

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**GUILHERME D'ANGELO TRINDADE**

**PERFORMANCE DE MÉTODOS DE MINERALIZAÇÃO VIA-ÚMIDA DE TECIDOS  
FOLIARES DE SOJA E MILHO**

**Uberlândia - MG  
2022**

GUILHERME D'ÂNGELO TRINDADE

**PERFORMANCE DE MÉTODOS DE MINERALIZAÇÃO VIA-ÚMIDA DE TECIDOS  
FOLIARES DE SOJA E MILHO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado  
ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de  
Uberlândia, como requisito para obtenção do título  
de Engenheiro Agrônomo

**Orientador: Prof. Dr. Wedisson Oliveira Santos**

UBERLÂNDIA – M.G.  
2022

Guilherme D'Ângelo Trindade

# PERFORMANCE DE MÉTODOS DE MINERALIZAÇÃO VIA-ÚMIDA DE TECIDOS FOLIARES DE SOJA E MILHO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado  
ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de  
Uberlândia, como requisito para obtenção do título  
de Engenheiro Agrônomo

**Orientador: Prof. Dr. Wedisson Oliveira Santos**

Data da defesa/entrega: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

## **MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA:**

---

**Presidente e Orientador: Wedisson Oliveira Santos**

---

**Membro Titular: Eliana Silvério Fornel de Castro**

---

**Membro Titular: Igor Forigo Beloti**

**Local:** Universidade Federal de Uberlândia  
Instituto de Ciências Agrárias  
**UFU – Campus de Uberlândia**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço imensamente todo o carinho, paciência, apoio e força que recebi dos meus pais, Odílio e Edna, dos meus irmãos, Bruno e Isabela e da minha namorada, Beatriz e um agradecimento especial à responsável pelo laboratório, Eliana, que disponibilizou e me ajudou para que esse trabalho fosse realizado. Foram tantas idas e vindas, altos e baixos, e tentativas frustradas de prosseguir com a elaboração deste trabalho, mas eles sempre estiveram ao meu lado, me ouvindo e me acolhendo com as melhores palavras.

Ao meu orientador, meu muito obrigado! Obrigado pelas reuniões para alinharmos os pensamentos. Obrigado pelas orientações, pelas dicas e pela paciência. Foram dias difíceis, em especial, nestes dois últimos anos que foram tão conturbados. Apesar desses dias, as trocas entre professor e aluno sempre estiveram presentes, mesmo à distância. Agradeço demais por todo o caminho percorrido ao seu lado, professor!

Por fim, agradeço meus amigos por todo o companheirismo ao longo desses cinco anos de curso. Foram cinco anos bem compartilhados e que sempre estarão nas minhas melhores lembranças.

## RESUMO

A quantificação do teor de nutrientes tecidos vegetais possibilita o diagnóstico do estado nutricional das plantas em termos de deficiências, suficiências, excessos e equilíbrios de nutrientes, auxiliando no manejo da adubação das culturas. Portanto, é essencial que a quantificação desses nutrientes seja de elevada exatidão, o que repercutirá diretamente na qualidade do diagnóstico do estado nutricional das culturas. Há grande diversidade de métodos de mineralização (digestão) de tecidos foliares, por outro lado, pouco se conhece sobre suas eficiências absolutas e relativas. Assim, diante dessa lacuna, foi o objetivo da pesquisa avaliar a eficiência de métodos de mineralização via-úmida de tecidos foliares das duas culturas mais cultivadas no país, soja e milho. Os tratamentos foram compostos por cinco métodos de digestão, sendo (1) um a água régia ( $\text{HCl} + \text{HNO}_3$ ) e outros (4) quatro baseados em mistura nitroperclórica ( $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ). Após a mineralização das amostras, seguindo o protocolo dos diferentes métodos, determinaram-se os teores de P, S e B, por espectrofotometria de absorção molecular; de K, por espectrofotometria de emissão de chamas e dos demais (Ca, Mg, Zn, Cu, Mn e Fe), por espectrofotometria de absorção atômica. Considerou-se o delineamento inteiramente casualizado, para efeito de tratamento estatístico. Os dados foram submetidos a análise de variância, sendo os métodos avaliados quanto as seguintes variáveis: equivalências (teste Scott-Knott) capacidade de extração, exatidão (aproximação dos valores de referência) e precisão (CV,  $\sigma$ ,  $\sigma/\sqrt{n}$ ). Constatou-se que os métodos, em geral extraem diferentes quantidades de nutrientes, com variações de performance para nutriente e cultura, portanto não sendo possível eleger um método universal. Para folhas de soja os tratamento que apresentaram os melhores resultados foi o método de digestão nitroperclórica 4/1 de Sarruge e Haag (1974). Já para folhas de milho os métodos que apresentaram melhores resultados foram a água régia de McGrath e Cunliffe (1985), que apresentou os melhores resultados para os micronutrientes, e o nitroperclórico 7/1 Zasousk & Barau (1977) se destacou para os macronutrientes.

**Palavras Chave:** mineralização via-úmida, tecido vegetal, metodologias.

## ABSTRACT

The quantification of plant tissue nutrient content makes it possible to diagnose the nutritional status of plants in terms of deficiencies, sufficiency, excesses and balances of nutrients, helping in the management of crop fertilization. Therefore, it is essential that the quantification of these nutrients is highly accurate, which will directly affect the quality of the diagnosis of the nutritional status of cultures. There is a great diversity of methods of mineralization (digestion) of leaf tissues, on the other hand, little is known about their absolute and relative efficiencies. Thus, in view of this gap, the objective of the research was to evaluate the efficiency of methods of mineralization via-wet of leaf tissues of the two most cultivated crops in the country, soybean and corn. The treatments consisted of five digestion methods, (1) one using aqua regia (HCl+HNO<sub>3</sub>) and the other (4) four based on a nitroperchloric mixture (HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub>). After mineralization of the samples, following the protocol of the different methods, the contents of P, S and B were determined by molecular absorption spectrophotometry; of K, by flame emission spectrophotometry and of the others (Ca, Mg, Zn, Cu, Mn and Fe), by atomic absorption spectrophotometry. A completely randomized design was considered for statistical purposes. The data were submitted to analysis of variance, and the methods were evaluated for the following variables: equivalences (Scott-Knott test), extraction capacity, accuracy (approximation of reference values ) and precision (CV,  $\sigma$ ,  $\sigma/\sqrt{n}$ ). It was found that the methods, in general, extract different amounts of nutrients, with performance variations for nutrient and culture, therefore it is not possible to choose a universal method. For soybean leaves, the treatment that presented the best results was the 4/1 nitroperchloric digestion method of Sarruge and Haag (1974). As for corn leaves, the methods that presented the best results were the aqua regia by McGrath and Cunliffe (1985), which presented the best results for micronutrients, and the nitroperchloric 7/1 Zasousk & Barau (1977) stood out for the macronutrients.

**Keywords:** wet-via mineralization, plant tissue, methodologies.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Teores de P, K, Mg e Ca extraídos por diferentes métodos de mineralização, por digestão úmida (mistura nitroperclórica, proporção v/v, HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub> 2/1, 3/1, 4/1, 7/1; digestão com água régia). Médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferencia os métodos dentro de tecidos foliares de milho ou soja, respectivamente, pelo teste Scott-Knott ( $p= 0,05$ ). 22
- Figura 2** Teores de Zn, Cu, Mn, Fe e B extraídos por diferentes métodos de mineralização, por digestão úmida (mistura nitroperclórica, proporção v/v, HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub> 2/1, 3/1, 4/1, 7/1; digestão com água régia). Médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferencia os métodos dentro de tecidos foliares de milho ou soja, respectivamente, pelo teste Scott-Knott ( $p= 0,05$ ). 24

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	Descrição das marchas analíticas dos métodos de mineralização (tratamentos).	17
<b>Quadro 2</b>	Curva de calibração para Mn, Zn, Fe e Cu.	18
<b>Quadro 3</b>	Curva de calibração para Mg e Ca.	19
<b>Quadro 4</b>	Curva de calibração para P.	20
<b>Quadro 5</b>	Curva de calibração para B.	20
<b>Quadro 6</b>	Curva de calibração para K.	21

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- NP 2/1** Digestão nitroperclórica na proporção 2/1 v:v, HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>
- NP 3/1** Digestão nitroperclórica na proporção 3/1 v:v, HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>
- NP 4/1** Digestão nitroperclórica na proporção 4/1 v:v, HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>
- NP 7/1** Digestão nitroperclórica na proporção 7/1 v:v, HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub>

## SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	11
2 - OBJETIVOS	13
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
4 – MATERIAL E MÉTODOS	17
5 - RESULTADOS	22
6 – DISCUSSÃO	25
7 – CONCLUSÃO	27
8 – REFERÊNCIAS	28

## 1. INTRODUÇÃO

A quantificação do teor foliar de nutrientes minerais em órgãos vegetais visa, principalmente, o diagnóstico do estado nutricional das culturas quanto a deficiência, suficiência, excessos e equilíbrios nutricionais, possibilitando auxiliar no manejo nutricional. Essa análise é feita, em geral, em tecidos de folhas recém maduras, já que nessa fase fenológica há maior sensibilidade foliar à variações de disponibilidade de nutrientes no solo, refletindo satisfatoriamente o estado nutricional pontual da cultura. Portanto, a estreita relação entre os teores foliares de nutrientes com suas disponibilidades no solo justifica a utilização da análise foliar como instrumento de avaliação indireta do suprimento de nutrientes às plantas, sendo essencial o uso de métodos analíticos capazes de determinar com elevada exatidão tais teores (MALAVOLTA et al., 1997; MARTIN PREVEL et al., 1984).

A análise dos tecidos vegetais pode se dar por diferentes métodos, e tem como objetivo comum verificar os teores de elementos químicos essenciais às plantas (TEDESCO et al., 1995). Essa análise é importante por ser uma das formas que auxiliam o manejo nutricional das culturas, permitindo maximizar a eficiência de recomendações de adubação (SETIYONO et al., 2010; PARENT, 2011; DIAS et al., 2013).

Os resultados apresentados em uma análise foliar, são importantes para que a elevação da produtividade seja alcançada de forma sustentável e economicamente viável, suprindo nutrientes de forma adequada, pois, aumentos ou decréscimos nas concentrações de nutrientes em folhas diagnósticas, refletem em aumentos ou decréscimos de produtividade das culturas, respectivamente (MALAVOTA et al., 1997).

Entre os métodos mais antigos de quantificação de teores de nutrientes em tecidos vegetais, destacam-se aqueles baseados em calcinação, os quais envolvem a completa carbonização da matéria orgânica, seguido da dissolução ácida do material remanescente, as cinzas. Diante de algumas desvantagens dos métodos de carbonização como lentidão no processo, e aquecimento em temperaturas muito elevadas, métodos baseados em digestão úmida são mais abundantes. Como princípio geral, esses métodos apresentam como componente central a presença de um ou mais agentes oxidantes químicos do material orgânico. Entretanto, a eficiência desses métodos pode variar a depender do agente oxidante, de relações

volume/massa com a amostra e condições de digestão, que em geral envolvem aquecimento (BERNARDI; OKA; SOUZA, 2010).

Diante da diversidade de métodos utilizados em diferentes laboratórios de rotina em análise foliar e escassez de pesquisas que demonstrem suas performances, foi objetivo do presente trabalho de TCC avaliar a eficácia dos principais métodos de mineralização de tecidos foliares de milho e soja.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a performance de diferentes métodos de mineralização via úmida de tecidos foliares de soja e milho.

### **2.2 Objetivo Específico**

Identificar método (s) mais eficiente (s) na mineralização de tecidos foliares de soja ou milho quanto a teores de P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, B e Zn.

Avaliar a eficiência dos métodos para cada cultura e nutriente.

Identificar possíveis fatores de otimização dos métodos.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O conhecimento dos teores de nutrientes minerais em folhas diagnósticas das culturas possibilita a identificação de deficiências, excessos e desequilíbrios nutricionais, já que a composição química da planta reflete de forma integrada as condições edafoclimáticas as quais interage, incluindo a disponibilidade de nutrientes no solo (MALAVOLTA et al., 1997).

A análise do tecido vegetal é prática usual para a diagnose do estado nutricional das plantas, já que a folha é órgão 'central' do metabolismo vegetal, sendo sensível à disponibilidade de nutrientes do solo, o que afeta diretamente à produtividade vegetal (FERREIRA, 2014). Portanto, trata-se de uma ferramenta importante para o manejo nutricional das culturas, auxiliando no diagnóstico da fertilidade do solo, podendo dar algum suporte na recomendação de fertilizantes (EMBRAPA, 2009).

Para interpretar os teores de nutrientes minerais em tecidos vegetais existem diferentes metodologias, tais como: Nível Crítico e Faixa de Suficiência (ULRICH e HILLS, 1967), Índices Balanceados de Kenworthy (KENWORTHY, 1961), DRIS (BEAUFILS, 1973) e Chance Matemática (WADT, 1996). Entretanto, é necessário que o método utilizado apresente elevada exatidão na determinação dos teores, para que a ferramenta de diagnóstico seja efetiva (TEDESCO et al., 1995).

Além da exatidão inerente a um bom método analítico é altamente desejável que o mesmo produza pouco resíduo, seja adequado para o maior número possível de elementos, apresente baixo risco operacional, seja de simples execução e de baixo custo financeiro (SILVA, 2008; FERREIRA, 2014).

A mineralização dos compostos orgânicos contidos nos tecidos vegetais é a principal etapa dos métodos. Durante essa fase, compostos orgânicos são mineralizados quimicamente (oxidação-dissolução) ou por um processo físico-químico (carbonização).

Métodos de carbonização envolvem a completa combustão do material orgânico, seguindo pela dissolução ácida dos constituintes minerais remanescentes. Esses métodos são tidos como vantajosos pela facilidade operacional e ao baixo "background" (matriz branco), no entanto alguns trabalhos reportam baixas recuperações de alguns elementos por tais métodos (ALLEN, 1974). Os principais fatores relacionados às baixas recuperações de elementos pela carbonização estão associados à volatilização de alguns elementos como o B, associada a temperatura e tempo de aquecimento; a composição das amostras e a estrutura do cadinho (ALLEN,

1974). Elementos não metálicos podem ser perdidos por volatilização, a exemplo do S e B, especialmente a partir de 550 °C. Assim, a temperatura de calcinação deve ser mínima, porém suficiente para assegurar a mineralização da matéria orgânica (FERREIRA, 2014).

Já a digestão ácida via úmida de amostras vegetais tem como princípio o uso de agentes químicos oxidantes da matéria orgânica, apresentando algumas vantagens em relação à combustão, a citar (EMBRAPA, 2009): ausência de perdas de elementos por volatilização e a determinação de muitos elementos químicos em apenas uma solução de digestão. Entretanto, entre as principais desvantagens desses métodos está o risco de explosões durante as digestões, especialmente quando se utiliza o ácido nítrico, ácido perclórico ou mistura de ambos (ALLEN, 1974). De fato, Bernardi, Oka e Souza (2010) utilizando digestão nítroperclórica (4:1 v/v) avaliaram que apesar de mineralizar satisfatoriamente as amostras de capim-tanzânia e alfafa, o método apresenta inconvenientes, como: a produção de muitos vapores tóxicos, com risco de explosões, o que exige equipamentos especiais (capela de gases e blocos digestores), além de os reagentes serem de difícil aquisição, pois são controlados pelo Exército.

A comparação de métodos de mineralização tem mostrado diferentes resultados, não sendo possível ainda se eleger um método universal para variadas condições. Menezes et al. (2017) fizeram uma comparação entre digestão seca em cadinho de porcelana sugerido pela AOAC (1982) e digestão úmida nítroperclórica de folhas de orégano, e concluíram que a digestão úmida foi mais exata na quantificação de K, limitando os estudos somente a esse elemento. Silva et al. (2017) contrastando a digestão úmida nítroperclórica 3/1 de Tedesco (1995) em plantas de trigo, girassol e soja (3/1) (com a calcinação que chega a 190°C por 4 h diagnosticaram perdas expressivas de nutrientes por volatilização, especialmente P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn e Zn. Por outro lado, apontaram que houve contaminação de B na digestão úmida, muito provavelmente devido ao tubo de digestão constituir-se de boro silicato.

Ferreira (2014) comparou a eficácia da digestão com água régia, na proporção 3:1 (McGrath e Cunliffe, 1985), com a digestão seca em cadinho de porcelana (Silva, 2009) e concluiu que a digestão úmida foi vantajosa por possibilitar a obtenção de extrato multinutriente e facilidade de preparo de curvas analíticas, reduzindo problemas analíticos em etapas subsequentes à digestão, enquanto a digestão seca, apesar de pouco poluidora e de simples execução, é mais lenta e pode promover

perdas de alguns nutrientes por volatilização e estão mais sujeitas a contaminação externa, já a água régia apresenta menor risco operacional e ambiental que as demais, é de simples execução rotineira, porém deixa resíduos amarelados no extrato obtido, devido a presença de óxido nítrico e é a que apresenta menor índice de recuperação de elementos químicos. A digestão por água régia também deixa um pouco de resíduos sólidos no fundo, indicando que não houve digestão completa do material (FERREIRA, 2014).

Vila Nova (2012) avaliou as metodologias de digestão nitroperclórica na relação 7:1 (v/v) de Zasousk e Barau (1977) e digestão seca em cadinho de porcelana, constatando que a digestão úmida promoveu maior recuperação de Ca, Mg e Zn. Notou-se ainda que há uma elevada variância entre os métodos de calcinação e nitroperclórico nos valores de Cu e Fe e que a calcinação é mais eficiente para a determinação de Cu.

A Embrapa (2000) testou a digestão nitroperclórica na proporção 2:1, na qual verificou-se que essa metodologia alcançava maior precisão na determinação de Fe e Zn quando comparadas a padrões de qualidade Inter laboratoriais, além de minimizar os custos pelo menor uso de reagentes e de ser menor geradora de resíduos.

Enfim, a comparação entre os métodos de mineralização de tecidos vegetais ainda necessita de maiores investigações, visando a eleição de método mais multielementos, mais exatos, mais seguros e sustentáveis em termos ambientais e financeiros.

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório Micellium, localizado na cidade de Barretos, estado de São Paulo.

O ensaio seguiu o esquema 2x5, sendo utilizado material vegetal de culturas representativas do País (milho e soja) e cinco métodos de mineralização (Quadro 1). Cada ensaio foi feito de forma independente. Para efeito de tratamentos estatísticos, o delineamento utilizado foi considerado como DIC, com três repetições.

Para tanto, amostras de folhas de milho ou soja foram secadas em estufa com ventilação forçada de ar (65 °C) até estabilidade de massa, sendo em seguida moídas em moinho tipo Wiley com peneira de malha 20 mesh. Em seguida, após nova secagem, amostras representativas foram submetidas à digestão conforme os métodos correspondentes (Quadro 1).

**Quadro 1.** Descrição das marchas analíticas dos métodos de mineralização (tratamentos)

Método	Solução Extratora	Marcha de extração	Referência
Água régia 3:1	3:1, v:v, HCl:HNO <sub>3</sub>	Pesagem de 0,2 g de material vegetal em tubo de digestão. Adiciona-se 6 mL de água régia a frio, ficando em pré digestão por 16 h. Em seguida, inicia-se a digestão em bloco com elevação gradual de temperatura até 180 °C e até restar cerca de 1 mL de ácido. As amostras são resfriadas e adiciona-se ao extrato 10 mL de água bidestilada e filtra-se com membrana de filtração e transfere-se para tubo Falcon de 55 mL.	McGrath e Cunliffe (1985)
Nítrico-perclórico	2:1, v:v, HNO <sub>3</sub> :HCl O <sub>4</sub>	Pesagem de 0,5 g de material moído em tubo de digestão. Adiciona-se 4 mL de ácido nítrico, ficando em repouso por 12 horas. Na sequência, leva-se ao aquecimento até 120 °C. Na sequência adiciona-se 2mL de ácido perclórico e eleva-se a temperatura até 180 °C. Deixa-se esfriar e adiciona-se 25 mL água ultra pura.	Embrapa (2000)
Nítrico-perclórico	3:1, v:v, HNO <sub>3</sub> : HClO <sub>4</sub>	Pesagem de 0,2 g de material em tubo de digestão. Adiciona-se 6 mL de ácido nítrico, ficando em repouso por 16h. Na sequência, leva -se ao aquecimento até 140°C em bloco digestor até restar 1 mL de ácido. Retira-se os tubos e deixa resfriar. Adiciona-se 2 mL de ácido perclórico e aquece até 190°C por mais 2 horas. As amostras são retiradas com aproximadamente 2mL e resfriadas, em seguida, adiciona-se água bidestilada e filtra-se	Tedesco et al. (1995)

com membrana de filtração.

Nítrico- Perclórico	4:1, v:v, HNO <sub>3</sub> : HClO <sub>4</sub>	Pesagem de 0,5 g de material. Adição de 6 mL da mistura ácido nítrico e perclórico na relação 4:1 v/v. Na sequencia, leva-se ao aquecimento em chapa aquecedora de 80 °C até 200 °C. Por fim, completa-se o volume com água deionizada. Agita-se e filtra em papel filtro quantitativo.	Sarruge e Haag (1974)
Nítrico- perclórico	7:1, v:v, HNO <sub>3</sub> : HClO <sub>4</sub>	Pesa-se 0,4 g de material. Adiciona-se 7 mL de ácido nítrico P.A. a 25°, ficando em repouso por 16 h. Na sequencia, leva-se ao aquecimento em bloco digestor de 80° a 100 °C por 3h e 30min. Adiciona-se 1mL de ácido perclórico P.A. e aumenta-se a temperatura até 200 °C. Por último adiciona-se 20mL de água deionizada.	Zasousk e Burau (1977)

Nos extratos, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe e Mn foram dosados por espectrofotometria de absorção atômica. Os Quadros 2 e 3 descrevem as curvas de Calibração do espectrofotômetro para esses elementos.

Os teores de Mn, Zn, Fe e Cu foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. O procedimento para realizar a leitura se baseou na curva de calibração apresentada a seguir, utilizando o branco, com valor "0" como o primeiro ponto da curva. O extrato diluído foi lido diretamente no aparelho de absorção atômica.

**Quadro 2:** Curva de calibração do Espectrofotômetro de Absorção Atômica para Mn, Zn, Fe e Cu.

Pontos	Mn	Zn	Fe	Cu	Solução padrão Mn	Água destilada	Extrator 2X	V. Final
	-----mg/L-----					-----mL-----		
1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	25,00	25	50
2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,25	24,75	25	50
3	0,2	0,2	0,4	0,2	0,50	24,50	25	50
4	0,4	0,4	0,8	0,4	1,00	24,00	25	50
5	0,8	0,8	1,6	0,8	2,00	23,00	25	50
6	1,6	1,6	3,2	1,6	4,00	21,00	25	50
7	3,2	3,2	6,4	3,2	8,00	17,00	25	50
8	6,4	6,4	12,8	6,4	16,00	9,00	25	50

Solução Padrão \_Mn: Solução Padrão Multinutriente contendo 20 mg/L de Mn, Zn e Cu, e 40 mg/L de Fe. Extrator 2X: Solução que foi utilizada para digerir a amostra duplamente concentrada.

Os teores de Ca e Mg, nos extratos, foram determinados por Espectrofotometria de absorção atômica. Para realização do procedimento pipetou-se 1 mL do extrato diluído para um copo e adicionou 19 mL de água. Em seguida, pipetou-se novamente 1 mL dessa amostra diluída e adicionou 9 mL de óxido de lantânio na concentração  $1g^{-1}$ . Feito isso, o extrato foi agitado em vortex e lido no espectrofotômetro de absorção atômica.

**Quadro 3:** Curva de calibração do Espectrofotômetro de Absorção Atômica para Mg e Ca.

Pontos	Mg	Ca	Solução padrão Ca/Mg	Água destilada	Extrator 2X	V. Final
	-----mg/L-----		-----mL-----			
1	0	0	0,0	50,0	25	75
2	2	5	2,5	47,5	25	75
3	4	10	5,0	45,0	25	75
4	6	20	10,0	40,0	25	75
5	8	40	25,0	25,0	25	75
6	10	75	37,5	12,5	25	75

Solução Padrão \_Ca e Mg: Solução que contém 150 mg/L Ca e 20 mg/L Mg. Extrator 2X: Solução que foi utilizada para a digerir a amostra duplamente concentrada.

Fósforo e B foram quantificados nos extratos por espectrofotometria de absorção molecular. Os Quadros 4 e 5 descrevem, respectivamente, as curvas de calibração do espectrofotômetro.

Para a obtenção do teor de P, pipetou-se 1 mL da amostra e adicionou 4 mL de água e 2 mL do reagente de trabalho que é composto por uma mistura em partes iguais de molibdato de amônio 5% e vanadato de amônio 0,25%, o composto foi agitado e após 15 min foi lido no Espectrofotômetro de absorção molecular UV-VIS a 420nm. O aparelho foi zerado com 5 mL de ácido sulfúrico 10 N e 2 mL do reagente de trabalho.

**Quadro 4:** Curva de calibração do Espectrofotômetro de Absorção Molecular para P.

Pontos	P mg/L	Solução padrão P	Água destilada mL	Extrator 2X	V. Final
1	0	0	40	10	50
2	4	5	35	10	50
3	8	10	30	10	50
4	12	15	25	10	50
5	16	20	20	10	50
6	20	25	15	10	50

Solução Padrão \_P: Solução que contém 40 mg/L de P. Extrator 2X: Solução que foi utilizada para a digerir a amostra duplamente concentrada.

Para o B o procedimento foi pipetar 2 mL do extrato para um tubo de ensaio, colocar 2 mL da solução – tampão acetato e 2 mL de azometina, o tubo foi agitado e esperou-se 30 minutos no escuro para fazer a leitura. Para a obtenção do tampão acetado dissolveu-se 250 g de NH<sub>4</sub>OAC (acetato de amônio) e 15 g de EDTA em 400 mL de H<sub>2</sub>O, adicionou 125 mL de Ácido acético glacial e completou o volume até 1000 mL com H<sub>2</sub>O. Para a obtenção da solução de azometina foi dissolvido 1g de ácido ascórbico em 80 mL de água e adicionou-se 0,45 g de azometina e completou o volume até 100 mL com H<sub>2</sub>O.

Foi lida a absorbância a 420 nm. O aparelho foi zerado com 2 mL HCl 0,1 mL, 2 mL da solução tampão de acetato e 2 mL de azometina.

**Quadro 5:** Curva de calibração do Espectrofotômetro de Absorção Molecular para B.

Pontos	B mg/L	Solução Padrão B	Água Destilada mL	Extrator 2X	Tampão	H-Azometina	V. Final
1	0	0	1	1	2	2	6
2	0,2	0,1	0,9	1	2	2	6
3	0,4	0,2	0,8	1	2	2	6
4	0,8	0,4	0,6	1	2	2	6
5	1,6	0,8	0,2	1	2	2	6

Solução Padrão \_B: Solução que contém 12 mg/L de B. Extrator 2X: Solução que foi utilizada para a digerir a amostra duplamente concentrada.

Os teores de K nos extratos foram determinados por espectrofotometria de emissão de chamas, utilizando-se a curva de calibração do equipamento apresentada no Quadro 6. Como procedimento padrão, o branco (primeiro ponto da curva) foi ajustado no aparelho para “0” de emissão e a maior concentração, para 100%. Para tanto, tomou-se 1,00 mL de extrato, que foi transferido para tubos de ensaio, onde

adicionaram-se 9 mL de água destilada, homogeneizou-se com agitação em vortex, sendo em seguida realizada a dosagem.

**Quadro 6:** Curva de calibração do Espectrofotômetro de Emissão de chamas para K

Pontos	K mg/L	Solução padrão K -----mL-----	Água destilada	Extrator 2X	V. Final
1	0	0	10	10	20
2	5	1	9	10	20
3	10	2	8	10	20
4	20	4	6	10	20
5	40	8	2	10	20

Solução Padrão \_K: Solução que contém 100 mg/L de K. Extrator 2X: Solução que foi utilizada para a digerir a amostra duplamente concentrada.

Os dados foram inicialmente submetidos a teste de normalidade e de homogeneidade. Em seguida, atendendo a estas pressuposições, os dados foram submetidos a análise de variância, sendo as médias dos tratamentos comparadas entre si pelo teste Scott-Knott (0,05). Medidas de dispersão dos dados, como CV, desvio padrão ou erro padrão foram utilizadas para inferências sobre a precisão dos métodos.

## 5. RESULTADOS

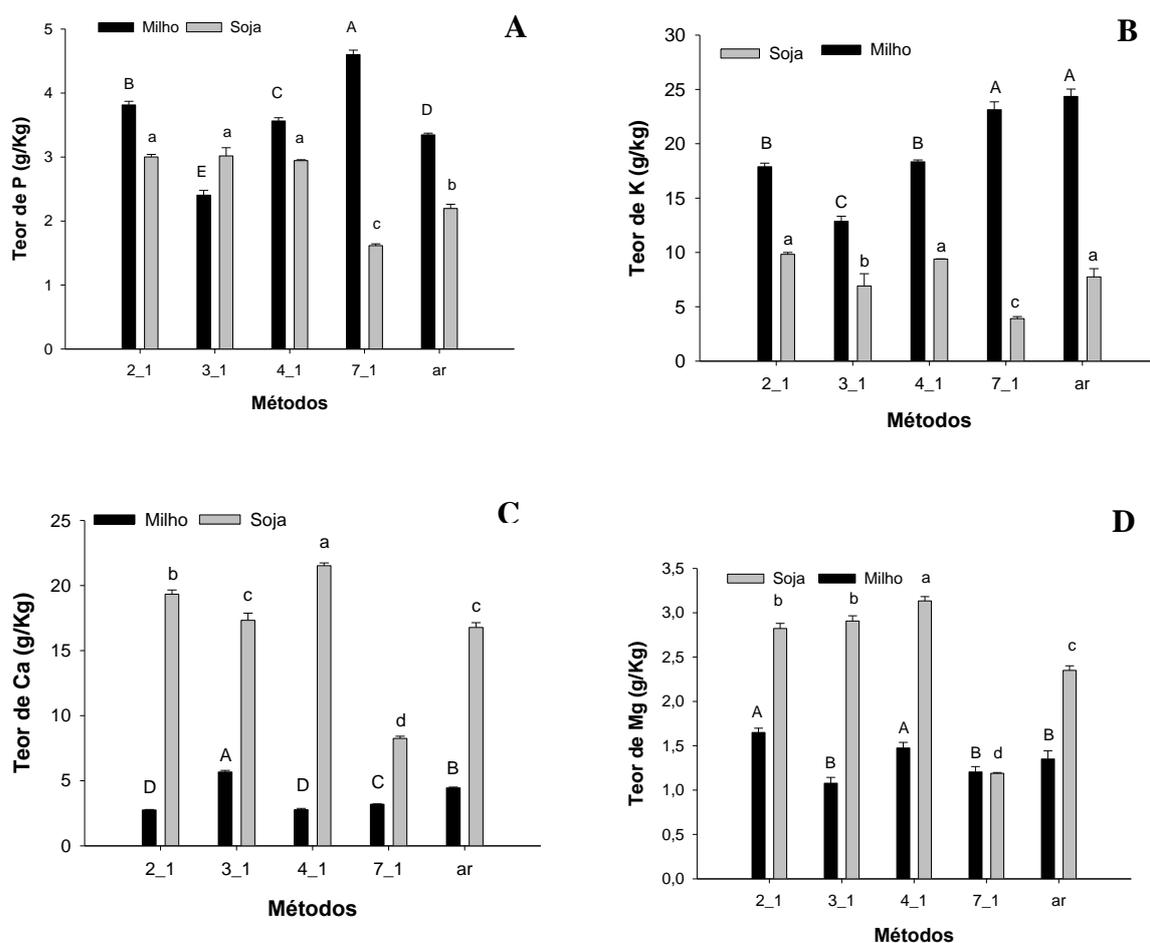
### ***Fósforo, Potássio, Magnésio e Cálcio***

A capacidade de extração de Ca, Mg e Ca pelos métodos foi variável para os diferentes tipos de tecidos foliares- milho ou soja (Figura 1).

Para P, o método NP7/1 foi mais eficaz para o milho, mas curiosamente apresentou o pior desempenho para a soja. O método NP3/1, menos eficiente, extraiu apenas 56% de P em relação ao melhor método (NP7/1), enquanto para a soja, o método NP7/1 subdeterminou os teores de P em cerca de 51% (Figura 1A)

Na extração de K, os métodos da água régia e o NP7/1 se destacaram com maiores teores do nutriente para o milho, representando extrações de cerca de 1,8 vezes superior ao método menos eficaz, o NP3/1. Já para soja, juntamente com a água régia os métodos NP 2/1 e 4/1 foram superiores, em geral recuperando até três vezes mais do nutriente que os métodos menos efetivos (Figura 1B).

Os métodos NP 3/1 e água régia foram mais eficazes na extração de Ca para o milho, enquanto para a soja, o NP4/1 extraiu maiores teores. Para Mg, o método NP4/1 foi mais efetivo tanto para os tecidos foliares de soja como de milho (Figura 1CD)



**Figura 1.** Teores de P (A), K (B), Mg (C) e Ca (D) extraídos por diferentes métodos de mineralização, por digestão úmida (mistura nitroperclórica, proporção v/v, HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub> de 2/1, 3/1, 4/1, 7/1 e água régia). Médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferenciam os métodos dentro de tecidos foliares de milho ou soja, respectivamente, pelo teste Scott-Knott ( $p = 0,05$ ).

### Zinco, Cobre, Manganês, Ferro e Boro

Para Zn, a água régia se destacou tanto para o milho quanto para a soja, extraíndo os maiores teores. Curiosamente para o milho, os demais métodos extraíram teores semelhantes do nutriente, já para a soja o resultado foi bastante variado com o método NP 4/1 extraíndo apenas cerca de 50% do que foi extraído pelo método de água régia (Figura 2A).

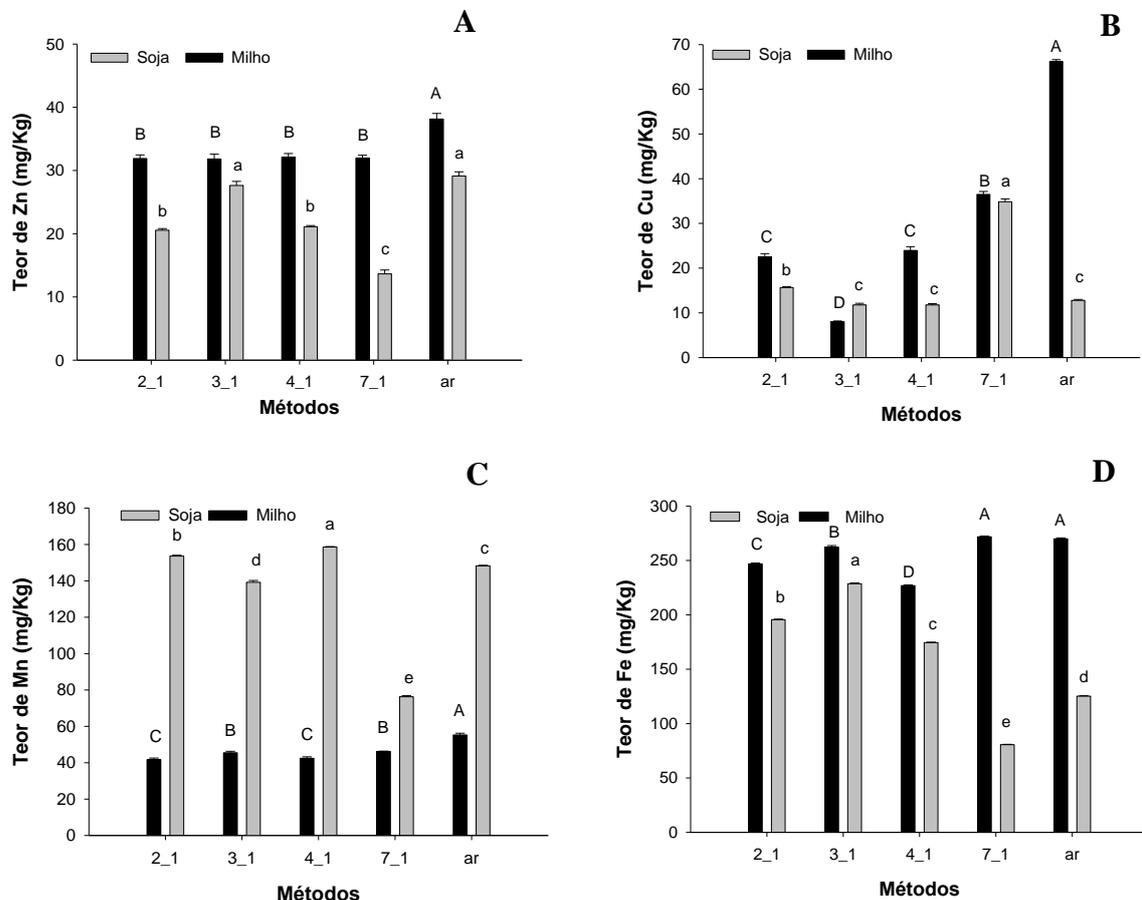
Na extração de Cu o método de água régia foi o mais efetivo para o milho, extraíndo cerca de sete vezes mais o elemento que o NP 3/1, que foi o método menos eficaz, enquanto que para a soja esse mesmo método foi o que apresentou o pior

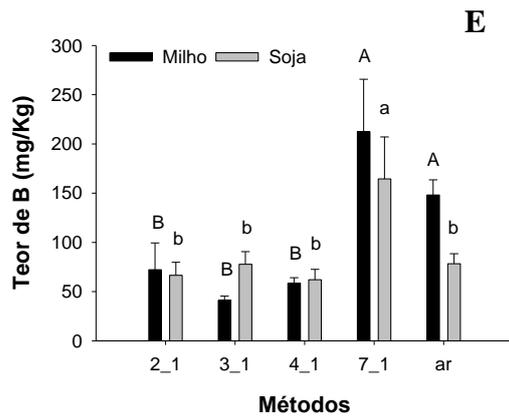
resultado juntamente NP 3/1 e NP 4/1, que subdeterminou em cerca de 40% os teores de Cu quando comparado ao método NP 7/1 (Figura 2 B).

Em relação ao Mn todos os métodos apresentaram resultados acima de 140 mg/kg para o milho, com exceção do método NP 7/1 que quantificou apenas cerca de 50% desse valor, contudo, o método que extraiu os maiores teores foi o NP 4/1. Para a soja, o método mais efetivo foi o método da água régia (Figura 2C).

Os métodos NP 7/1 e água régia foram mais eficazes na extração de Fe para o milho, entretanto, na soja esses dois métodos foram os que apresentaram os piores resultados, sendo o NP 7/1 responsável por extrair apenas 35% da quantidade extraída pelo melhor método que foi o NP 3/1, e a água régia extraindo apenas cerca de 48% do melhor método (Figura 2D).

A extração de B foi maior para os métodos NP 7/1 e água régia para o milho. Os demais métodos extraíram quantidades equivalentes desse nutriente. Para soja, o método NP 7/1 foi mais efetivo, sendo os demais equivalentes. Destaca-se que para o B, os coeficientes de variação foram os mais elevados para todos os métodos e culturas (Figura 2E).





**Figura 2.** Teores de Zn, Cu, Mn, Fe e B extraídos por diferentes métodos de mineralização, por digestão úmida (mistura nitroperclórica, proporção v/v, HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub> 2/1, 3/1, 4/1, 7/1; digestão com água régia). Médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferencia os métodos dentro de tecidos foliares de milho ou soja, respectivamente, pelo teste Scott-Knott ( $p=0,05$ ).

O coeficiente de variação para os nutrientes analisados apresentou níveis baixos, de bom a excelentes, para a maioria desses nutrientes com exceção do boro. Estes valores adequados de CV, abaixo de 0,1, vêm a demonstrar a precisão das análises realizadas.

## 6. DISCUSSÃO

A grande variação de eficiência dos métodos na recuperação de nutrientes em tecidos de soja e milho revela fragilidades nas rotinas de análise de tecidos vegetais. Novos estudos devem ser realizados com o objetivo de universalizar um método, já que, por muitas razões, incluindo aspectos financeiros, não seria viável utilizar métodos específicos por elemento e origem dos tecidos vegetais.

Segundo Carneiro et al. (2006), que comparou cinco métodos de análise química foliar, o método que utiliza HCl que é o caso da água régia conseguiu extrair maiores valores de K. Além disso, o método de água régia apresentou elevada recuperação de todos os micronutrientes, especialmente para o milho. Esse método é um dos mais promissores, por ser de execução rápida, simples e de um baixo risco operacional devido à baixa emissão de vapores tóxicos (FERREIRA, 2014). Exceto para o P, o método de água régia apresentou resultados acima de 80% para todos os nutrientes na cultura do milho. Para a soja, a água régia também apresentou alguns resultados satisfatórios, porém serão necessários mais estudos para se investigar porque para alguns nutrientes a recuperação foi baixa.

Foi observado que para a água régia, principalmente na cultura da soja, a amostra não foi totalmente solubilizada, ficando restos de matérias nos tubos de digestão. Certamente essa irregularidade na digestão contribuiu para a heterogeneidade dos resultados.

O método NP7/1 apesar de apresentar bons resultados, principalmente para os macronutrientes na cultura do milho, assim como o a água régia que possui uma baixa utilização, esse método também é pouco utilizado especialmente por causa tempo gasto para realizar o processo (OEHS, 2001). Porém, apesar de difícil manuseio por meio de digestão nitroperclórica obteve-se em geral, melhores resultados, para a soja, especialmente o NP4/1 que apresentou bons resultados tanto para macro quanto para micronutrientes. A digestão utilizando NP4/1 também apresentou resultados satisfatórios para o milho, mesmo não sendo o método que tenha apresentado os maiores valores de recuperação. Essa metodologia também se destacou por ser a mais rápida em comparação as outras.

A digestão nitroperclórica, em geral, se mostrou mais eficaz para a cultura da soja, obtendo-se os resultados mais satisfatórios, sendo que apenas para o Zn a água régia apresentou um melhor resultado, porém todos os métodos de digestão nitroperclórica apresentaram resultados acima de 80% do máximo que foi extraído.

Em relação ao milho, foi observado que quando o ácido perclórico é adicionado e levado ao aquecimento pode ocorrer espirros, fazendo com que ocorra vazamentos do material, isto pode interferir nos resultados. Isso acontece principalmente quando as proporções entre ácido nítrico e ácido perclórico são menores. A ocorrência desse fenômeno é devido ao tecido foliar de milho apresentar uma baixa densidade, sendo observado que para se obter a massa desejada de milho foi utilizada um maior volume do material quando comparada a soja. Dessa forma, foi verificado que os melhores resultados apresentados para o milho foram obtidos no método NP 7/1, que apresenta uma baixa proporção de ácido perclórico e a água régia que não possui ácido perclórico em sua composição.

Essa pesquisa, de caráter exploratório, sinaliza a necessidade de novos estudos de otimização visando isolar efeitos das principais variáveis na marcha de digestão, como massa da amostra, volume dos ácidos, relações entre ácidos, tempo e rampas de aquecimento, etc.

## 7. CONCLUSÕES

Não foi possível eleger um método universal para todos os nutrientes e culturas pois houve elevada variação nas capacidades de recuperação de nutrientes pelos métodos.

Para o milho, as metodologias que apresentaram os melhores resultados foram a digestão NP 7/1 e água régia. Sendo o NP 7/1 mais eficiente para os macronutrientes e a água régia mais eficiente para os micronutrientes, abrindo possibilidades para novos estudos.

Para a soja, a água régia não apresentou resultados satisfatórios, devido à dificuldade que esse método teve em mineralizar todo o material vegetal.

Métodos de digestão nitroperclórica com maiores proporções de ácido perclórico apresentou melhores resultados para Ca, Mg, K e P. Porém, para os micronutrientes Zn, Cu, Mn e Fe apresenta grande heterogeneidade. Enquanto que para os macronutrientes o método NP 4/1 obteve melhor desempenho.

Para a extração de B a mineralização via-úmida é ineficiente certamente em função de contaminações devido ao uso de vidraria borossilicatada.

## 8. REFERÊNCIAS

ALLEN, S. E., GRIMSHAW, H. M., PARKINSON, J. A., QUARMBY, C. **Chemical analysis of ecological materials**. Blackwell Scientific Publications, 1974.

BEAUFILS, E. R. **Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS): a general scheme of experimentation and calibration based on principles developed from research in plant nutrition**. University of Natal, Pietermaritzburg, South Africa, 1973. (Soil Science Bulletin, 1).

BERNARDI, A. C. C.; OKA, S. H.; SOUZA, G. B. **Comparação de técnicas analíticas de extração de potássio de amostras de tecido vegetal com água e soluções ácidas concentrada e diluída**. Eclética Química, v. 35, n.2, p. 45-49, 2010.

CARNEIRO, C; REISSMANN, C. B; MARQUES, R. **Comparação de métodos de análises químicas K, Ca, Mg e Al em folha de erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil)**. Revista Cerne, v. 12, n. 2, p. 113-122, 2006.

FERREIRA, A. K. C. **Avaliação de métodos de análises químicas de nutrientes em tecido vegetal**. 88f. Dissertação (Mestrado em Manejo de Solo e Água). Mossoró: UFERSA, 2014.

KENWORTHY, A. L. **Interpreting the balance of nutrient-elements in leaves of fruits trees**. In: REUTHER, W. Plant analysis and fertilizers problems. Washington: American Institute of Biological Science, 1961. p. 28-43.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A.. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997.

MARTIN-PREVEL, P.; GAGNARD, J.; GAUTIER, P. **L'analyse vegetable dans le controle de l'alimentation des plantes temperées et tropicales**. Paris: Technique e Documentation, 1984.

MCGRATH, S. P; CUNLIFFE, C. H. **Um método simplificado para a extração de metais Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co de solos e lamas de esgoto**. Journal of Food and Agriculture, v. 36, n. 9, p. 794-798, 1985.

MENEZES, M. S.; SILVA, A. C. R. A.; SANTOS, S. B. T.; ZAMORA, Valentin Rúben Orcon; BARRETO, Levy Paes. **Comparação entre metodologias para a determinação de Sódio e Potássio em tecido vegetal de alecrim e orégano**. Recife: UFRPe, 2017.

OFFICE ENVIROMENTAL HEALTH AND SAFETY. **Chemical safety manual**. 2001.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: Esalq, 1974.

SILVA, E. R.; OLIVEIRA NETO, W.; ORTIZ, F. R.; CASTRO, C. **Análise comparativa de métodos de extração de nutrientes de tecidos vegetais.** In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA. Londrina: Embrapa Soja, 2008.

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J.; FELISBERTO, R. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre: UFRGS, 1995.

NOVA, P. C. C. V. **Avaliação de método convencional e digestão úmida para determinação de níveis de Fe, Mn, Ni, Cu, Co, Mg, Zn, Ca, Mo e Se em amostras secas de tomates orgânicos (*Solanum lycopersicum* L.) por Absorção Atômica de Chama (FAAS).** Journal of Biotechnology and Biodiversity, v. 3, n. 4, p. 159-165, 2012.

ULRICH, A.; HILLS, F. J. **Principles and practices of plant analysis.** In: SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA. Soil testing and plant analysis. Madison. 1967. p. 11-24. (Special Publication, Series 2).

WADT, P. S. G. **Os métodos da chance matemática e do sistema integrado de diagnose e recomendação (DRIS) na avaliação nutricional de plantios de eucalipto.** Viçosa: UFV, 1996. 123p. (Tese - Doutorado).

ZASOUSK, R. J.; BURAU, R. G. **Um método de digestão rápida com ácido nítrico-perclórico para análise de multielementos em tecidos vegetais.** Communications in soil Science em Plant Analysis, v.8, n. 5, p. 425-436, 1977.