

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE NITRATO EM EXTRATOS DE SOLO SEM REDUÇÃO QUÍMICA¹

MARIO MIYAZAWA², MARCOS ANTONIO PAVAN³ e MARIA DE FÁTIMA M. BLOCK⁴

RESUMO - A concentração de NO_3^- em extratos de solos ácidos foi avaliada por um método espectrofotométrico, utilizando-se dois comprimentos de onda na região ultravioleta. O procedimento consistiu na determinação da absorbância a 210 nm sem redução química (NO_3^- + interferentes) e a um comprimento de onda superior (λ) no qual a absorção da luz ultravioleta pelo íon NO_3^- foi nula e a dos íons interferentes foi similar à determinada a 210 nm com redução química para NH_4^+ . Este método foi avaliado em extratos de vários solos ácidos e bem aerados da região agrícola do Paraná. Os resultados demonstraram que, uma vez determinado, o valor de λ pode ser utilizado repetidamente para uma mesma unidade de solo. Os teores de NO_3^- determinados pelo método sem redução química, com leituras diretas no espectrofotômetro em dois comprimentos de onda na região ultravioleta, foram idênticos aos determinados com redução química a 210 nm. A utilização de dois comprimentos de onda na região ultravioleta sem redução química foi sugerida como um procedimento adicional para avaliar os teores de NO_3^- em extratos de solo devido à rapidez, simplicidade e precisão.

Termos para indexação: ultravioleta, testes de solo, determinação N mineral.

SPECTROPHOTOMETRY DETERMINATION OF NITRATE IN SOIL EXTRACTS WITHOUT CHEMICAL REDUCTION

ABSTRACT - The use of two wavelenghts for assessing NO_3^- in acid soil extracts by ultraviolet spectrophotometry were evaluated. The procedure consisted in measuring the absorbance of the soil extract at 210 nm without chemical reduction (NO_3^- + interfering ions) and at a longer wavelenght (λ) where the ultraviolet light absorption due to NO_3^- is negligible and that due to interfering ions is similar to that measured at 210 nm, in which the NO_3^- had been chemically reduced to NH_4^+ . This technique was evaluated for a selection of acid and well aerated oxisols of Paraná (Brazil) agricultural region. The results showed that once " λ " value is determined for that soil it can be used repetitively for the same soil unit. The nitrate content in acid and well aerated oxisols were essentially identical for the chemical reduction at 210 nm and two-wavelength methods. The use of two-wavelength ultraviolet spectrophotometry without chemical reduction is suggested as an additional method for assessing NO_3^- in acid soil extracts because of its rapidity, simplicity and precision.

Index terms: ultraviolet, soil testing, mineral N measurement.

INTRODUÇÃO

A análise espectrofotométrica na região ultravioleta (UV) tem sido utilizada para determinar a concentração de nitrato em extratos de solo (Cawse 1967, Norman & Stucki 1981, Heinzmann et al. 1984), em planta (Heanes 1982) e em amostras de água (Armstrong 1963). De acordo com os resultados destes trabalhos, a absorção da luz ultravioleta pelo íon NO_3^- segue a lei de Lambert-Beer até a concentração de $3 \mu\text{g ml}^{-1}$ de $\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$, apresentando um pico máximo, aproximadamente,

a 203 nm e diminuindo gradativamente com o aumento no comprimento de onda, sendo praticamente nula a 235 nm.

Devido à absorção simultânea da luz ultravioleta por várias substâncias e íons, o NO_3^- tem sido determinado através de reações químicas utilizando-se amostras duplicadas, sendo que em uma delas o NO_3^- é reduzido a NH_4^+ e o teor do mesmo calculado pela diferença em absorbância entre as amostras. Para esta reação, vários agentes redutores têm sido recomendados: liga de cobre e zinco (Thresh 1913), $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ (Armstrong 1963), liga de níquel e alumínio (Norman & Stucki 1981) e zinco metálico (Heinzmann et al. 1984). Entretanto, esta reação química tem como principal desvantagem, além do próprio gasto adicional com reagentes, um período de tempo requerido para a completa redução do nitrato.

A determinação espectrofotométrica do NO_3^-

¹ Aceito para publicação em 18 de janeiro de 1985.

² Químico, Fundação Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), Caixa Postal 1331, CEP 86100 Londrina, PR.

³ Eng. - Agr., Ph.D., IAPAR.

⁴ Técnico em Química, IAPAR.

em dois comprimentos de onda na região ultravioleta, sendo que em um deles a absorção é devida ao NO_3^- e interferentes, e no outro, apenas aos interferentes, tem sido utilizada com sucesso em amostras de água (Hoather & Rackham 1959, Goldman & Jacobs 1961) e em extratos de tecidos de plantas (Heanes 1982). Em função das diferenças em intensidades de absorção das espécies interferentes em ambos os comprimentos de onda, os autores utilizaram fatores de correção obtidos pela razão entre a absorção das espécies "não-nitrato" nos dois comprimentos de onda para calcular a absorção devida ao nitrato presente na amostra.

Em função do menor custo, facilidade operacional e rapidez nas análises, há o interesse no aperfeiçoamento do método espectrofotométrico de absorção UV, sem tratamento químico, para determinar o NO_3^- em extrato de solo como rotina em laboratório. O principal objetivo do presente trabalho foi investigar a determinação rápida, sem perdas na precisão, do NO_3^- em extratos de solos ácidos e bem aerados, pelo método espectrofotométrico em dois comprimentos de onda na região ultravioleta, sem redução química.

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes

1. Solução extratora de CaCl_2 0,025N. Adicionar 1,838 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em balão volumétrico de 1.000 ml e completar o volume com água destilada.

2. Solução de ácido sulfúrico 0,8% (v/v). Adicionar cuidadosamente 8 ml de H_2SO_4 concentrado (98%) em um frasco de 1.000 ml e completar o volume com água destilada.

3. Zinco metálico granulado (20 mesh).

4. Solução de ácido sulfâmico 2%. Dissolver 2 g do ácido sulfâmico em 100 ml de água destilada e armazenar em refrigerador.

5. Solução estoque de NO_3^- . Dissolver 1,2928 g de KNO_3 PA em um frasco de 1.000 ml e completar o volume com água destilada. Esta solução contém $500 \mu\text{g ml}^{-1}$ de NO_3^- -N. A partir desta solução, preparar solução padrão de NO_3^- -N nas seguintes concentrações: 0,0; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; e $15,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, em solução de CaCl_2 0,025N.

Aparelhos

1. Espectrofotômetro de absorção Perkin-Elmer, Coleman 55, com cubeta de quartzo de sucção automática.

2. Agitador horizontal Edmund Bühler SM 25.

3. Centrifugador IEC, modelo K.

Extração

O método utilizado foi semelhante ao descrito por Heinzmann et al. (1984) com modificações na quantidade da amostra de solo e substituição da operação de filtração por centrifugação. No presente estudo, 4 g de solo úmido foram transferidos para tubos de centrífuga de polipropileno (50 ml) e adicionados 20 ml da solução extratora de CaCl_2 0,025N. A seguir, a solução foi agitada por 50 minutos a 220 rpm, centrifugada durante 10 minutos a 2.500 rpm e o sobrenadante transferido para tubos de ensaio de 30 ml. As modificações realizadas, além de manter a mesma precisão, proporcionaram maior facilidade operacional no laboratório e eliminaram os gastos com papel-de-filtro.

Determinação

1. **Determinação do NO_3^- com redução química** - O procedimento foi idêntico ao descrito por Heinzmann et al. (1984). No presente estudo, foram utilizadas amostras duplicadas contendo - em cada uma 5 ml do extrato de solo e 20 ml da solução de H_2SO_4 0,8%, sendo que em uma delas adicionou-se 0,5 g de Zn metálico granulado para a redução do NO_3^- a NH_4^+ . As leituras foram realizadas em um espectrofotômetro a 210 nm, sendo A_1 e A_2 absorbâncias dos extratos de solo sem e com redutor, respectivamente. Embora os solos agrícolas utilizados fossem ácidos e bem aerados, por precaução, foi adicionado o ácido sulfâmico em uma das amostras para eliminar os íons NO_2^- (Heinzmann et al. 1984). A absorção da amostra contendo ácido sulfâmico foi referida como A_3 . Foi construída uma curva padrão de NO_3^- -N, pipetando-se 5 ml da solução padrão em 20 ml de H_2SO_4 0,8%.

2. **Determinação do NO_3^- em dois comprimentos de onda sem redução química** - O procedimento consistiu na transferência de uma alíquota de 5 ml do extrato de solo para tubos de ensaio de 30 ml com adição de 20 ml de H_2SO_4 0,8%. As leituras foram realizadas em absorbância diretamente no espectrofotômetro. Como na presente determinação não há necessidade da redução química do NO_3^- a NH_4^+ pelo Zn^0 em um meio ácido, procurou-se avaliar a possibilidade da substituição do ácido sulfúrico pela água destilada.

As leituras foram realizadas em extratos de solos sem redução química em dois comprimentos de onda: uma a 210 nm a qual representa a absorção da luz ultravioleta pelo NO_3^- e interferentes (A_1) e outra no comprimento de onda " λ_1 ", previamente determinado para cada unidade de solo (i), no qual a absorção devida ao NO_3^- foi nula e a dos interferentes foi idêntica a 210 nm com redução química (A_2). Os valores de absorbância obtidos no comprimento de onda λ_1 foram referidos como A_4 .

Os valores de λ_1 foram determinados graficamente para cada unidade de solo através do seguinte procedimento:

- Determinou-se a absorbância A_1 e A_2 a 210 nm sem e com redução química, respectivamente.
- No mesmo extrato de solo utilizado para obter A_1

(sem redução), foram realizados as leituras em absorbância (A_n) de 230 a 270 nm, em intervalos de 5 nm.

- c) Determinou-se o coeficiente " χ_n " pela seguinte relação:

$$\chi_n = \frac{A_1 - A_2}{A_1 - A_n}$$

- d) Preparou-se um gráfico relacionando χ_n com λ_n para a obtenção do comprimento de onda λ_i , onde $\chi_i = 1,00$.

Uma vez determinado o comprimento de onda λ_i para cada unidade de solo, onde $\chi_i = 1,00$, o mesmo foi utilizado para a obtenção dos valores de absorbância A_i . Observa-se que a operação para redução química do NO_3^- foi realizada apenas uma vez, isto é, no início da série de determinações para obter A_2 .

Cálculos

$$\mu\text{g g}^{-1} \text{ de NO}_3^- \text{-N} = \frac{P_u}{P_s} \cdot \frac{V_{\text{ex.}}}{P_g} \cdot \frac{V_{\text{sol}}}{V_{\text{al}}} \cdot \frac{C}{A_c} (A_1 - A_i)$$

onde:

- P_u = peso úmido do solo;
- P_s = peso seco do solo a 105°C;
- V_{ex} = volume do extrator em ml;
- P_g = peso em gramas da amostra;
- V_{sol} = volume da solução;
- V_{al} = volume da alíquota;
- C = concentração de $\text{NO}_3^- \text{-N}$ da solução padrão em $\mu\text{g ml}^{-1}$;
- A_c = absorbância da solução padrão na concentração "C" a 210 nm;
- A_1 = absorbância da amostra a 210 nm sem redução química;
- A_i = absorbância da amostra a λ_i .

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1, são apresentados os solos utilizados nos testes de viabilidade, precisão e rapidez para determinação do NO_3^- por espectrofotometria, utilizando dois comprimentos de onda na região ultravioleta. Os solos foram coletados na região agrícola do Paraná e apresentam amplas variações quanto às características químicas e físicas.

As relações entre os valores de χ_i e λ_i para três dos solos estudados são apresentadas na Fig. 1. Para o melhor entendimento desta figura, não foram apresentados os dados referentes aos demais solos por refletirem as mesmas tendências e ocuparem posições intermediárias. Os resultados evidenciaram que os valores de λ_i para $\chi = 1,00$ obtidos graficamente e utilizados para determinar a absorbância A_i em razão das espécies interferentes, apresentaram variações entre 235 a 240 nm para todos os solos estudados.

Em geral, esta pequena variação entre os valores de λ_i , onde $\chi = 1,00$, indicou que seria aceitável para trabalhos de rotina em laboratórios a utilização de um único comprimento de onda na região ultravioleta, entre 235 a 240 nm, para obter A_i e usá-lo repetidamente para todos os solos estudados. Entretanto, para trabalhos de pesquisa onde se procura maior precisão e consistência de resultados, seria aconselhável a determinação inicialmente dos valores de λ_i para cada unidade de solo a ser utilizada no estudo, e após, utilizá-lo repeti-

TABELA 1. Solos utilizados para análise.

Números de solos	Local/unidade de solos	pH H ₂ O	Cátions trocáveis meq/100 g				C %	P $\mu\text{g/g}$	Argila %	Silte %	Areia %
			Al	Ca	Mg	K					
1	Maringá, TRe	6,4	0,00	12,40	3,33	1,04	3,10	8,5	44	25	31
2	Londrina, LRd	5,3	0,00	4,60	1,48	0,39	1,69	7,0	74	16	10
3	C. Mourão, LRd	4,8	1,73	3,85	0,94	0,09	1,84	2,3	44	20	36
4	N. Olímpia, PE	5,7	0,00	2,40	0,29	0,06	0,93	17,4	10	1	89
5	Floraf, LEed	5,1	0,30	1,45	0,45	0,11	1,05	8,6	18	1	81
6	Douradina, LEed	5,5	0,00	2,00	0,20	0,07	0,39	15,0	7	1	92
7	Palmas, Ca	4,8	1,67	4,60	1,56	0,32	3,33	3,8	67	20	13
8	P. Amazonas, Ca	5,1	0,95	4,17	1,64	0,22	1,94	46,0	39	7	54
9	Curitiba, LVa	5,2	1,78	1,87	0,82	0,50	2,54	1,7	59	19	22
10	Jaguapitã	5,0	0,26	0,60	0,20	0,05	0,42	6,0	11	1	88
11	Astorga, LEed	6,1	0,00	3,00	0,09	0,05	1,16	1,5	19	3	78
12	Cambará, LRd	5,1	0,10	6,10	1,14	0,46	1,51	16,5	65	17	18

damente para o mesmo solo ou grupos de solos idênticos.

Na Tabela 2, são apresentados os resultados da concentração de NO_3^- , nos solos determinados pelos métodos com redução química (Heinzmann et al. 1984) e sem redução, realizando as leituras em dois comprimentos de onda: 210 nm e λ_1 onde

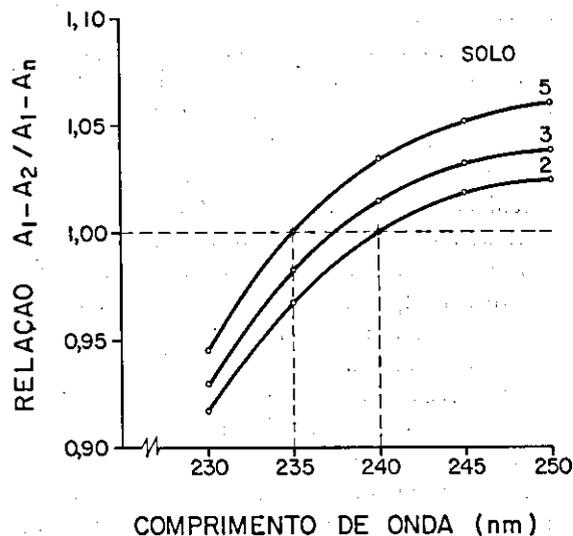


FIG. 1. Relação entre $\chi_n = A_1 \cdot A_2 / A_1 - A_0$ com o comprimento de onda λ_1 na região ultravioleta.

$\chi = 1,00$ para cada um dos solos estudados. Os resultados evidenciaram que os métodos apresentaram precisões similares. As comparações realizadas pelo teste "t" demonstraram que não houve diferenças significativas entre as médias das concentrações de NO_3^- nos solos determinados por ambos os métodos.

Os resultados referentes à adição do ácido sulfâmico para eliminar o NO_2^- dos extratos de solo e não causar interferências nas determinações de NO_3^- , são também apresentados na Tabela 2. Como seria esperado, o teor de NO_2^- nos solos ácidos e bem aerados pode ser desprezado nas determinações de NO_3^- . Resultados semelhantes foram anteriormente descritos por Norman & Stucki (1981) e Heinzmann et al. (1984).

Os resultados apresentados na Tabela 2 também demonstraram que o ácido sulfúrico pode ser substituído, sem perdas na precisão, pela água destilada no procedimento analítico do método sem redução química.

De acordo com os resultados obtidos, procurou-se testar o método proposto, sem redução química, para uma centena de solos que foram encaminhados, nos anos de 1983/84, por agricultores de várias regiões do Paraná, para análise química de rotina (pH, Al, Ca, Mg, K, P e MO) nos laboratórios da Fundação Instituto Agrônomo do Paraná

TABELA 2. Concentrações médias e desvios padrão de NO_3^- em extratos de solos determinados pelos métodos com redução química a 210 nm utilizando zinco metálico ou ácido sulfâmico, e em dois comprimentos de onda sem redução química com H_2SO_4 ou água destilada.

Números de solos	Concentração de NO_3^- ($\mu\text{g/g}$)			
	Com redução química a 210 nm (Zn^0)	Sem redução química H_2SO_4 0,8%	Sem redução química água destilada	Com redução química ácido sulfâmico
1	8,43 \pm 0,13	8,43 \pm 0,12	8,47 \pm 0,12	8,40 \pm 0,13
2	20,52 \pm 0,30	20,87 \pm 0,31	20,65 \pm 0,32	20,50 \pm 0,31
3	5,44 \pm 0,16	5,49 \pm 0,16	5,48 \pm 0,16	5,40 \pm 0,16
4	2,45 \pm 0,13	2,50 \pm 0,12	2,50 \pm 0,11	2,45 \pm 0,13
5	2,41 \pm 0,11	2,45 \pm 0,10	2,54 \pm 0,10	2,45 \pm 0,11
6	4,28 \pm 0,10	4,24 \pm 0,10	4,30 \pm 0,11	4,28 \pm 0,10
7	21,94 \pm 0,31	22,07 \pm 0,30	22,05 \pm 0,31	21,94 \pm 0,31
8	16,72 \pm 0,26	16,46 \pm 0,26	16,68 \pm 0,25	16,60 \pm 0,26
9	3,08 \pm 0,10	3,12 \pm 0,09	3,08 \pm 0,09	3,08 \pm 0,10
10	5,75 \pm 0,13	5,80 \pm 0,90	5,80 \pm 0,10	5,75 \pm 0,13
11	0,76 \pm 0,07	0,71 \pm 0,06	0,72 \pm 0,06	0,73 \pm 0,07
12	15,11 \pm 0,26	15,07 \pm 0,25	15,20 \pm 0,24	15,16 \pm 0,26

(IAPAR). Os teores de NO_3^- foram determinados pelos métodos espectrofotométricos de absorção UV com redução química a 210 nm, (Heinzmann et al. 1984) e sem redução (método proposto) a 210 nm e 239 nm. O comprimento de onda $\lambda = 239$ nm, onde $\chi = 1,00$ foi determinado inicialmente e utilizado repetidamente para todos os solos. Neste estudo, foi observada a substituição de H_2SO_4 pela água destilada. As equações de regressão linear para todas as amostras de solos com os teores de NO_3^- expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$, determinados com redução (X) e sem redução (Y), foram:

$Y = -0,109 + 1,01X$ ($R = 0,999^{**}$) para H_2SO_4 0,8%

$Y = + 0,022 + 1,00X$ ($R = 0,998^{**}$) para água destilada

Os resultados evidenciaram uma correlação positiva entre os dois métodos para determinação de NO_3^- em extratos de solos agrícolas bem aerados. O uso do ácido sulfúrico foi desnecessário no procedimento analítico pelo método sem redução química do NO_3^- .

CONCLUSÕES

1. Os resultados mostraram que as determinações de NO_3^- podem ser realizadas por espectrofotometria pela diferença na absorção da luz ultravioleta por extratos de solo a 210 nm, onde a absorção é devida ao NO_3^- e espécies interferentes, e em um maior comprimento de onda, onde a absorção devida ao NO_3^- é nula e a das espécies

“não nitrato” é idêntica à determinada a 210 nm com redução química.

2. Esta técnica mostrou ser simples, rápida, precisa e adequada, para avaliar os teores de NO_3^- em extratos de solos agrícolas ácidos e bem aerados do Paraná.

REFERÊNCIAS

- ARMSTRONG, F.A.J. Determination of nitrate in water by ultraviolet spectrophotometry. *Anal. Chem.*, 35:1292-94, 1963.
- CAWSE, P.A. The determination of nitrate in soil solutions by ultraviolet spectrophotometry. *Analyst*, 92: 311-5, 1967.
- GOLDMAN, E. & JACOBS, R. Determination of nitrates by ultraviolet absorption. *J. Am. Water Works Assoc.*, 53:187-91, 1961.
- HEANES, D.L. Determination of nitrate-N in plants by an improved extraction procedure adapted for ultraviolet spectrophotometry. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.*, 13:803-18, 1982.
- HEINZMANN, F.X.; MIYAZAWA, M. & PAVAN, M.A. Determinação de nitrato em extratos de solos ácidos por espectrofotometria de absorção ultravioleta. *R. bras. Ci. Solo*, 8(1): 159-63, 1984.
- HOATHER, R.C. & RACKHAM, R.F. Oxidised nitrogen in waters and sewage effluents observed by ultraviolet spectrophotometry. *Analyst*, 84:548-51, 1959.
- NORMAN, R.J. & STUCKI, J.W. The determination of nitrate and nitrite in soil extracts by ultraviolet spectrophotometry. *J. Soil Sci. Soc. Am.*, 45: 347-53, 1981.
- THRESH, J.C. The examination of water and water supplies. 2.ed. London, J. & A. Churchill, 1913. 112p.