

DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE COBRE E ZINCO, NA ANÁLISE FOLIAR. J. ROMANO GALLO e FERNANDO A. SOARES COELHO (1). Tanto o cobre como o zinco estão incluídos no grupo dos micronutrientes essenciais às plantas, sendo que a deficiência deste último elemento nas culturas de café, citros e milho tem sido constatada no Estado de São Paulo (2 3 4).

A determinação química desses elementos exige um método de sensibilidade capaz de revelar pequenas concentrações no tecido das folhas. Assim, para citar um exemplo, os níveis limiares de deficiências considerados no caso de folhas de cafeeiros são de 4 ppm de cobre e 10 ppm de zinco (2). Essa condição é obtida pela separação de cobre e zinco com ditizona em tetracloreto de carbono e determinação por polarografia, segundo método analítico usado no Laboratório de Análise Foliar, do Instituto Agrônomo.

O objetivo desta nota é apresentar uma marcha de análise usando separação com ditizona, seguido do emprêgo do reagente *zincon* para a determinação de cobre e zinco em tecido de folhas. O método pode ser adotado na análise foliar com o fim de diagnose.

Método de análise — Reagentes: água destilada desmineralizada; ácido clorídrico redestilado, aproximadamente M/5; hidróxido de sódio com baixo teor de carbonato, aproximadamente M/5; soluções-*buffer* pH 9,5 e 5,2, preparadas segundo Clarck (5); soluções-padrão de cobre e zinco, preparadas para conter 5 microgramas por mililitro dos respectivos íons, segundo técnica apresentada por Lott e outros (2); *zincon*, $4,5 \times 10^{-4}M$ — Dissolvem-se 0,0146 g de *zincon* (6) com 1 ml de NaOH M/5, num pequeno copo. Diluem-se com água a 50 ml em balão volumétrico aferido.

Além do equipamento usual de laboratório, necessário ao preparo da amostra, digestão e separação do cobre e zinco, de acordo com a

(1) Apresentada ao IX Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, realizado em Fortaleza, Ceará, de 15 a 23 de julho de 1963. Recebida para publicação em 12 de fevereiro de 1965.

(2) LOTT, W. L., McCLUNG, A. C., VITA, R. & GALLO, J. R. Levantamento de cafézais em São Paulo e Paraná pela análise foliar. São Paulo, IBEC Research Institute, 1961. 69p. (Bol. n.º 26).

(3) RODRIGUEZ, ODY & GALLO, J. R. Levantamento do estado nutricional de pomares cítricos de São Paulo pela análise foliar. *Bragantia* 20:[1183]-1202. 1961.

(4) IGUE, KOZEN & GALLO, J. R. Deficiência de zinco em milho no Estado de São Paulo. São Paulo, IBEC Research Institute, 1960 (Boletim n.º 20).

(5) CLARCK, W. M. The determination of hydrogen ions. 3rd ed., p.200. Baltimore, Md., Williams and Wilkins Co., 1928.

(6) La Motte Chemical Products Co., Towson, Baltimore, Md.

técnica e processos já descritos ⁽²⁾, foi usado um espectrofotômetro Beckman, modelo B, para as leituras colorimétricas.

O cobre e o zinco são separados com ditizona do extrato obtido por digestão de 1 g de material seco. Após destruição do extrator orgânico, dissolve-se o resíduo com 0,5 ml de HCl M/5. Adicionam-se 10 ml de água, 0,5 ml de NaOH M/5 e homogeniza-se por borbulhamento de ar. Pipetam-se duas alíquotas de 5 ml da solução para copos de 30 ml, uma para determinação de cobre, e outra, para zinco. Adicionam-se numa das alíquotas 4 ml do *buffer* pH 9,5 e à outra igual volume do *buffer* pH 5,2. Junta-se 1 ml da solução do reagente *zincon*, homogenizando cada uma das soluções, em seguida. Espera-se 15 a 30 minutos e procede-se a leitura das absorvências a 590 milimicrons, usando água destilada como referência.

As concentrações de cobre e zinco nas amostras são obtidas a partir das curvas de calibração. O valor lido na curva de calibração correspondente à absorvência da solução contendo *buffer* pH 5,2 dá diretamente o teor de cobre e a diferença entre os valores lidos para as absorvências dá o teor de zinco. Se a soma dos teores de cobre e zinco nas amostras for superior a 30 ppm, a separação é feita numa alíquota do digerido de plantas.

Resultados e discussão — O processo de separação com resina aniônica de troca, seguido do uso do reagente *zincon*, tem sido empregado por vários autores na determinação de zinco ou de cobre e zinco ^(7,8,9,10). A faixa útil de concentração geralmente apresentada nesses trabalhos tem variado entre 10 e 100 ppm na amostra. Rush e Yoe ⁽¹⁰⁾ descrevem o princípio do método de determinação colorimétrica com o reagente 2-carboxi-2'-hidroxi-5'-sulfoformazilbenzeno (*zincon*). O complexo de zinco formado com esse reagente é estável numa faixa de pH 8,5 a 9,5, enquanto que o complexo de cobre é estável, entre pH 5,0 e 9,5. Essa diferença permite a determinação de cobre e zinco, estando ambos presentes na mesma solução.

O método descrito oferece sensibilidade suficiente na análise foliar

(7) CHAPMAN, H. D. & PRATT, P. F. Zincon method for plant material. Methods of analysis for soils, plants and waters. University of California, Division of Agricultural Sciences. p. 197-200. 1961.

(8) JACKSON, R. K. & BROWN, J. G. The determination of zinc in plant material without the use of organic extractants. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 68:1-5. 1956.

(9) PRATT, P. F. & BRADFORD, G. R. Separation and determination of total copper and zinc in soils. Soil Science Society Proceedings. 22:399-402. 1958.

(10) RUSH, R. M. & YOE, J. H. Colorimetric determination of zinc and copper with 2-carboxy-2'-hidroxy-5'-sulfoformazilbenzeno. An. Chem. 26:1345-1347. 1954.

QUADRO 1. — Análises de soluções sintéticas de proporções variáveis de cobre e zinco

Número da amostra	Composição		Densidade óptica (¹)		Encontrado		Diferença	
	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu	Zn
	μg	μg			μg	μg		μg
1	0,0	10,0	0,050	0,195	0,0	10,0	—	—
2	5,0	10,0	0,125	0,260	5,0	10,0	—	—
3	7,5	10,0	0,160	0,300	7,5	10,4	—	+0,4
4	10,0	10,0	0,195	0,330	10,0	10,1	—	+0,1
5	15,0	10,0	0,265	0,400	15,0	10,3	—	+0,3
6	5,0	0,0	0,125	0,125	5,0	0,0	—	—
7	7,5	0,0	0,160	0,160	7,5	0,0	—	—
8	10,0	0,0	0,195	0,195	10,0	0,0	—	—

(¹) Leitura a 590 m μ .

Quadro 2. — Recuperação de cobre e zinco adicionados a amostras de folhas de plantas

Material	Adicionado (1)		Dosado		Cobre recuperado		Zinco recuperado	
	Cobre	Zinco	Cobre	Zinco	Quantidade	Porcentagem	Quantidade	Porcentagem
	μg	μg	μg	μg	μg		μg	
Fólias de milho	Nada	Nada	7,9	16,0	—	—	—	—
	5,0	10,0	12,7	26,4	4,8	96	10,4	104
Fólias de citros	Nada	Nada	6,3	14,8	—	—	—	—
	5,0	10,0	11,2	25,5	4,9	98	10,7	107

(1) Quantidades de Cu e Zn no digerido da planta.

para a diagnose das deficiências nutricionais com relação aos elementos mencionados, sendo adequado para as concentrações de 5 a 30 ppm dos elementos na fôlha. A côr é formada numa concentração do reagente de $4,5 \times 10^{-5}M$ e um comprimento de onda de 590 milimicrons foi selecionado de acôrdo com a separação obtida nos espectros de absorvência. A determinação de cobre e zinco por êsse processo, além de mais rápida, fornece resultados comparáveis aos obtidos na análise polarográfica.

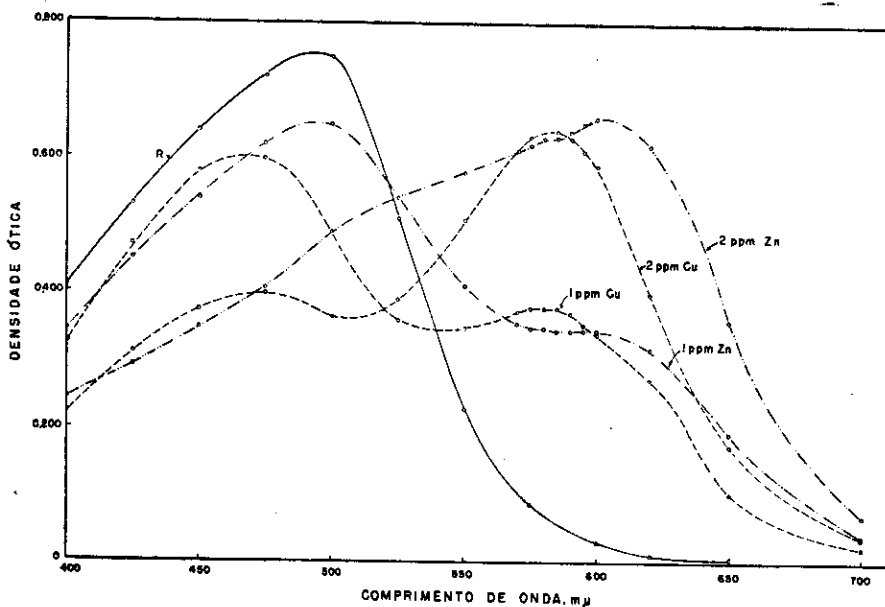


FIGURA 1. — Curvas de absorvência para soluções do reagente $4,5 \times 10^{-5}M$, e dos complexos de cobre (Cu) e zinco (Zn) nas concentrações de 1 e 2 ppm do elemento.

Concentração do reagente e curvas de absorvência — As densidades ópticas de soluções de Cu e Zn nas concentrações de 1 e 2 ppm foram lidas entre 400 e 700 milimicrons, variando a quantidade do reagente *zincon* adicionada. Maior separação entre as curvas de absorvência do reagente e as dos complexos de cobre e de zinco obteve-se para uma concentração do reagente de $4,5 \times 10^{-5}$ na solução, a 590 milimi-

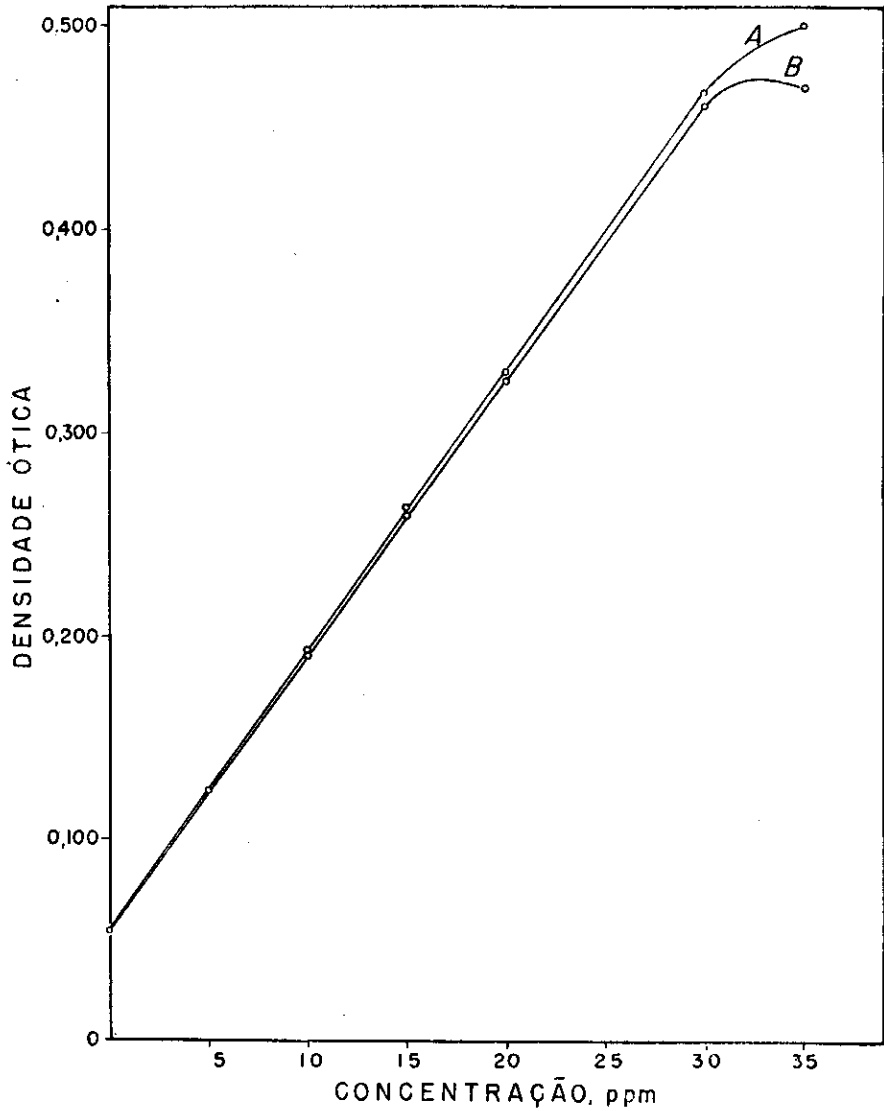


FIGURA 2. — Curvas-padrão para a determinação de cobre (A) e zinco (B), usando o reagente *Zincon*. Leituras efetuadas a 590 milímetros. A concentração do elemento é indicada na matéria seca das folhas.

QUADRO 3. — Precisão da determinação de cobre. Concentração de Cu, em partes por milhão sôbre matéria sêca, nas fôlhas

Material	Valores individuais			Médias	Limites de confiança 95% para uma determinação
Fôlhas de milho	7,7	8,4	8,3	7,9	7,5 — 8,3
	7,5	8,1	7,4		
Fôlhas de citros	6,5	5,8	6,4	6,3	6,0 — 6,6
	6,4	6,2	6,5		

QUADRO 4. — Precisão da determinação de zinco. Concentração de Zn, em partes por milhão sôbre matéria sêca, nas fôlhas

Material	Valores individuais			Médias	Limites de confiança 95% para uma determinação
Fôlhas de milho	16,1	16,6	15,5	16,0	15,6 — 16,4
	15,8	16,2	15,8		
Fôlhas de citros	14,4	15,1	14,8	14,8	14,4 — 15,2
	15,3	14,6	14,6		

cross (figura 1). Essa concentração permite sensibilidade satisfatória na dosagem de pequenas quantidades de cobre ou zinco.

Curvas de calibração — Para o traçado das curvas de calibração foram lidas, a 590 milimicros, as densidades ópticas de soluções contendo cobre e zinco separadamente nas concentrações de 0, 0,23, 0,46, 0,68, 0,91, 1,14, 1,36 e 1,59 ppm do íon. As concentrações mencionadas equivalem, respectivamente, a 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 ppm na amostra de fôlha, sôbre o material sêco. O fenômeno segue a lei de Beer para ambos os complexos até uma concentração de 1,36 ppm ou 30 ppm na amostra (figura 2).

Aplicação do método a misturas sintéticas — Os dados do quadro 1 representam as análises de oito misturas sintéticas de proporções variáveis de cobre e zinco, segundo o processo descrito.

Recuperação e precisão — A recuperação de cobre e zinco adicionados a amostras de fôlhas foi obtida a partir do digerido de plantas, de acôrdo com a marcha analítica descrita.

Os dados do quadro 2 permitem testar a aplicação do método na análise foliar.

Os dados dos quadros 3 e 4 fornecem indicação sôbre a precisão da análise. O coeficiente de variação médio calculado para uma determinação apresentou um valor de 4,1%. LABORATÓRIO DE ANÁLISE FOLIAR. INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

COLORIMETRIC DETERMINATION OF COPPER AND ZINC FOR LEAF ANALYSIS STUDIES

SUMMARY

An analytical procedure for the determination of small concentrations of copper and zinc by 2-carboxy-2'-hydroxy-5'-sulfoformazylbenzene (Zincon) method in leaf samples is described. Copper and zinc are measured colorimetrically after they are separated from other elements by extraction with dithizone from a solution prepared by wet digestion of one-gram sample of dry plant material with a mixture of HNO_3 — H_2SO_4 — HClO_4 .

The method as outlined here is sufficiently sensitive and accurate in the

analysis of leaves for diagnosis of nutritional deficiencies of these elements, being suitable for concentrations of 5 to 30 ppm in plant material. Color is formed at a reagent concentration of $4.5 \times 10^{-5}M$ and a wave length of $590 m\mu$ is used for analytical measurements.

Analyses by the spectrophotometric procedure reported are faster and the results compare with the polarographic method.