

Adequação Metodológica para Determinação do Fósforo Total em Macrófitas Aquáticas e Sedimentos

Fábio Marques Aprile

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA/CPBA, Av André Araújo, 2936, 60060-001, Manaus, AM, Brasil

Irineu Bianchini Jr

PPG, Ecologia e Rec. Naturais - Departamento de Hidrobiologia, UFSCar, São Carlos, SP, Brasil

RESUMO

Esse trabalho visa discutir algumas variações do método do "ácido ascórbico" no sentido de adequa-lo, para determinações de fósforo total, em amostras de: plantas aquáticas e sedimentos. Discute-se também alguns aspectos do emprego desta metodologia para amostras de água. A partir dos resultados obtidos verificou-se que a quantidade adequada de amostra para as determinações em macrófitas aquáticas foi de 100 mg (peso seco), independente da espécie. A relação apropriada entre quantidade de amostra de planta e extrator foi de 100 mg: 50 ml. No que se refere aos sedimentos, amostras a partir de 100 mg já se mostraram suficientes e a proporção de 1:100 (g:ml) com relação ao volume de extrator foi adequada. Esse método mostrou ser, ainda, bastante versátil pois possibilitou a quantificação de fósforo total a partir de 5 mg até 6 mg.l⁻¹.

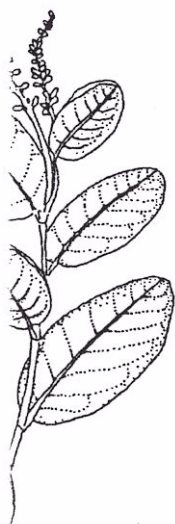
Palavras-chave: fósforo total, sedimento

ABSTRACT

Methodological adequations for total phosphorus determination in aquatic macrophytes and sediments.

In order to fit the ascorbic acid method for the aquatic macrophyte and sediments samples, in this study was discussed some procedures related with this total phosphorus determination method. It is also discussed some aspects related with this methodology to the water samples. The tests allowed to get the suitable quantities of the samples mass, the rates between the extractant and the samples, also, to verify the phosphorus concentration application range.

Keywords: total phosphorus, sediments



INTRODUÇÃO

Devido aos efeitos dos processos antrópicos de eutrofização dos recursos hídricos, dentre os diversos ciclos biogeoquímicos, o do fósforo tem sido um dos mais estudados, nos sistemas de águas continentais. Um grande número de dados sobre sua distribuição espacial e variação sazonal têm sido apresentados na literatura, para diversos lagos, rios e reservatórios.

O fósforo apresenta uma grande importância nos sistemas biológicos e desde há muito tempo já se discute sua participação como elemento determinante nos ambientes límnicos (por exemplo: JUDAY et al., 1927; OLHE, 1937). Sua importância deve-se ao fato de atuar em processos fundamentais do metabolismo dos seres vivos, uma vez que, é um dos constituintes de muitas proteínas, incluindo o ADN, ADP e ATP, que são fundamentais nos processos de transferências de energia e de estruturação da membrana celular (BAYLY e WILLIAMS, 1973).

Para os ecossistemas aquáticos, o fósforo é de fundamental importância na viabilização e manutenção das comunidades. Nesse sentido, o fosfato pode atuar como fator limitante sobre os processos de produção primária (WETZEL, 1975) e, também, como o principal responsável nos processos artificiais de eutrofização (EPA, 1985). Em particular nas plantas aquáticas seus teores tem sido registrados variando entre 0,78 a 4,2% do peso seco da biomassa (CAINES, 1965; FISH e WILL, 1966; BOYD, 1969; 1970a; 1970b), dependendo, principalmente, de seu estado fenológico.

O fosfato presente nos ecossistemas aquáticos continentais tem origem de fontes naturais e

artificiais. Dentre as fontes naturais citam-se a intemperização das rochas, a lixiviação dos solos e os processos de decomposição. As fontes artificiais mais importantes estão, basicamente, relacionadas as atividades antrópicas, isto é, aos despejos de efluentes domésticos e industriais, ao uso de fertilizantes agrícolas e ao material particulado atmosférico, de origem industrial (ESTEVES, 1988).

Todo o fósforo encontrado nas águas naturais, na forma de íon ou associado a compostos, encontra-se na forma de fosfato. O fosfato, por sua vez, apresenta-se de várias formas, (tais como: polifosfatos, ortofosfato e fosfatos residuais) sendo que, as nomenclaturas usualmente empregadas, variam de autor para autor.

OBJETIVOS

São separados os elementos de interesse que, posteriormente, serão quantificados. Desse modo, muitos são os fatores que podem alterar os resultados, tais como: tipo de extrator, tempo de contato, relação entre quantidade de extrator e de amostra, temperatura, etc. Nesse sentido esse trabalho consistiu em efetuar os seguintes testes:

1ª Variação das quantidades de amostras, previamente secas e moídas, de plantas aquáticas (de 0,02 a 1,5 g) e sedimentos (de 0,1 a 1,0 g) a serem submetidas ao processo de extração. No caso das amostras de água, a quantificação não foi precedida por processo de extração. O único cuidado, nesse caso, foi preservar as amostras congeladas até iniciar os procedimentos de quantificação, de acordo com o recomendado por GOLTERMAN e CLYMO (1971).

2ª Variação da quantidade de extrator durante a digestão das amostras de plantas (de 1 a 100 ml) e de sedimentos (de 0,1 a 50 ml).

3ª Variação da espécie de macrófita aquática (*Nymphoides indica*, *Pistia stratiotes*, *Azolla* ssp e *Eichhornia crassipes*).

4ª Variação dos intervalos de concentração na confecção das curvas padrões.

DESCRIÇÃO DO MÉTODO

O extrator empregado foi o MEHLICH, ou CAROLINA DO NORTE, constituído por: ácido clorídrico 0,05 N e ácido sulfúrico 0,025 N.

Para o processo de extração adicionou-se as amostras em recipiente de vidro com extrator e agitou-se a mistura por cinco minutos. Em seguida, a mistura foi deixada em repouso por 16 horas. Após esse período, retirou-se alíquotas de 5ml do sobrenadante e misturou-se a solução denominada "solução coquetel", na proporção de 1:1. Após 30 minutos, efetuou-se as estimativas dos teores de fósforo a partir das leituras em espectrofotômetro, em 725 nm. A curva padrão foi previamente traçada com KH_2PO_4 .

O preparo da "solução coquetel" foi efetuado da seguinte forma; em balão volumétrico de 1 litro adicionou-se 200 ml de solução 725, mais 2 g de ácido ascórbico e completou-se o volume com água destilada. Em seguida homogeneizou-se a solução.

A solução 725, assim denominada por ser o comprimento de onda utilizado no espectrofotômetro para leitura da amostra, foi feita

adicionando-se em um balão volumétrico de 1 litro, 1 g de subcarbonato de bismuto e 138 ml de ácido sulfúrico concentrado. Em um segundo frasco, dissolveu-se em água destilada, 20 g de molibdato de amônio. Adicionou-se então a solução de molibdato de amônio ao balão volumétrico, e completou-se o volume. Esta solução deve ser mantida em frasco escuro (BRAGA e DEFELIPO, 1974).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados apresentados, através da Tabela 1, verifica-se que as proporções adequadas entre as quantidades de amostra de macrófita aquática (*N. indica*) e os volumes de extrator variaram entre 1:100 e 1:1000 (g:ml), sendo que, parece haver tido um pequeno aumento de rendimento de extração a medida que se ampliou o volume de extrator.

Nesse sentido, verifica-se que a proporção de 0,1 g de amostra para 100 ml de extrator (1:1000) foi a razão através da qual obteve-se o maior valor de fósforo. Em seguida, observa-se que a proporção de 1:500 (0,1 g : 50 ml e 0,2 g : 100 ml) foi a mais eficiente (Tabela 1). No entanto, há que se considerar, a ordem de grandeza dessa eficiência, frente as demais proporções ensaiadas e ao próprio erro experimental do método.

Com relação as proporções da ordem de 1:10 e 1:20, verificou-se que os volumes de extrator foram insuficientes frente as quantidades de amostra de planta, uma vez que, tendia-se a formar uma mistura muito densa, de aspecto pastoso. Por outro lado, a partir de relações (entre massa e volume) da ordem 1:33 já foi possível realizar a extração de fósforo nas amostras de *N.*

indica (Tabela 1).

Independente da quantidade testada de extrator (15, 50 e 100 ml), através desses testes verificou-se, ainda, que as amostras com mais de 700 mg de planta (*N. indica*) continham um teor de fósforo maior que o permitido para uma leitura direta em espectrofotômetro, sem a necessidade de uma prévia diluição do extraído, antes da adição da solução "coquetel" (Tabela 1).

Os resultados apresentados através da Tabela 2 referem-se a amostras de sedimento coletado na Lagoa Dourada (22° 11' 33" S e 47° 55' 2" W). Essas determinações indicam que, no caso dos sedimentos, a proporção adequada entre massa de amostra e volume de extrator é da ordem de

1:100 (g:ml). A exemplo do usualmente verificado para amostras de solos (BRAGA, 1980).

Do mesmo modo que no caso das amostras de plantas aquáticas, no emprego de proporções de 1:1, entre massa de amostra de sedimento e volume de extrator, tendia-se a formar uma mistura com aspecto pastoso, inviabilizando, dessa maneira, um processo adequado de extração.

De modo geral, de acordo com os resultados apresentados através das Tabelas 1 e 2 determinou-se que para as amostras de macrófitas, dever-se-ia efetuar o procedimento de extração de fósforo na proporção de 1:500 (0,1 g : 50 ml), enquanto que para as amostras de

Massa (g)	VOLUME DE EXTRATOR (ml)							
	1,0	3,0	5,0	7,0	10,0	15,0	50,0	100,0
0,1	na	-	-	-	na	na	0,088	0,090
0,2	-	na	-	-	na	na	0,086	0,088
0,3	-	na	-	-	na	na	0,080	0,081
0,4	-	-	na	-	-	-	0,079	0,079
0,5	-	-	na	-	na	-	0,078	0,075
0,7	-	-	-	na	-	-	ld	ld
1,0	-	-	-	-	na	na	ld	ld
1,3	-	-	-	-	-	-	ld	ld
1,5	-	-	-	-	-	na	ld	ld

(-) proporção não testada;
(na) condição não adequada à extração devido a insuficiência de extrator
(ld) limite de detecção do método, sem diluições prévias

Tabela 1 - Variações de massa das amostras de *N. indica* e de volume de extrator. Resultados expressos em porcentagem de fósforo, g⁻¹ (PS).

Massa (g)	VOLUME DE EXTRATOR (ml)					
	0,1	0,3	0,5	1,0	10,0	50,0
0,1	na	na	na	2,00	2,38	-
0,3	-	na	na	na	2,30	-
0,5	-	-	na	na	2,32	-
1,0	-	-	-	na	2,31	2,35
1,5	-	-	-	-	-	2,09

(-) proporção não testada;
(na) condição não adequada à extração devido a insuficiência de extrator

Tabela 2 - Variação entre massa de amostras de sedimentos e dos volumes de extrator (mg de fósforo, g⁻¹ PS).

sedimento dever-se-ia contemplar a relação de 1:100 (0,1 g :10 ml). No que se refere a massa, esses testes indicaram que 100 mg foram suficientes para a quantificação de fósforo total nas amostras de plantas e de sedimentos. Sendo que para as de sedimentos, a quantidade de amostra a ser submetida a extração poderia ser incrementada até na proporção de 1:10 (g:ml), dependendo do seu teor de fósforo.

No que se refere as curvas padrões verifica-se, através das Figuras 1 e 2, que esse método colorimétrico se mostrou muito versátil e sensível as variações do teor de fósforo. Pois obteve-se respostas satisfatórias tanto para as variações de concentração da ordem de grandeza encontrada em amostras de água (de 5 a 500 mg/l), quanto

para amostras provenientes de extração de sedimentos e de plantas aquáticas (de 0,5 a 6,0 mg/l).

A sensibilidade e versatilidade podem ser, ainda, evidenciadas através dos altos coeficientes de correlação (r^2) obtidos quando se ajustou as medidas colorimétricas aos gradientes de concentração de fósforo (curvas padrões). Indicando que, no caso de amostras de plantas e de sedimentos, a partir da adequação da quantidade de massa ao volume de solução extratora, obtém-se significativa proporcionalidade entre absorbância e teor de fósforo total.

Através da Figura 3 verifica-se que, para *Pistia*

Tabela 3 - Teor de fósforo total em diferentes espécies de macrófitas aquáticas (peso seco).

ESPÉCIE	FÓSFORO (%)		Número de amostras
	Média	variação	
Nymphoides indica	0,15	0,07 - 0,20	16
Pistia stratiotes	0,10	0,07 - 0,13	27
Eichhornia crassipes	0,13	0,10 - 0,17	04
Azolla ssp	0,48	0,22 - 1,35	20

(sv) sem variação
(-) determinação não efetuada

Tabela 4 - Teor de fósforo total em diferentes estações da Represa do Monjolinho (mg.l⁻¹).

PONTO DE COLETA	24/04/91		13/05/91	
	Média	variação	Média	variação
1	34,0	24,2 - 43,8	63,4	sv
2	132,1	127,2 - 137,0	58,5	sv
3	51,2	48,7 - 53,6	78,1	73,2 - 83,0
4	48,7	34,0 - 63,4	31,2	29,1 - 34,0
5	-	-	144,4	141,9 - 146,8
6	-	-	9,5	sv

stratiotes e *Nymphoides indica*, foi possível submeter à digestão amostras com até 255 e 490 mg (em peso seco), respectivamente. Intervalo no qual obteve-se proporcionalidade direta entre absorvância e massa de amostra.

Entretanto, na comparação desses resultados com os apresentados através da Figura 2, verifica-se que os valores de absorvância

correspondentes aos teores de fósforo das amostras com 0,20 (*Pistia stratiotes*) e de 0,35 g (*Nymphoides indica*) ultrapassaram o limite superior da curva padrão (absorvância = 1,46). A análise desses resultados indica que para as amostras de plantas aquáticas (independente da espécie) deve-se utilizar massa com até 0,1 g (peso seco), no sentido de garantir, sempre, proporcionalidade entre o teor de fósforo e massa

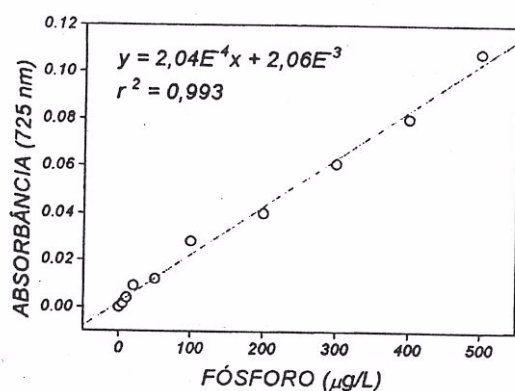


Figura 1 - Curva padrão para quantificação de fósforo total nas amostras de água ($y = 2,04 E^{-4} x + 2,06 E^{-3}$, $r^2 = 0,993$).

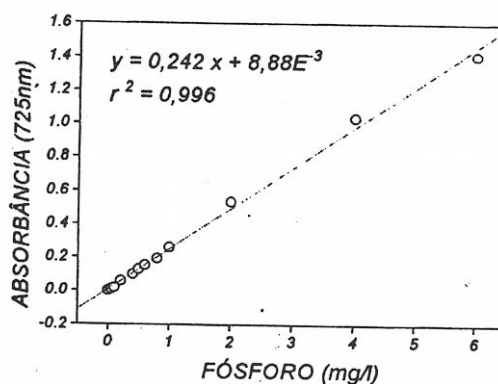


Figura 2 - Curva padrão utilizada para as amostras de sedimentos e de plantas aquáticas ($y = 0,242x + 8,88E^{-3}$, $r^2 = 0,996$).

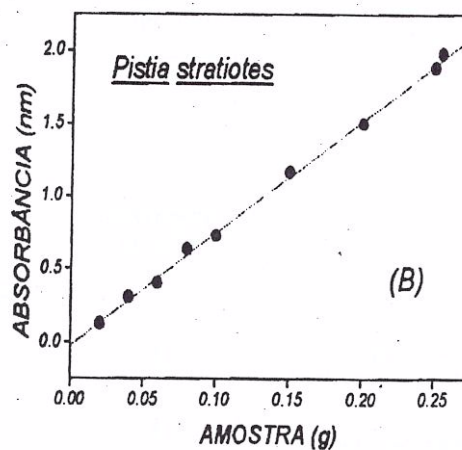
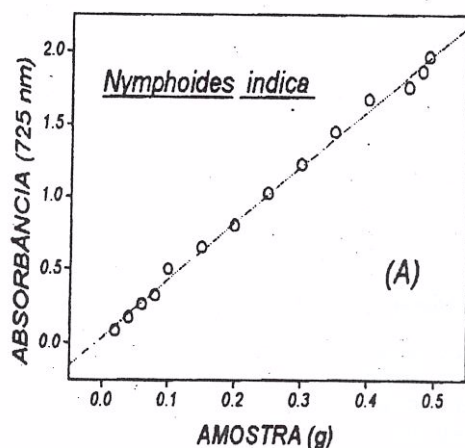


Figura 3 - Efeito da quantidade de amostra de plantas sobre a eficiência das determinações de fósforo total.

de amostra. De modo a se evitar a utilização do "fundo de escala" do espectrofotômetro.

A partir do estabelecimento das proporções adequadas entre massa de amostra de plantas e volume de extrator, assim como, da quantidade de amostra a ser submetida a extração, efetuou-se quantificações do teor de fósforo total em outras duas espécies de macrófitas, no sentido de validar as indicações decorrentes dos testes efetuados.

Nesse sentido, através da Tabela 3 verifica-se que as proporções indicadas comportaram a quantificação em amostras bastante distintas, no que se refere ao teor de fósforo. Assinala-se que as variações observadas em relação a média decorrem não só do erro experimental, mas, principalmente, por se tratar de amostras de uma mesma espécie de macrófita aquática, em diferentes condições ambientais e estádios fenológicos (plantas jovens, adultas e senescentes).

Em paralelo aos ensaios realizados com as amostras de plantas aquáticas e de sedimentos, realizou-se determinações de fósforo total em amostras de água. Para tanto, foram utilizadas amostras colhidas em diferentes pontos da Represa do Monjolinho, situada no interior do campus da UFSCar. Através da Tabela 4 apresentam-se os resultados obtidos.

Com base nos resultados das análises das amostras de água, comprova-se, novamente, a versatilidade desse método, assim como, sua sensibilidade no que se refere a amostra com baixos teores de fósforo. Quanto as variações observadas entre essas amostras, atribui-se que sejam, principalmente, decorrentes de fatores

limnológicos, tais como: variação temporal do aporte de fósforo, localização das fontes de aporte e a precipitação diferencial do ortofosfato, em função do potencial de oxiredução do ambiente.

Vale salientar, ainda, com relação a metodologia utilizada, alguns cuidados básicos para o êxito das determinações entre eles: uma limpeza adequada da vidraria (por exemplo: HCL – 10%), evitando o uso de detergentes que contenham polifosfatos e a utilização de réplicas. É indispensável, também, efetuar uma determinação em *Branco*, na qual, utilizam-se todos os reagentes menos a amostra.

CONCLUSÕES

Os testes desenvolvidos permitem recomendar o emprego de amostras com 100 mg para a determinação de fósforo total em amostras de macrófitas e sedimentos. Para o processo de extração de fósforo dos tecidos vegetais indica-se a proporção 1:500 (0,1 g : 50 ml) entre a massa de amostra e volume de extrator, enquanto que para as amostras de sedimento a relação de 1:100 (0,1 g : 10 ml) pode ser suficiente. Para os sedimentos, a quantidade de amostra a ser submetida à extração pode ser incrementada até a proporção de 1:10 (g:ml), dependendo do seu teor de fósforo. No que se refere ao método empregado de determinação de fósforo, ressalta-se sua versatilidade e sensibilidade, uma vez que, obteve-se respostas satisfatórias tanto para as variações de concentração da ordem de grandeza encontrada em amostras de água (de 5 a 500 mg/l), quanto para amostras provenientes de extração de sedimentos e de plantas aquáticas (de 0,5 a 6,0 mg/l).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos professores da área de Química Analítica, do Departamento de Química da UFSCar, e ao Departamento de Energia Nuclear da UFPE, pelo apoio dispensado durante a execução desse trabalho e, em particular, ao Prof. Dr. Adalberto P. P. Toledo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAYLY, I. A. E. & WILLIAMS, W. D. 1973. Inlandwaters and their Ecology. Australia: Longman. 316 p.
- BOYD, C.E. 1969. The nutritive value of thee species of water weeds. Econ. Bot., 23, p. 123-127.
- BOYD, C.E. 1970a. Chemical analyses of some vascular plants. Arch. Hydrobiol., 67, p. 78-85.
- BOYD, C.E. 1970b. Loose of mineral nutrients during decomposition of *Thypha latifolia*. Arch. Hydrobiol. 66, p. 511-517.
- BRAGA, J. M. 1980. Avaliação de Fertilidade do Solo (Análise Química) - 1ª parte. Viçosa: Depto. de Solos/UFV, 87p.
- BRAGA, J.M. & DEFELIPO, B.V. 1974. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. Ceres, v. 113, p. 73-85.
- CAINES, L.A. 1965. The phosphorous content of some aquatic macrophytes with special reference to seasonal fluctuations and applications of phosphate fertilizer. Hydrobiol., 25, p. 289-301.
- EPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL AGENCY. 1985. Rates, Constants and Knetics Formulation in Surface Water Quality Modeling. Athens: U.S. Government Printing Office. 455 p.
- ESTEVES, F. A. 1988. Fundamentos de Limnologia. Rio de Janeiro: Interciência. 575p.
- FISH, G.R. & WILL, G.M. 1966. Flutuations in the chemical composition of two lakeweeds from New Zealand. Weed Res., 6, p. 346-349.
- GOLTERMAN, H.L. & CLYMO, R.S 1971. Methods for Chemical Analysis of Fresh Waters. IBP Handbook Nº 8, 3ª ed.. London: Blacweell. 172p.
- JUDAY, C., BIRGE, E.A., KEMMERER, G.I., ROBINSON, R.J. 1927. Phosphorus content of lake waters of northeasthen Wisconsin. Trans. Wisconsin Acad. Sci., v. 23, p. 233-248.
- OHLE, W. 1937. Kolloidgele als Nährstoffregulatoren - der Gewässer. Die Naturwisse nschaft. v. 25, p. 471-474.
- WETZEL, R.G. 1975. Limnology. Philadelphia: Saunders. 743p.

