

DETERMINAÇÃO DO CÁLCIO EM PLANTAS PELO MÉTODO DO GLIOXAL - BIS (2 - HIDROXIANIL)

V. C. BITTENCOURT, R. A. CATANI e H. BERGAMIN FILHO

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Universidade de S. Paulo — Piracicaba

INTRODUÇÃO

A determinação de pequenas quantidades de cálcio, apresenta grande importância em vários setores da nutrição e da fisiologia vegetal.

Os métodos analíticos mais usados até a presente data para a determinação do cálcio, são os baseados na permanganometria e na quelatometria. O primeiro, além de moroso, não apresenta sensibilidade suficiente, quando a quantidade de cálcio é muito pequena. O método quelatométrico, baseado no uso do sal dissódico do EDTA é mais rápido que o permanganométrico, mas também não se reveste da sensibilidade necessária para aplicá-lo em outros materiais.

O método colorimétrico de determinação do cálcio baseado na reação com o glioxal bis (2-hidroxiânil) tem sua origem nos trabalhos de BAYER (1957). Este pesquisador preparou o glioxal bis (2-hidroxiânil), a partir da reação entre o o-aminofenol e o glioxal e aplicou-o na investigação de diversos elementos, sem ter incluído o cálcio.

GOLDSTEIN & STARK-MAYER (1958), estabeleceram um teste qualitativo a partir do glioxal bis (2-hidroxiânil), que permite a identificação de pequenas quantidades de cálcio.

KERR (1960), parece ter sido o primeiro autor a usar a reação em questão para fins quantitativos. Desenvolveu um método espectrofotométrico, que seguiu a lei de Beer de 0 a 4 ppm de cálcio.

WILLIAMS & WILSON (1961), descreveram um método colorimétrico, que permitiu a determinação de 0,5 a 10 ppm de cálcio.

Entretanto, os mencionados autores, quando apresentaram as respectivas técnicas, não apreciaram a influência do ânion fosfato na determinação do cálcio. Como certas partes vegetais de determinadas plantas cultivadas contém uma porcentagem razoável de fósforo, esse elemento, na forma de íon ortofosfato exerce influência sobre a determinação do cálcio pelo método do glixal.

O objetivo do presente trabalho foi o de estabelecer uma técnica de determinação do cálcio em plantas, através do método do glixal bis (2-hidroxianil), levando em conta a influência do íon ortofosfato e a possibilidade de sua remoção.

MATERIAL E MÉTODO

O material constituiu-se de seis amostras de diversas plantas a fim de se obter teores variáveis de cálcio e de fósforo. A porcentagem de fósforo e magnésio nas amostras estudadas são apresentadas no quadro I.

Quadro I — Concentrações de fósforo e magnésio nas amostras de vegetais estudadas

Amostra	% de P	% de Mg
1. Semente de milho	0,26	0,10
2. Semente de feijão	0,50	0,15
3. Fôlhas de cana de açúcar	0,12	0,10
4. Fôlhas de café	0,23	0,32
5. Fôlhas de repólho	0,42	0,54
6. Fôlhas de laranjeira	0,11	0,32

Reativos

Solução estoque de cálcio — Transferir 1,001 g de carbonato de cálcio sêco para um copo de 250ml. Adicionar 15ml de HCl 2N com cuidado e secar em banho de água quente. Quando sêco, retomar com água destilada e transferir para balão volumétrico de 500 ml. Completar o volume e agitar. Esta solução contém 800 microgramas de cálcio por mililitro.

Solução padrão de cálcio — Transferir 50 ml da solução estoque para balão volumétrico de 500 ml e completar o volu-

me com água destilada. Esta solução contém 80 microgramas de cálcio por mililitro.

Solução de glioxal bis (2 hidroxianil) a 0,25% — Dissolver 0,125 g de glioxal bis (2-hidroxianil) em 50 ml de álcool metílico absoluto.

Solução tampão pH = 12,6 — Dissolver 10 g de hidróxido de sodic e 10 g de tetraborato de sódio em água destilada e completar o volume a 1 litro.

Mistura de solventes — Misturar volumes iguais de álcool etílico absoluto e álcool n-butílico.

Coluna de resina trocadora de ânions — Transferir uma suspensão aquosa da resina Dowex 1 X-8 de 20 a 50 mesh, para uma coluna de 100 mm de comprimento e 5 mm de diâmetro. Lavar a coluna, sucessivamente, com 5 ml de HCl 12N, 5 ml de HCl 6N, 5 ml de HCl 2N e com água destilada até eliminar o excesso de HCl. Adicionar 20 ml de solução de NaCl 1N.

Obtenção da curva padrão ou relação entre a concentração de cálcio e as leituras no colorímetro Klett-Summerson

Transferir para sete colunas de resina, 0-1-2-4-6-8 e 10 ml, respectivamente, da solução padrão de cálcio contendo 80 microgramas do elemento por mililitro e receber em balões volumétricos de 100ml. Lavar as colunas com 3 porções de 25 ml de água destilada e completar o volume dos balões. Transferir uma alíquota de 5 ml de cada solução para balões volumétricos de 25 ml, juntar 1 ml de solução tampão, 1 ml de solução de glioxal a 0,25% e 10 ml da mistura de solventes. Completar o volume com água destilada, agitar e deixar em repouso por 20 minutos para o perfeito desenvolvimento da cor. Obter as leituras em colorímetro Klett-Summerson com filtro n. 50. Relacionar as leituras obtidas com as concentrações de cálcio por meio de um gráfico ou uma equação de regressão.

Influência do ânion fosfato

O estudo da influência do ânion fosfato, foi feito adicionando-se vários volumes de uma solução padrão de fósforo, obtida a partir de KH_2PO_4 , às soluções padrões contendo 0-20 e 40 microgramas de cálcio em um volume final de 25ml. Em seguida, determinou-se o cálcio na solução diretamente, isto é, sem passar pela coluna de resina.

Para a remoção do ânion fosfato, o procedimento usado foi o seguinte: soluções contendo 200 microgramas de cálcio por mililitro e várias quantidades do ânion fosfato, foram passadas através das colunas de resina e recebidas em balões volumétricos de 100 ml. As colunas foram então lavadas com 3 vezes 25ml de água destilada e os volumes dos balões foram completados. Transferiu-se uma alíquota de 5 ml de cada solução para balões volumétricos de 25 ml, juntaram-se os reativos empregados para a obtenção da curva padrão e determinou-se o cálcio. As colunas foram recuperadas eluindo-se o fosfato com 2 porções de 20 ml de solução de cloreto de sódio 1N e depois 2 porções de 25 ml de água destilada. Os resultados obtidos são apresentados no quadro III.

Procedimento para determinação do cálcio em vegetais pelo método do glioxal bis (2-hidroxianil)

a) Transferir 0,5000 g do material seco e moído, para cápsula de porcelana e incinerar em forno elétrico a 500-550°C por 3 a 4 horas.

b) Retirar do forno, juntar 2 ml de HCl (1 + 1) e secar em banho de água quente. Quando seco, juntar 1ml de HCl concentrado e secar novamente.

c) Adicionar 10ml de água destilada, deixar aquecer levemente e filtrar através de papel de filtro S & S 589 faixa azul, para balões volumétricos de 50 ml.

d) Lavar o papel e a cápsula com 5 porções de 5 ml de água destilada, deixar esfriar, completar o volume e agitar.

e) Transferir uma alíquota de 10ml para coluna contendo a resina trocadora de ânions, recebendo a solução em balão volumétrico de 100 ml

f) Lavar a coluna com 4 porções de 20 ml de água destilada e completar o volume do balão.

g) Transferir uma alíquota de 10 ml para balão volumétrico de 25ml, juntar 1ml de solução tampão pH = 12,6, 1ml de solução de glioxal a 0,25%, 10 ml da mistura de solventes, completar o volume e agitar

h) Esperar 20 minutos e obter as leituras no colorímetro Klett-Summerson provido de filtro nº. 50.

i) Calcular a quantidade de cálcio mediante a curva padrão ou a equação de regressão.

RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO

No quadro II, são apresentados os resultados da determinação direta do cálcio quando em presença de várias quantidades de P na forma do ânion $H_2PO_4^-$.

Quadro II — Influência de várias quantidades de P, na forma $H_2PO_4^-$, sobre a determinação do cálcio, pelo método do glixal

Microgramas de cálcio colocados	Microgramas de P adicionados na forma de $H_2PO_4^-$			
	0 Ca det. microg.	10 Ca det. microg.	20 Ca det. microg.	50 Ca det. microg.
0	0	0	0	0
4	4	4	4	4
20	20	20	17	5
40	40	26	18	8

Observa-se pelos dados do quadro II, que o ânion fosfato tem uma influência crescente sobre a determinação do cálcio pelo método do glixal. Para eliminar essa interferência, passou-se a solução contendo fósforo e cálcio, através de resina trocadora de ânions Dowex 1 X-8 preparada de acordo com a técnica já descrita. Os resultados obtidos são encontrados no quadro III.

Os dados do quadro III, evidenciam a possibilidade de separar o cálcio do fósforo, através do uso da resina Dowex 1 X-8, eliminando assim a influência do ânion fosfato.

Uma vez estabelecida a técnica de separação do fosfato, procurou-se determinar o cálcio nas amostras de vegetais que constituíam o material do presente trabalho e comparar os dados obtidos, com aqueles fornecidos pelo método permanganométrico.

Quadro III — Recuperação do cálcio em presença de várias quantidades do ânion fosfato

Microgramas de P	Microgramas de cálcio	
	colocados	determinados
50	20	20,8
40	20	19,8
30	20	20,0
20	20	19,7
10	20	20,0
0	20	20,0

Quadro IV Determinação do cálcio em plantas pelo método permanganométrico e pelo método do glioxal-bis (2-hidroxianil)

Vegetal	Permanganométrico (média de 5 repet)	Colorimétrico (média de 5 repet)
	% Ca	% Ca
1. Semente de milho	0,039 ± 0,002	0,031 ± 0,001
2. Semente de feijão	0,218 ± 0,006	0,188 ± 0,004
3. Fôlhas de cana de açúcar	0,475 ± 0,007	0,408 ± 0,010
4. Fôlhas de café	1,342 ± 0,009	1,306 ± 0,013
5. Fôlhas de repólho	2,640 ± 0,022	2,558 ± 0,017
6. Fôlhas de laranja	3,002 ± 0,014	2,954 ± 0,011

Os dados do quadro IV mostram que a precisão do método colorimétrico do glioxal é equivalente a do método permanganométrico, apesar das médias apresentarem uma certa diferença. Entretanto, considerando-se que o método permanganométrico envolve precipitação, filtração, lavagem, dissolução do precipitado, etc, julga-se que o método colorimétrico do glioxal possa substituí-lo com vantagens, quanto à rapidez e mesmo à exatidão.

CONCLUSÕES

a) O método colorimétrico do glioxal bis (2-hidroxianil) de determinação do cálcio em plantas é muito sensível, simples, rápido e apresenta boa precisão.

b) O anion fosfato interfere na determinação do cálcio, mas pode ser removido com facilidade através do uso de coluna de resina de troca aniônica (a resina Dowex 1 X-8, foi empregada no presente trabalho).

c) As características do método colorimétrico do glioxal bis (2-hidroxianil) permitem afirmar que o mesmo poderá substituir com vantagens os demais métodos usados na determinação do cálcio em vegetais.

RESUMO

O presente trabalho apresenta os dados obtidos sobre a determinação do cálcio em plantas pelos métodos colorimétrico do glioxal bis (2-hidroxianil) e permanganométrico.

O método colorimétrico do glioxal bis (2-hidroxianil) pela

sua sensibilidade, rapidez e simplicidade poderá substituir com vantagens os demais métodos de determinação do cálcio em vegetais.

O íon fosfato interfere na determinação do cálcio, mas pode ser removido pelo uso de resina tracadora de ânions.

SUMMARY

This paper describes the determination of calcium in plants by the colorimetric method using glyoxal bis (2-hydroxyanil). Phosphate ions interfere but can be separated passing the solution through a column of the Dowex 1 X-8 anion exchange resin.

The colorimetric method of glyoxal bis (2-hydroxyanil) for determining calcium in plants is very sensitive, rapid and affords a good precision.

LITERATURA CITADA

BAYER E., 1957 — Metallkomplexe Schiffischer Basen aus o-Amino-Phenol und Dicarbonylverbindungen. **Ber. disch. chem. Ges.** 90: 2325-2338.

GOLDSSTEIN, D. & C. STARK-MAYER, 1958 — New specific test for calcium. **Anal. chim. Acta** 19 (5): 437-439.

KERR, J. R. W., 1960 — The spectrophotometric determination of microgram amounts of calcium. **The Analyst** 85: 867-870.

WILLIAMS, K. T. & J. R. WILSON, 1961 — Colorimetric determination of ultramicro quantities of calcium using glyoxal bis (2-hydroxyanil). **Anal. Chem.** 33 (2): 244-245.