



ISBN 85-86764-08-6

Novembro, 2005

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Pecuária Sudeste
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos

Editores:

***Ana Rita de Araujo Nogueira
Gilberto Batista de Souza***

***São Carlos, SP
2005***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Pecuária Sudeste

Rod. Washington Luiz, km 234

Caixa Postal 339

Fone: (16) 3361-5611

Fax: (16) 3361-5754

Home page: www.cppse.embrapa.br

E-mail: sac@cppse.embrapa.br

Revisor de texto: Edison Beno Pott

Normalização bibliográfica: Sônia Borges de Alencar

Arte Gráfica (capa): Gerson Luiz Carbonero

Tiragem: 1000 exemplares

ÁREA DE INFORMAÇÃO - EDITORAÇÃO

Nogueira, Ana Rita de A.

Manual de Laboratório: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos / Ana Rita de Araújo Nogueira, Gilberto Batista de Souza.-- São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005.

334 p.: il.

ISBN: 85-86764-08-6

Conteúdo: Coleta, Acondicionamento, Preparo de Amostra, Análises Químicas

1. Solo - Água - Nutrição Vegetal - Nutrição Mineral - Nutrição Humana - Nutrição animal - Coleta - Acondicionamento - Amostragem. 2. Solo - Água - Nutrição Vegetal - Nutrição Animal - Metodologias. 3. Laboratório - Manual. I. Nogueira, A.R. de A. (Ed.). II. Batista, G. B. (Ed.).

CDD: 631.417202

APRESENTAÇÃO

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), com o objetivo de melhorar a qualidade e de uniformizar os procedimentos em seus laboratórios, apoia, desde 1995, reuniões anuais de técnicos de nível médio e superior e pesquisadores diretamente envolvidos em análises laboratoriais.

Para evitar insucessos no emprego de técnicas analíticas, há necessidade de maior controle de qualidade nos laboratórios. Esse fato tem suscitado o interesse de pesquisadores na participação em programas interlaboratoriais, visando estabelecer procedimentos a serem observados nas análises em todo o seu processo, desde a fase de amostragem no campo até às determinações analíticas no laboratório, e se for o caso, a introdução de novos métodos

Durante o I MET – “Workshop de Metodologias dos Laboratórios da Embrapa da região Sudeste”, que ocorreu de 6 a 8 de dezembro de 1995, ficou clara a necessidade de maior intercâmbio entre profissionais que trabalham em laboratórios, o que se refletiu no entusiasmo dos participantes e na demanda por manuais técnicos de uso comum.

Este documento começou a ser elaborado durante as reuniões realizadas a partir do II MET - “Workshop de Metodologias dos Laboratórios da Embrapa das regiões Sudeste e Centro-Oeste”, realizado entre 27 e 30 de agosto de 1996, na Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos, SP. Essa segunda reunião contou com a participação de profissionais da Embrapa das regiões Sudeste e Centro-Oeste e de outras instituições de pesquisa e ensino, e priorizou discussões sobre coleta, acondicionamento e preparo de amostras. Desde então, as reuniões adquiriram caráter nacional e têm ocorrido anualmente em diferentes unidades da Embrapa (Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG; Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ; Embrapa Florestas, Colombo, Pr; Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP e Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ).

A publicação deste material é um dos resultados das reuniões anuais e seguramente se refletirá no padrão de qualidade dos resultados de pesquisa da Empresa, além de constituir valioso subsídio para os profissionais que atuam em institutos de pesquisa e em universidades. Os primeiros cinco capítulos são uma reedição do manual “Coleta, acondicionamento e preparo de amostras”, publicado inicialmente em 1998. Nos capítulos seguintes, são apresentados os métodos atualmente empregados nos diferentes centros de pesquisa da Embrapa. A continuidade deste trabalho demonstrará mais uma vez a importância da colaboração entre os profissionais que enfrentam os mesmos problemas em seu dia a dia. Não há intenção de esgotar o assunto, mas sim de dar o primeiro passo, para, num só documento, reunir sugestões de procedimentos utilizados nos laboratórios que realizam análises de amostras de solos, água, plantas e materiais relacionados à nutrição animal. Algumas dessas sugestões são, sem dúvida, passíveis de alteração, em virtude do desenvolvimento e do aprimoramento das técnicas e dos equipamentos utilizados.

SUMÁRIO

I. COLETA, ACONDICIONAMENTO E PREPARO DE AMOSTRAS	1
CAPÍTULO 1 - SOLOS	3
1. INTRODUÇÃO	3
2. AMOSTRAGEM	4
2.1. CRITÉRIOS PARA A DIVISÃO DA ÁREA DE AMOSTRAGEM	4
2.2. NÚMERO DE AMOSTRAS SIMPLES OU SUBAMOSTRAS	5
2.3. PROFUNDIDADE DE COLETA DE SUBAMOSTRAS	6
2.4. COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA	9
2.5. MATERIAL PARA A AMOSTRAGEM	10
2.6. ÉPOCA DE AMOSTRAGEM	11
2.7. FREQUÊNCIA DE AMOSTRAGEM	11
2.8. RECOMENDAÇÕES GERAIS PARA A AMOSTRAGEM	12
3. ACONDICIONAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA	13
4. REGISTRO E PREPARO DA AMOSTRA	14
4.1. REGISTRO	14
4.2. SECAGEM	14
4.3. MOAGEM, PENEIRAGEM E ARMAZENAGEM	14
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO 2 - ÁGUA	19
1. INTRODUÇÃO	19
2. QUANDO, ONDE E COMO AMOSTRAR	20
3. ACONDICIONAMENTO DE AMOSTRAS: TIPOS E PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA	21
4. PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS	23
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO 3 - TECIDOS VEGETAIS	27
1. INTRODUÇÃO	27
2. AMOSTRAGEM	28
3. PROCEDIMENTO PARA COLETA DE AMOSTRAS DE FOLHAS NO CAMPO	33
3.1. COLETA DA AMOSTRA	33
3.2. IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA	34
3.3. MOAGEM	34
3.4. ARMAZENAGEM	34
3.5. INTEGRIDADE DA AMOSTRA	35
3.6. PROBLEMAS DE CONTAMINAÇÃO	35
3.7. ARQUIVO DE AMOSTRAS	36
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
CAPÍTULO 4 - TECIDOS E PRODUTOS ANIMAIS	37
1. INTRODUÇÃO	37
2. ASPECTOS IMPORTANTES RELACIONADOS À COLETA DE AMOSTRAS	38
3. OBJETIVO DA PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	39
4. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	39
4.1. RECEBIMENTO	39

4.2. IDENTIFICAÇÃO E REGISTRO	40
4.3. PRÉ-ACONDICIONAMENTO	40
4.4. PRÉ-SECAGEM	41
4.5. MOAGEM	43
4.6. ACONDICIONAMENTO	44
4.7. ETAPAS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS	45
5. PREPARO DE AMOSTRAS DE INGREDIENTES E SUPLEMENTOS MINERAIS	49
6. OUTROS TIPOS DE AMOSTRAS DE ORIGEM ANIMAL	49
6.1. OSSO	50
6.2. FÍGADO	51
6.3. SANGUE	52
6.4. LÍQUIDO DE RÚMEN	53
6.5. LÍQUIDOS DE ABOMASO E DE ÍLEO	54
6.6. URINA	55
6.7. EXTRUSA	55
6.8. LEITE	56
6.9. PÊLOS	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
CAPÍTULO 5 - ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO	59
1. INTRODUÇÃO	59
2. OBJETIVO	60
3. FUNDAMENTO	60
4. EQUIPAMENTOS	60
5. PROCEDIMENTOS	61
5.1. INSPEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA	61
5.2. SOLUBILIZAÇÃO DA AMOSTRA	61
5.3. PREPARO DA AMOSTRA	62
5.4. CONSERVAÇÃO DA AMOSTRA	63
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
II. MÉTODOS DE ANÁLISE	65
CAPÍTULO 6 - MÉTODOS DE ANÁLISE DE SOLO	67
1. INTRODUÇÃO	67
2. DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ DO SOLO	68
2.1. ACIDEZ ATIVA	68
2.2. ACIDEZ TROCÁVEL (ALUMÍNIO TROCÁVEL)	70
2.3. ACIDEZ POTENCIAL OU TOTAL COM A SOLUÇÃO DE ACETATO DE CÁLCIO	72
2.4. ACIDEZ POTENCIAL POR POTENCIOMETRIA EM SOLUÇÃO-TAMPÃO SMP (PH SMP)	74
3. CARBONO ORGÂNICO	75
3.1. PROCEDIMENTO EMPREGANDO DICROMATO	75
3.2. PROCEDIMENTO COLORIMÉTRICO	78
4. FÓSFORO "DISPONÍVEL" E POTÁSSIO TROCÁVEL	79
4.1. MÉTODO DE MEHLICH 1, CAROLINA DO NORTE OU DO DUPLO ÁCIDO	79
4.2. MÉTODO DA RESINA (RAIJ et al., 2001)	82

5. SÓDIO	87
6. CÁLCIO E MAGNÉSIO	89
6.1. EXTRAÇÃO COM KCL 1,0 MOL L ⁻¹	89
6.2. MÉTODO DA RESINA	92
7. BORO	95
7.1. EXTRAÇÃO COM ÁGUA QUENTE	95
7.2. EXTRAÇÃO COM ÁGUA QUENTE EMPREGANDO RADIAÇÃO MICROONDAS	96
8. ENXOFRE (S-SO ₄ ²⁻)	98
8.1. TURBIDIMETRIA	98
8.2. VARIAÇÃO DO MÉTODO DE DETERMINAÇÃO DE S-SO ₄ ²⁻	100
9. DETERMINAÇÃO DE COBRE, FERRO, MANGANÊS E ZINCO	102
9.1. EXTRAÇÃO COM DTPA	102
9.2. EXTRAÇÃO COM HCL A 0,1 MOL L ⁻¹	105
10. NITROGÊNIO TOTAL	107
10.1. MÉTODO KJELDAHL	107
10.2. INCLUSÃO DE NITRATO E NITRITO NA QUANTIFICAÇÃO DO NITROGÊNIO TOTAL	112
10.3. NITROGÊNIO MINERAL (NH ₄ ⁺ E NO ₃ ⁻)	113
11. CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	118
12. ANÁLISE FÍSICA	120
12.1. ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DO SOLO (MÉTODO DA PIPETA)	120
12.2. CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA DO SOLO	125
12.3. DENSIDADE DO SOLO	127
13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128
CAPÍTULO 7 - ÁGUA	131
1. INTRODUÇÃO	131
2. PH	132
2.1. PRINCÍPIO	132
2.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	132
2.3. REAGENTES E SOLUÇÕES	132
2.4. PROCEDIMENTO	132
3. CÁLCIO E MAGNÉSIO	133
3.1. PRINCÍPIO	133
3.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	133
3.3. REAGENTES E SOLUÇÕES	133
3.4. PROCEDIMENTO	134
4. SÓDIO E POTÁSSIO	134
4.1. PRINCÍPIO	134
4.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	134
4.3. REAGENTES E SOLUÇÕES	135
4.4. PROCEDIMENTO	135
5. ALCALINIDADE TOTAL	136
5.1. PRINCÍPIO	136
5.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	136
5.3. REAGENTES E SOLUÇÕES	136
5.4. PROCEDIMENTO	136

6. CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	138
6.1. PRINCÍPIO	138
6.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	138
6.3. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	138
6.4. PROCEDIMENTO	138
7. OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD)	139
7.1. PRINCÍPIO	139
7.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	139
7.3. REAGENTES E SOLUÇÕES	139
7.4. PROCEDIMENTO	140
8. DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO (DQO)	142
8.1. PRINCÍPIO	142
8.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	142
8.3. REAGENTES E SOLUÇÕES	142
8.4. PROCEDIMENTO	143
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	143
CAPÍTULO 8 - TECIDO VEGETAL	145
1. INTRODUÇÃO	145
2. DECOMPOSIÇÃO E SOLUBILIZAÇÃO	146
2.1 INTRODUÇÃO	146
2.2. DECOMPOSIÇÃO POR VIA SECA	147
2.3. DECOMPOSIÇÃO POR VIA ÚMIDA	150
2.4. EXTRAÇÃO COM SOLUÇÃO DE ÁCIDOS DILUÍDOS (1,0 MOL L ⁻¹ DE HCL OU HNO ₃)	159
3. DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS.....	161
3.1. NITROGÊNIO.....	161
3.2. FÓSFORO.....	171
3.3. SÓDIO E POTÁSSIO.....	174
3.4. CÁLCIO E MAGNÉSIO	176
3.5. ENXOFRE	181
3.6. COBRE, ZINCO, FERRO E MANGANÊS	182
3.7. REGRAS BÁSICAS PARA MANUTENÇÃO DE ROTINA EM ESPECTRÔMETROS DE ABSORÇÃO ATÔMICA.....	183
3.8. BORO.....	189
4. SISTEMA POLIVALENTE PARA DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM ANÁLISE DE PLANTAS.....	193
4.1. PRINCÍPIO	193
4.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	194
4.3. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	194
4.4. PROCEDIMENTO	196
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	198
CAPÍTULO 9 - ANÁLISE DE ALIMENTOS	201
1. INTRODUÇÃO	201
2. DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA SECA.....	202
2.1. PROCEDIMENTO CONVENCIONAL	202
2.2. DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA SECA E UMIDADE EM PLANTAS EMPREGANDO RADIAÇÃO MICROONDAS	205

3. DETERMINAÇÃO DE CINZAS	208
3.1. APLICAÇÃO.....	208
3.2. PRINCÍPIO	208
3.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	208
3.4. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	209
3.5. PROCEDIMENTO	209
4. ENERGIA BRUTA	210
4.1. PROCEDIMENTO CONVENCIONAL	210
4.2. APLICAÇÃO PARA BOMBA CALORIMÉTRICA PARR® (MANUAL DE OPERAÇÕES)	213
5. DETERMINAÇÃO DE EXTRATO ETÉREO	217
5.1. APLICAÇÃO.....	217
5.2. PRINCÍPIO	217
5.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	217
5.4. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	217
5.5. PROCEDIMENTO	218
6. DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE UREÁTICA	220
6.1. PROCEDIMENTO CONVENCIONAL.....	220
6.2. TÉCNICA SIMPLIFICADA PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE UREÁTICA (AU).....	222
7. DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS.....	223
7.1. MÉTODO DE OXIDAÇÃO COM ÁCIDO PERFÓRMICO SEGUIDA DE HIDRÓLISE ÁCIDA - MÉTODO A.....	223
8. DETERMINAÇÃO DE OXALATOS TOTAIS E OXALATOS SOLÚVEIS EM ÁGUA EM AMOSTRAS DE PLANTAS	232
8.1. APLICAÇÃO.....	232
8.2. PRINCÍPIO	232
8.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	232
8.4. REAGENTES E SOLUÇÕES	233
8.5. PROCEDIMENTO	234
9. CARBOIDRATOS.....	235
9.1. INTRODUÇÃO	235
9.2. DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES.....	236
9.3. DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES TOTAIS.....	240
10. DIGESTIBILIDADE	244
10.1. DETERMINAÇÃO DE DIGESTIBILIDADE COM PEPSINA MÉTODO A	244
10.2. DETERMINAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE "IN VITRO" DA MATÉRIA SECA E DA MATÉRIA ORGÂNICA	248
11. FIBRAS.....	254
11.1. DETERMINAÇÃO DE FIBRA DIETÉTICA TOTAL - MÉTODO A	254
11.2. DETERMINAÇÃO DE FIBRA BRUTA - MÉTODO B.....	260
11.3. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PLANTAS FORRAGEIRAS – MÉTODOS DE VAN SOEST	265
12. DETERMINAÇÃO DE CELULOSE	277
12.1. APLICAÇÃO.....	277
12.2. PRINCÍPIO	277

12.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	277
12.4. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	278
12.5. PROCEDIMENTO	278
13. DETERMINAÇÃO DE LIGNINA	279
13.1. MÉTODO DO PERMANGANATO DE POTÁSSIO	279
13.2. DETERMINAÇÃO DA LIGNINA E DA CELULOSE: MÉTODO DO ÁCIDO SULFÚRICO A 72% (V/V)	282
14. DETERMINAÇÃO DA SÍLICA	285
14.1. APLICAÇÃO.....	285
14.2. PRINCÍPIO	285
14.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	285
14.4. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	286
14.5. PROCEDIMENTO	286
15. DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO	287
15.1. DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL PELO MÉTODO DE KJELDAHL	287
15.2. PROTEÍNA BRUTA	291
15.3. DETERMINAÇÃO DE NITRATO EM TECIDO VEGETAL.....	292
15.4. DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO AMONIACAL (N-NH ₃).....	295
15.5. DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO INSOLÚVEL EM DETERGENTE NEUTRO (NIDN).....	300
15.6. DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO INSOLÚVEL EM DETERGENTE ÁCIDO (NIDA)	301
16. DETERMINAÇÃO DE MACROELEMENTOS (Ca, Mg, K, Na, S) EM PLANTAS POR DIGESTÃO NITRO-PERCLÓRICA.....	303
16.1. APLICAÇÃO.....	303
16.2. PRINCÍPIO	303
16.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	303
16.4. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	304
16.5. PROCEDIMENTO	305
17. DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO (P-PO ₄ ²⁻) EM PLANTAS.....	308
17.1. MÉTODO DE GOMORY - DIGESTÃO NITRO-PERCLÓRICA.....	308
17.2. MÉTODO DO VANADATO - DIGESTÃO NITRO-PERCLÓRICA	312
17.3. DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DE FÓSFORO EM SOLUÇÃO DE ÁCIDO CÍTRICO A 2%	316
18. DETERMINAÇÃO DE GRANULOMETRIA.....	320
18.1. APLICAÇÃO	320
18.2. PRINCÍPIO	320
18.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	320
18.4. PROCEDIMENTO	320
19. DETERMINAÇÃO DE AMIDO	324
19.1. APLICAÇÃO.....	324
19.2. PRINCÍPIO	324
19.3. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	324
19.4. REAGENTES E SOLUÇÕES.....	324
19.5. PROCEDIMENTO	325
20. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	327

CAPÍTULO 1 - SOLOS

Amoacy Carvalho Fabrício¹
Ana Cândida Primavesi²
César de Rosso³
Celso João Alves Ferreira⁴
Hélio Teixeira Prates⁵
Marcos Roberto Ferraz⁶
Maria José Aguirre Armelin⁷
Mário Miyazawa⁸
Odo Primavesi²
Paule Jeanne Mendes⁹
Pedro L. O. de A. Machado¹⁰, coordenador
Vera Lúcia Ferracini³

1. INTRODUÇÃO

Considerando as atividades passíveis de uniformização nas diferentes situações de uso e de manejo do solo, decidiu-se sugerir procedimentos de coleta e de preparo de amostras para utilização em determinações de rotina. Exceção se faz para o caso da determinação de nitrato. Não estão incluídas as orientações para amostras utilizadas em investigações científicas cujos métodos encontram-se ainda em fase de estudos.

Qualquer tipo de análise de solo tem por objetivo determinar quantitativamente características químicas, físicas ou biológicas, que representam os reais valores da respectiva característica dentro de uma faixa de dispersão confiável e estatisticamente fundamentada. A condição para isto é que o procedimento analítico, juntamente com os preparativos pertinentes, não contenha erros sistemáticos (também entendidos como declinações) ou até erros graves (p. ex., segregantes não considerados).

Mesmo que essas condições sejam atendidas, o dado analítico encontrado somente representará o valor real se o material ou o substrato utilizado para a análise for representativo do todo ao qual ele pertence.

¹Embrapa Agropecuária Oeste; ²Embrapa Pecuária Sudeste; ³Embrapa Meio Ambiente; ⁴Embrapa Soja; ⁵Embrapa Milho e Sorgo; ⁶Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP, Pirassununga, SP; ⁷Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN; ⁸Instituto Agrônomo do Paraná, IAPAR; ⁹Embrapa Pantanal; ¹⁰Embrapa Solos.