

DOSAGEM RÁPIDA DO FÓSFORO NO COLORIMETRO FOTOELÉTRICO

E. MALAVOLTA

Secção Técnica "Química Agrícola", Esc. Sup. Agricultura
"Luiz de Queiroz"

1 — INTRODUÇÃO

O bem conhecido test cerúleomolíbídico para fosfatos é largamente usado nas determinações rotineiras. O test consiste essencialmente em adicionar molibdato de amônio a uma solução ácida contendo o fosfato e reduzir o fosfomolibdato resultante para um estado mais baixo de oxidação com a consequente formação dum composto de côr azul ao qual se atribui a fórmula $(\text{MoO}_2 \cdot 4\text{MoO}_3)_2 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4$.

O método foi sugerido primeiramente por F. OSMOND (1887) que usou cloreto estanhoso como redutor. Modificações da técnica original são ainda grandemente usadas por causa da sua maior sensibilidade. (Para uma revisão da literatura, sugerimos ALLPORT, 1945, págs. 155-162).

2 — MATERIAL E MÉTODO

2.1. Aparelho. Fizemos a adaptação do método dado por TOTH e colaboradores (1948) para o "E. E. L. portable Colorimeter". Trata-se de um aparelho Patent n. 594497 fabricado pela Evans Electro Selenium Ltd. de Harlow, Essex, England; possui uma única célula fotoelétrica e trabalha com corrente alternada ou com pilha.

2.2. Reagentes. Solução de K_2HPO_4 para os padrões: dissolver 5,6259 gramas em 1 litro d'água; medir em microbureta 10 cc, passar para um balão de 1 litro e completar o volume; cada cc desta solução possui 0,01 mg. de P elementar. Solução de molibdato de amônio a 2,5 por cento em H_2SO_4 10N: dis-

solver 25 g de molibdato de amônio em 200 cc de água distilada, aquecer a 60°C e filtrar; esfriar e derramar em 280 cc de H₂SO₄ concentrado; esfriar à temperatura ambiente e diluir a 1 litro. Solução de cloreto estanhoso a 1 por cento (esta solução deve ser recém preparada) : colocar 2 g de cloreto estanhoso num balão de 200 cc; juntar 80 cc de HCl concentrado, aquecer até dissolver, esfriar e completar o volume.

2.3. Padrões : tomar numa série de 10 balões de 100 cc, quantidades de 1 a 10 cc da solução de K₂HPO₄ medidas em microbureta; juntar 5 cc da solução de molibdato de amônio e mais ou menos 50 cc de água distilada; adicionar 1,5 cc de cloreto estanhoso, completar o volume, agitar e depois de 15 minutos fotometrizando usando o filtro vermelho.

2.4. Cálculo : a relação entre as concentrações de fósforo nos padrões e as leituras galvanométricas respectivas, ou melhor, e as extinções é claramente linear o que se prova calculando o coeficiente de correlação r. Em vista disso podemos calcular pelo método dos quadrados mínimos a equação que melhor se adapte à situação.

2.5. Obtenção do extrato. Pesar 2 g do material seco a 100-110°C em um beaker de Pyrex de 250 cc. Juntar 10-15 cc. de HNO₃ concentrado; cobrir com um vidro de relógio e aquecer a baixa temperatura numa chapa quente até que não existam mais sinais visíveis de matéria sólida. Neste ponto a solução geralmente tem cor de palha. Remover o beaker da chapa, adicionar 5 cc de ácido perclórico a 70 por cento, recolocar o vidro de relógio e deixar em ebulição leve até o aparecimento de densos fumos brancos de ácido perclórico. O volume então é em geral de 1-3 cc e a solução se mostra clara. Não permitir que a solução seque. Juntar 25 cc de água distilada, aquecer até ebulição e passar através dum papel de filtro Whatman n. 42 para um balão volumétrico de 100 cc. Lavar a sílica desidratada com água quente até recolher 75 cc. Esfriar e completar ao volume. O fósforo é determinado em uma alíquota conveniente dessa solução exatamente da mesma maneira que se fez com os padrões : substituindo Y pela leitura galvanométrica observada, o cálculo de x na equação de regressão

$$Y = 679 x + 0,5$$

nos dá a quantidade de fósforo, como P elementar, nos 100 cc de extrato.

3 — RESULTADOS

Para o cálculo do coeficiente de correlação r bem como para o da equação de regressão seguimos a marcha dada por GOMES e MALAVOLTA (1949). Organizamos a Tabela I na qual x representa as concentrações de P nos padrões e y as extinções correspondentes

TABELA I

| x | y | x ² | y ² | xy |
|------|-------|----------------|----------------|--------|
| 0,01 | 8,0 | 0,0001 | 64,00 | 0,080 |
| 0,02 | 14,3 | 0,0004 | 204,49 | 0,286 |
| 0,03 | 20,8 | 0,0009 | 432,64 | 0,624 |
| 0,04 | 26,6 | 0,0016 | 707,56 | 1,064 |
| 0,05 | 34,3 | 0,0025 | 1176,49 | 1,715 |
| 0,06 | 41,0 | 0,0036 | 1681,00 | 2,460 |
| 0,07 | 47,5 | 0,0049 | 2256,25 | 3,325 |
| 0,08 | 55,0 | 0,0064 | 3025,00 | 4,400 |
| 0,09 | 62,2 | 0,0081 | 3868,84 | 5,598 |
| 0,10 | 68,5 | 0,0100 | 4692,25 | 6,850 |
| 0,55 | 378,2 | 0,0385 | 18108,52 | 26,402 |

O valor de r é dado pela fórmula

$$r = \frac{\Sigma x y - \frac{(\Sigma x)(\Sigma y)}{n}}{\sqrt{\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}} \sqrt{\Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n}}}$$

Substituindo vem:

$$r = \frac{26,402 - \frac{0,55 \times 378,2}{10}}{\sqrt{0,0385 - \frac{0,55^2}{10}} \sqrt{1810,52 - \frac{378,2^2}{10}}} = \frac{5,601}{5,983} = 0,936$$

O número de graus de liberdade é 9. O valor de r achado é significativo no limite $p = 1\%$ (BRIEGER, 1937, pág. 21).

Para o cálculo do coeficiente de regressão b, usamos a fórmula

$$b = \frac{\Sigma xy - \frac{(\Sigma x)(\Sigma y)}{n}}{\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}}$$

Achamos $b = 679$.

A equação de regressão procurada é

$$Y - \bar{y} = b(x - \bar{x}).$$

Substituindo \bar{y} pelo seu valor que é $\frac{378,2}{10}$, b por 679 e \bar{x} por $\frac{0,55}{10} = 0,055$, obtemos

$$Y - 37,8 = 679(x - 0,055)$$

$$Y = 679x + 0,5$$

A tabela seguinte onde os valores das extinções foram obtidos com soluções novas dá idéia da reprodutibilidade dos resultados; mostra também a concordância entre os valores observados das extinções e os valores calculados pela equação.

TABELA II

| Padrão mg de P em 100 cc | Extinção | | | | | | |
|--------------------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|------------|---------------------|
| | Observada | | | | Média | Calc. Y | Obs. x 100 Calc. |
| | x | y | | | | | |
| 0,01 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,00 | 8,0 | 7,3 | 109,5 |
| 0,02 | 14,25 | 14,25 | 14,00 | 14,50 | 14,3 | 14,1 | 101,4 |
| 0,03 | 20,50 | 21,00 | 20,75 | 21,00 | 20,8 | 20,8 | 100,0 |
| 0,04 | 26,50 | 26,50 | 27,00 | 26,50 | 26,6 | 27,6 | 96,3 |
| 0,05 | 34,00 | 34,50 | 34,00 | 34,75 | 34,3 | 34,4 | 99,7 |
| 0,06 | 42,00 | 40,00 | 41,00 | 41,00 | 41,0 | 41,2 | 99,5 |
| 0,07 | 47,00 | 50,00 | 47,00 | 46,00 | 47,5 | 48,0 | 98,9 |
| 0,08 | 56,00 | 55,00 | 55,00 | 54,00 | 55,0 | 54,8 | 100,3 |
| 0,09 | 62,00 | 64,00 | 61,00 | 62,00 | 62,2 | 61,6 | 100,9 |
| 0,10 | 68,00 | 70,00 | 68,00 | 68,00 | 68,5 | 68,4 | 100,1 |

4 — DISCUSSÃO

A determinação fotocolorimétrica do fósforo é feita comumente por um dos métodos seguintes: cálculo do "fator de calibração", interpolação ou gráficamente. Os dois primeiros processos quando se tem um número suficiente de padrões dá bons resultados; o último si bem que mais rápido que os anteriores dá resultados menos bons por razões de construção da reta que melhor se adapte aos pontos. O uso duma equação de regressão calculada com auxílio dum método reconhecidamente válido como o dos quadrados mínimos fornece, evidentemente, a solução mais satisfatória para o assunto.

A reprodutibilidade dos resultados e a concordância satisfatória entre os valores observados e os calculados nos permite usar com segurança suficiente a equação

$$Y = 679 x + 0,5$$

para a dosagem do fósforo em extratos de plantas.

5 — RESUMO E CONCLUSÕES

A dosagem fotocolorimétrica do fósforo em material vegetal no "E. E. L. portable colorimeter" é feita da seguinte maneira: destrói-se a matéria orgânica do produto com HN03 e HClO4 preparando-se um extrato de 100 cc. Pipeta-se uma quantidade adequada para um balão volumétrico de 100 cc, junta-se 5 cc de molibdato de amônio a 2,5% em H2S04 10 N, mais ou menos 50 cc de água destilada, 1,5 cc de SnCl2 a 1%, completa-se ao volume e depois de 15 minutos se fotometrizava usando filtro vermelho.

A concentração de fósforo no extrato é calculada com auxílio da equação de regressão

$$Y = 679 x + 0,5$$

onde Y é a leitura galvanométrica e x a concentração de fósforo expressa em miligramas de P elementar por 100 cc.

6 — SUMMARY

The following procedure is proposed for the determination of phosphorus in plant materials in the "E. E. L. portable colorimeter": digest 2 gm. of oven dried plant material with 10-15 ml. of nitric acid in a hot plate until no signs of solid substance is visible; (the product to be digested must be placed in a 250 ml. beaker covered with a clock glass) remove the beaker from the hot plate, add 5 ml. of concentrated perchloric acid, replace the watch glass and gently boil until clear and fuming with copious vapours of perchloric acid. Do not allow the solution to go to dryness. Add 25 ml. distilled water, bring to a boil and pass through a Whatman N. 42 filter paper to a 100 ml. volumetric flask. Wash the dehydrated silica with hot water to about 75 ml. Cool and dilute to volume. Pipette a suitable aliquot of the solution to a 100 ml. volumetric flask. Add 5 ml distilled water, shake well, add 1,5 ml. of freshly prepared 1 per cent stannous chloride solution. Make up to volume, mix and after 15 minutes take the galvanometric reading using the red filter. The phosphorus content in the solution can be estimated by the regression equation

$$Y = 679 x + 0,5$$

where Y is the galvanometric reading and x is the amount of phosphorus in 100 ml, of extract expressed in mgr of elemental P.

6 — LITERATURA CITADA

ALLPORT, NOEL L. 1945 — Colorimetric analysis, Chapman and Hall Ltd., London.

BRIEGER, F. G. 1937 — Tábuas e fórmulas para Estatística, Cia. Melhoramentos de São Paulo, São Paulo.

GOMES, FREDERICO PIMENTEL e EURIPEDES MALAVOLTA. 1949 — Considerações matemáticas sobre a lei de Mitscherlich. Bol. n. 3 da Esc. Sup. de Agr. "Luiz de Queiroz". (Piracicaba).

TOTH, S. J., A. L. PRINCE, A. WALLACE and D. S. MIKELSEN. 1948 — Rapid quantitative determination of eight mineral elements in plant tissue by a systematic procedure involving use of a flame photometer. Soil Sci. 65: (6) 459-466.