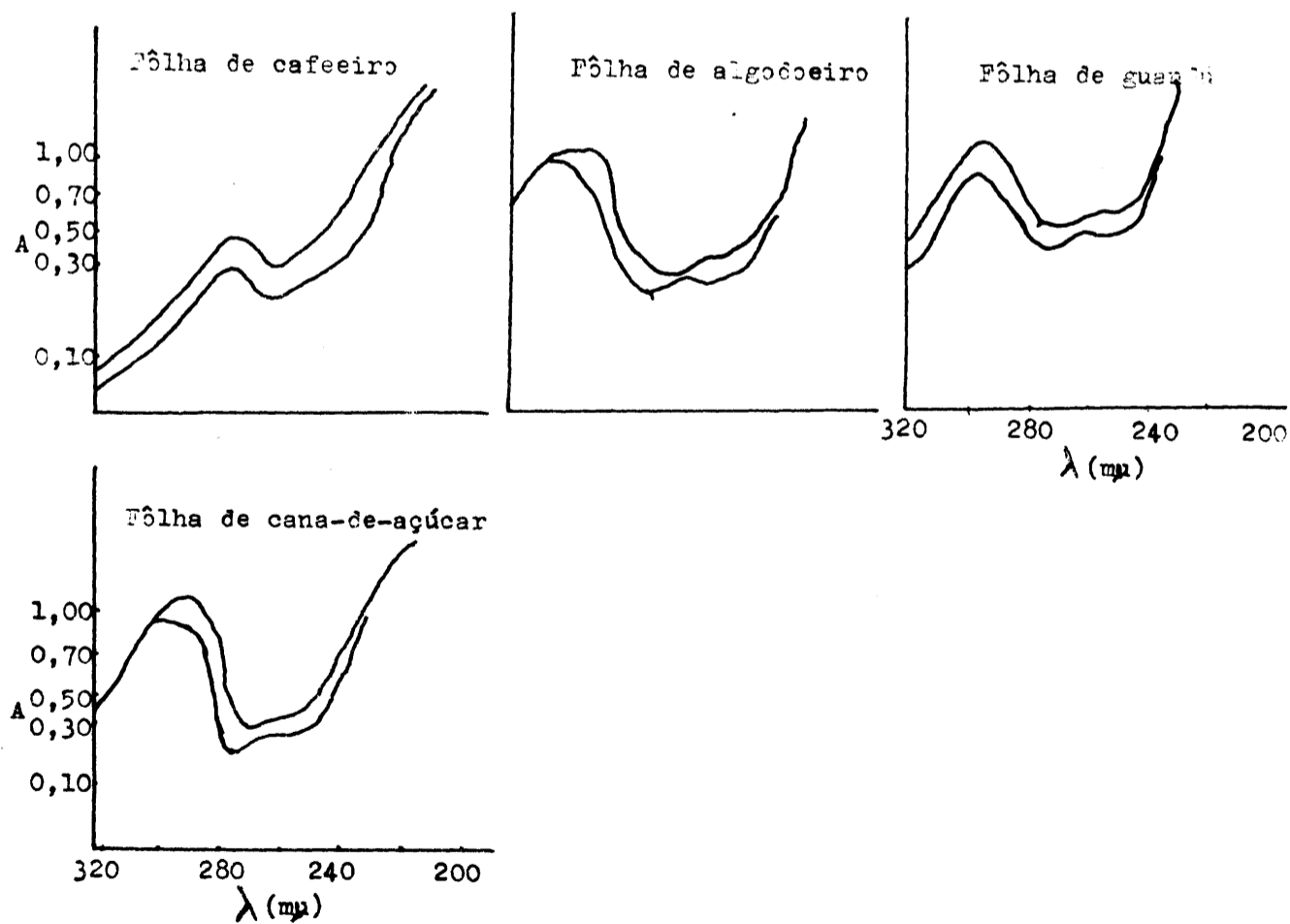


FIGURA 3 - Espectros de absorção de extratos de vegetais obtidos com solução de CuSO_4 0,025 N e precipitados com CaO em presença e em ausência de sulfato de hidrazina.



QUADRO 4 - Recuperação do nitrato de extratos de vegetais obtidos com água e com solução de sulfato de cobre 0,025 N.

Vegetal	Nitrato Adicionado	Nitrato Determinado	Diferença	Recuperação em %
	ug/0,1g	ug/0,1g	ug/0,1g	
Fôlhas de Cafeeiro	0,00	0,00	-	-
	50,00	13,50	36,44	27,0
	100,00	20,35	79,65	20,3
Fôlhas de cana-de-açúcar	0,00	0,00	-	-
	50,00	16,90	33,10	32,0
	100,00	35,10	64,90	35,1

fato de cobre posteriormente precipitada com MgO, os quais foram divididos em duas porções, sendo uma delas passada através de uma coluna de resina aniônica (DOWEX 1X-8) para eliminação do nitrato. As soluções resultantes foram então tratadas com peróxido de hidrogênio e o nitrato determinado. Os resultados são apresentados no Quadro 5.

Através dos dados do Quadro 5, conclui-se que ambos os métodos de extração fornecem resultados semelhantes, não havendo, portanto, a necessidade de clarificação prévia, mesmo para extratos bem coloridos como os de fôlhas de cafeeiro. Os dados também indicam que a oxidação com peróxido de hidrogênio não transforma outras formas de nitrogênio em nitrogênio nítrico.

Para se comprovar a eficiência da eliminação da matéria orgânica com o peróxido de hidrogênio, realizou-se um ensaio de recuperação do nitrato. Assim, a extratos aquosos de vegetais, adicionaram-se quantidades variáveis de nitrato, os quais, depois de tratados com peróxido de hidrogênio, eram analisados. Os resultados são mostrados no Quadro 6.

QUADRO 5 - Determinação do nitrato em extratos de vegetais tratados com peróxido de hidrogênio

Vegetais	Nitrato determinado Extrato aquoso		Nitrato determinado Extr.com sulf. cobre	
	s/resina	c/resina	s/resina	c/resina
Fôlhas de milho	ppm 2601	ppm traços	ppm 2605	ppm traços
Fôlhas de café	598	0,0	596	0
Fôlhas de cana	277	0,0	281	0
Fôlhas de guandú	188	0,0	190	0
Fôlhas de soja	1490	traços	1496	traços

QUADRO 6 - Recuperação de nitrato em extratos de vegetais

Vegetal	Nitr. Adic.	Nitr. Adic.	Nitr. Determ.	Diferença	Recuperação em %
Fôlha de milho	ug 69,10	ug 50	ug total 120,00	0,90	100,7
Fôlha de cafeeiro	39,75	50	89,50	0,25	99,7
Fôlha de cana	18,30	25	43,00	0,30	99,3
Fôlha de guandú	12,50	25	37,50	0,00	100,0
Fôlha de soja	39,60	50	90,00	0,40	100,4

Verifica-se pelos dados do Quadro 6, que a recuperação é muito boa, indicando a viabilidade da aplicação da técnica proposta.

Finalmente, verificou-se a precisão do método quando aplicado a vegetais, fazendo-se cinco determinações do ânion em cada amostra de vegetal.

Os resultados são apresentados no Quadro 7.

QUADRO 7 - Determinação do nitrato em vegetais. Média de 5 repetições

Vegetal	Concentração de nitrato	C.V.
	ppm	
Fôlhas de soja	1493 ± 9	1,18
Fôlhas de tomateiro	2598 ± 16	1,24
Fôlhas de algodão	1122 ± 15	2,66
Fôlhas de batatinha (pecíolos)	11348 ± 142	2,50
Fôlhas de cafeeiro	602 ± 5	2,01
Fôlhas de milho	2619 ± 25	2,12

CONCLUSÕES

O íon nitrato em solos e plantas pode ser determinado pelo método espectrofotométrico baseado na absorção do cloreto de nitrosilo, em 230 milimicrons, quando em presença dos ácidos perclórico, sulfúrico e clorídrico. O interferente principal em ambos os extratos é a matéria orgânica solúvel, que pode interferir na determinação de duas maneiras: a) absorvendo na região de 230 milimicrons e b) reduzindo o ânion nitrato a outras formas de nitrogênio.

Durante os estudos, verificou-se que a concentração do interferente é maior nos extratos de plantas, o que obriga a sua completa eliminação, através da oxidação com peróxido de hidrogênio, antes da determinação propriamente dita. Para os extratos de solos, entretanto, resultados exatos são conseguidos apenas pela correção do emprêgo das absorbâncias através de uma prova em branco, preparada a partir de uma porção do extrato, no qual se eliminou o nitrato com o sulfato de hidrazina.

SUMMARY

Nitrate in soils and plants can be determined by the method of ultraviolet absorption of nitrowyl chloride.

The extracts of plants need to be treated with hydrogen peroxide before the determination in order to oxidize the organic matter.

For the soil extracts the blank is obtained by eliminating nitrates with hydrazine sulfate which serves to correct the absorption of the soil solutions.

The determination is carried on adding perchloric, sulfuric and hydrochloric acids to the solutions obtained from vegetable and soil materials to form nitrotyl chloride. The absorbances of solutions are read at 230 milimicrons.

LITERATURA CITADA

- ARMSTRONG, F.A.J., 1963. Determination of nitrate in water by ultraviolet spectrophotometry. *Anal. Chem.*, 35: 1292 - 1294.
- BASTIAN, R., R. WEBERLING & F. PALILLA, 1957. Ultraviolet spectrophotometric determination of nitrates. Application to analysis of alkaline earth carbonate. *Anal. Chem.*, 29: 1795-1797.
- BITTENCOURT, V.C., 1968. Determinação do nitrato pelo método de absorção no ultravioleta. Tese apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz" para obtenção do título de Docente-Livre. Piracicaba. 113 pp. (mimeografada).
- CAWSE, P.A., 1967. The determination of nitrate in soil solutions by ultraviolet spectrophotometry. *Analyst*, 92:311-315.
- DOLANCE, A. & P.W. HEALY, 1945. Spectrophotometric determination of nitrate in planting boths. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 17: 718-719.
- GALLO, J.R. & W.L. LOTT, 1965. Método simplificado para determinação de nitrato, nas folhas, com o ácido fenoldissulfônico. *Bragantia*, 24, nota nº 2: III - VII.
- JOHNSON, C.M. & A. ULRICH, 1950. Determination of nitrate in plant material. *Anal. Chem.*, 22: 1526-1529.
- VERDADE, F.C., 1951. Dosagem dos nitratos do solo pelo método do ácido fenoldissulfônico. *Bragantia*, 11: 1-12.

