

DETERMINAÇÃO ESTEOTROFOTOMÉTRICA DE FÓSFORO EM EXTRATOS DE SOLO E MATERIAL VEGETAL*

José Mário Braga
Braz Vítor Defelipo**

1. INTRODUÇÃO

A determinação analítica do fósforo por espectrofotometria baseia-se na formação do complexo fosfo-molibdico, em meio ácido, e a redução subsequente deste complexo, dando origem ao que, normalmente, se conhece como azul de molibdênio.

Segundo Boltz e Mellon, citados por LUCENA CONDE e PRATT (10), o complexo fosfo-molibdico é da mesma composição estequiométrica do arsênio, silício e germânio. Em consequência, a cor azul do molibdato, $\text{Mo}_2\text{O}_5 \times \text{MoO}_3$, oriundo da redução de qualquer destes complexos, tem sempre a mesma característica.

O desenvolvimento da cor azul pode verificar-se tanto a quente como a frio (9, 10, 18), com ou sem adição de agente catalítico (11, 16), em diferentes teores de acidez do meio (9, 12) e com diferentes tipos de redutores (5, 13, 18).

O desenvolvimento da cor azul a quente tem sido substituído pelo desenvolvimento a frio (9, 11). Tal substituição representa economia de tempo e reduz os erros experimentais. Entretanto, para que o desenvolvimento da cor se verifique a frio, é necessário ter acidez tal que permita a estabilidade e a presença de Mo (VI) e Mo (V), condição para haver formação da cor azul, e o uso de agente catalizador para acelerar a redução do complexo fosfo-molibdico (7, 9).

A acidez do meio, permitindo a formação do complexo, implica também que o complexo fique estável por um período suficientemente longo (9, 10).

Tem sido testada a concentração de H_2SO_4 de 0,3 até 1,5 N por diversos pesquisadores (5, 9, 12, 15, 18, 19).

São utilizados diversos agentes catalizadores, tais como o antimônio (12, 13) e o bismuto (15, 19).

A acidez do meio é fator importante para a velocidade da reação de redução, visto que para cada agente catalizador há uma faixa de acidez ótima. RAMOS (15) cita que, usando H_2SO_4

* Parcialmente subvencionado pelo Conselho Nacional de Pesquisas.

Aceito para publicação em: 26-10-1973.

** Respectivamente, Professor Adjunto e Assistente da Universidade Federal de Viçosa.

na faixa de 0,4 a 0,6 N, há aumento apreciável da intensidade da coloração quando é usado sulfato ferroso como redutor e bismuto como catalizador.

A possibilidade de redução apenas do complexo de molibdênio formado indica que a dose de molibdato a ser usada deverá ser mínima, embora em ligeiro excesso. PROSKURYAKOVA e SITNIKOVA (14) adotaram como concentração de molibdato a menor quantidade que deu maior estabilidade à cor, desde que as demais condições permanecessem constantes.

Há uma lista bastante grande de reagentes usados como redutores, tais como: sulfato ferroso (15), hidroquinona (5), metol (14), metilamino-fenol sulfato (12), cloreto estanhoso, vitamina C (5, 15, 18) e mistura destes reagentes (7, 12).

FELKAI (7) comparou diversos redutores, tendo concluído que a mistura de cloreto estanhoso e vitamina C, ambos a 1%, mostrou-se superior ao sulfito de sódio a 10% misturado com hidroquinona a 10%. NIELSEN (12) comparou metol e vitamina C, tendo obtido valor do coeficiente de correlação altamente significativo e um coeficiente de regressão, entre os dois reagentes, de 1,017. JOHN (9), RAMOS (15), CROUCH e MALMSTADT (5) têm recomendado o uso da vitamina C.

Sendo azul a cor do complexo, as leituras têm de ser efetuadas com luz de comprimento de onda complementar à luz azul. Os trabalhos realizados têm relatado diferentes comprimentos de onda (9, 10, 11, 15, 17, 18, 19).

O presente trabalho tem como finalidade testar o comprimento de onda mais adequado, concentrações de molibdato de amônio, de carbonato de bismuto, e acidez da solução para a determinação de fósforo em extratos de solo e planta.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Escolha do Comprimento de Onda

Primeiramente, foi desenvolvida a cor do complexo fosfo-molibdico, usando-se a técnica de VETTORI (18). Obtida a cor, fez-se o levantamento do espectro de absorção, tendo sido tomados os cuidados para troca de fototubo do 'Spectronic 20', aparelho usado nestas determinações, quando o comprimento de onda era superior a 660 nm.

Foi escolhida como melhor comprimento de onda a que forneceu o maior valor de densidade ótica (7).

2.2. Escolha de Concentração de Reagentes

Para estudo das concentrações de ácido sulfúrico, subcarbonato de bismuto e molibdato de amônio foi empregada uma solução de fósforo, contendo ora 1 ora 0,2 mcg de P/ml. As concentrações estudadas foram:

1) Ácido sulfúrico: concentração variando de 0,3 a 1,0 N com intervalos de 0,1 N.

2) Subcarbonato de bismuto: nas concentrações de 10, 20 e 40 mg/50 ml.

3) Molibdato de amônio nas concentrações de 100, 200 e 400 mg/50 ml.

Foram feitas diversas combinações entre as concentrações

dos reagentes em testes sucessivos, com duas repetições e foram selecionadas as melhores concentrações. As leituras foram feitas em intervalos de 5, 10, 30, 60, 180, 360 e 1440 minutos, após adicionados todos os reagentes em balão volumétrico de 50 ml. Assim, as concentrações foram baseadas neste volume.

A seleção foi baseada nos seguintes critérios:

1º Critério: foram eliminadas as concentrações que, após trinta minutos e até 1.440 minutos não mantiveram constância nas leituras de transmitância, quando a concentração de fósforo foi de 0,2 mcg/ml.

2º Critério: foram eliminadas as concentrações que não mantiveram constantes as leituras dentro de 5 a 1.440 minutos, quando a concentração de fósforo foi de 0,2 mcg de P/ml.

3º Critério: foram eliminados os testes com leituras não constantes na concentração de fósforo de 1 mcg de P/ml.

4º Critério: foi escolhida a menor concentração de cada reagente e, para a vitamina C, escolheu-se a concentração, tendo sido usadas as de 0,01 - 0,02 - 0,04 e 0,08 g/50 ml, que resultou ser mais efetiva para redução do complexo fosfo-molibdico e eliminação da interferência do ferro trivalente.

2.3. Aplicação do Método

Feita a escolha do comprimento de onda e da concentração dos reagentes, testou-se o método em relação à reprodutibilidade e recuperação em extratos de solo e planta.

Os solos estudados foram de amostras compostas de um Latossolo Vermelho Escuro, textura média, e de um Podzólico Vermelho Amarelo; o vegetal usado foi o cafeeiro, do qual se retiraram o oitavo par de folhas e os frutos do mesmo ramo.

O fósforo dos solos estudados foi obtido em diversas formas: as frações inorgânicas seguindo o método de CHANG e JACKSON (2), com modificações feitas por CHANG *et alii* (3) e JOHN (9); fósforo "disponível", usando os extratores de BRAY 1 (8) e de Mehlich (18); fósforo total, usando digestão com ácido sulfúrico d = 1,47 (18).

A solução mineral do material vegetal foi obtida por digestão seca.

Para estudos de correlação, tomaram-se dez amostras de solos diferentes e após a extração do fósforo "disponível", usando o extrator de Mehlich, determinou-se, no extrato, o fósforo usando os seguintes métodos: de RAMOS (15); de VETTORI (18); de JOHN (9); pela redução com cloreto estanhoso (8); pela mistura ácida de vanadato e molibdato de amônio (9); e o método proposto neste trabalho.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Comprimento de Onda

A relação entre os comprimentos de onda estudados e os valores de densidade ótica permitiram construir a figura 1.

De acordo com essa figura, o comprimento de onda complementar à cor azul do complexo fosfo-molibdico foi de 725 nm, valor este que ocasionou o máximo de absorvência, independente da concentração de fósforo na solução.

Este valor coincide com o obtido por LUECH e BOLTZ (11),

porém, não foi o mesmo encontrado por outros pesquisadores (9, 10, 15, 17, 18, 19).

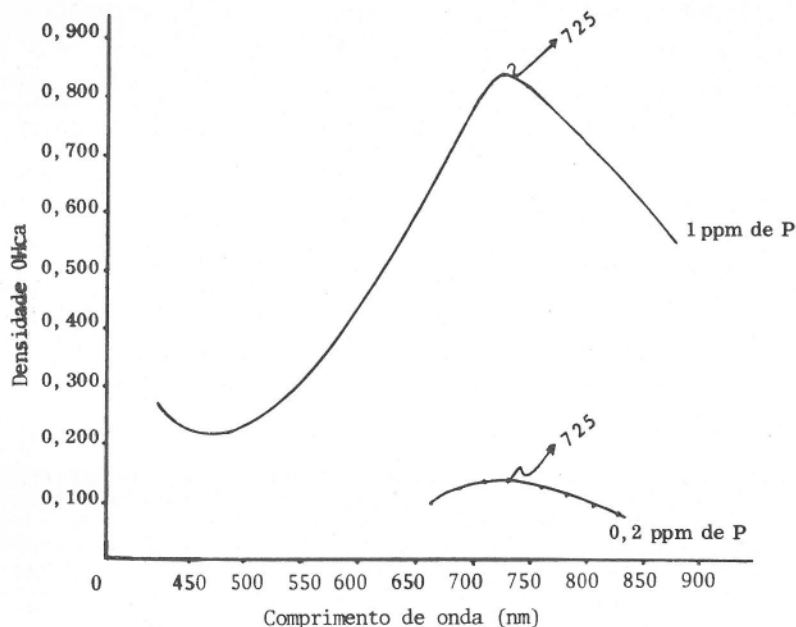


FIGURA 1 - Relação entre absorvância e valores de comprimento de onda.

3.2. Concentração dos Reagentes

Os dados de transmitância, variando a concentração dos reagentes, estão contidos no quadro 1. Ao examiná-lo, percebe-se que os valores de transmitância de 75-77% e de 25%, quando as concentrações de fósforo são, respectivamente, de 0,2 e de 1 ppm de fósforo, apresentam-se em maior número de vezes.

A acidez afeta o valor de transmitância em relação ao tempo de contato, permitindo que: (a) o subcarbonato de bismuto possa ter ação catalítica e (b) o complexo fosfo-molibdico se mantenha estável.

Quando não há condições ótimas de acidez, o complexo fosfo-molibdico torna-se instável e, em consequência, ocasiona um escurecimento da solução. Nestes casos, houve redução do complexo formado com o molibdato em excesso. A figura 2 mostra o efeito da acidez na transmitância quando se adicionaram 5 mg de subcarbonato de bismuto e 100 g de molibdato de amônio. Em outras concentrações, também foi verificada a instabilidade do valor de transmitância.

O subcarbonato de bismuto tem ação catalítica, quando a acidez do meio é de 0,3 a 0,5 N em H_2SO_4 (15). No quadro 2, pode-se verificar o comportamento do bismuto pela maior velocidade com que se verificou a redução do complexo. Houve

QUADRO 1 - Valores de transmitância (%) das soluções, onde houve variação da concentração dos reagentes e tempo de leitura*

H ₂ SO ₄	Concentração			Tempo leitura após adição de reagentes (minutos)						
	Subcarbo-	Molibdi-	Fósforo	5	10	30	60	180	360	1440
	nato de bismuto mg/50ml	dato de amônio mg/50ml	ppm							
0,3	5	100	0,2			73	70	67	66	65
		200				16	1	0	0	0
		400				0	0	0	0	0
	10	100				25	8	6	7	8
		200				0	0	0	0	0
		400				0	0	0	0	0
0,4	5	100				65	60	47	47	47
		200				70	63	54	53	50
		400				12	0	0	0	0
	10	100				69	66	57	50	50
		200				38	16	4	1	1
		400				0	0	0	0	0
0,5	5	100	0,2	75	76	76	75	76	75	75
			1,0	25	26	25	25	25	25	25
		200	0,2			69	74	72	73	70
		400	0,2			58	44	28	21	10
	10	100	0,2	75	75	76	75	74	75	75
			1,0	26	25	26	25	25	26	25
	10	200	0,2			41	32	10	6	6
	10	400	0,2			27	1	0	0	0
	5	100	0,2			91	79	76	70	70
		200	0,2			66	61	44	40	42
	5	400	0,2			16	1	0	0	0
0,6	10	100	0,2	76	75	75	75	75	75	75
			1,0	26	26	27	25	26	25	25
	10	200	0,2			64	66	59	58	60
		400				52	30	10	5	1
0,6	20	100	0,2	75	75	75	75	75	75	75
			1,0	25	25	21	20	16	18	15
	20	200				64	58	46	45	46
	20	400				0	0	0	0	0
0,7	5	100				99	95	89	88	75
		200				75	71	69	64	61
		400				20	10	0	0	0
		100				91	81	76	75	74
		200				72	68	63	65	65
		400				71	68	62	62	62
	10	100	0,2	75	75	76	75	75	75	75
			1,0	26	26	25	26	26	26	25
		200				67	68	62	62	60
		400				49	33	11	3	3
		100				99	99	98	95	92
		200				88	81	75	75	75
0,8	10	100				42	5	0	0	0
		200				99	92	95	88	76
		400				75	71	72	71	69
		100				50	13	2	0	0
		200				75	75	75	76	75
		400				75	75	75	75	75
	20	100	0,2	76	75	26	25	26	25	25
			1,0	25	26	26	26	26	25	25
		200	0,2	75	76	76	76	75	75	75
			1,0	25	26	25	25	26	24	25
		400				76	26	10	10	10
		100				97	95	96	97	97
0,9	5	100				92	92	92	87	88
		200				55	48	39	30	34
		400				97	96	97	99	96
		100				85	85	83	76	72
		200				66	50	44	35	34
		400				67	56	53	52	60
	10	100	0,2	75	75	75	75	76	75	75
			1,0	25	25	26	25	26	25	25
		200				33	1	0	0	0
		400				84	72	75	72	75
		100				77	76	75	75	75
		200				53	52	54	51	50
1,0	5	100				92	86	86	77	76
		200				73	73	72	73	70
		400				67	64	68	66	65
		100				75	74	75	75	74
		200				55	27	21	16	15
		400				0	0	0	0	0
	10	100		90	88					
		200								
		400								
		100								
		200								
		400								

* A concentração de vitamina C foi constante em todas as determinações.

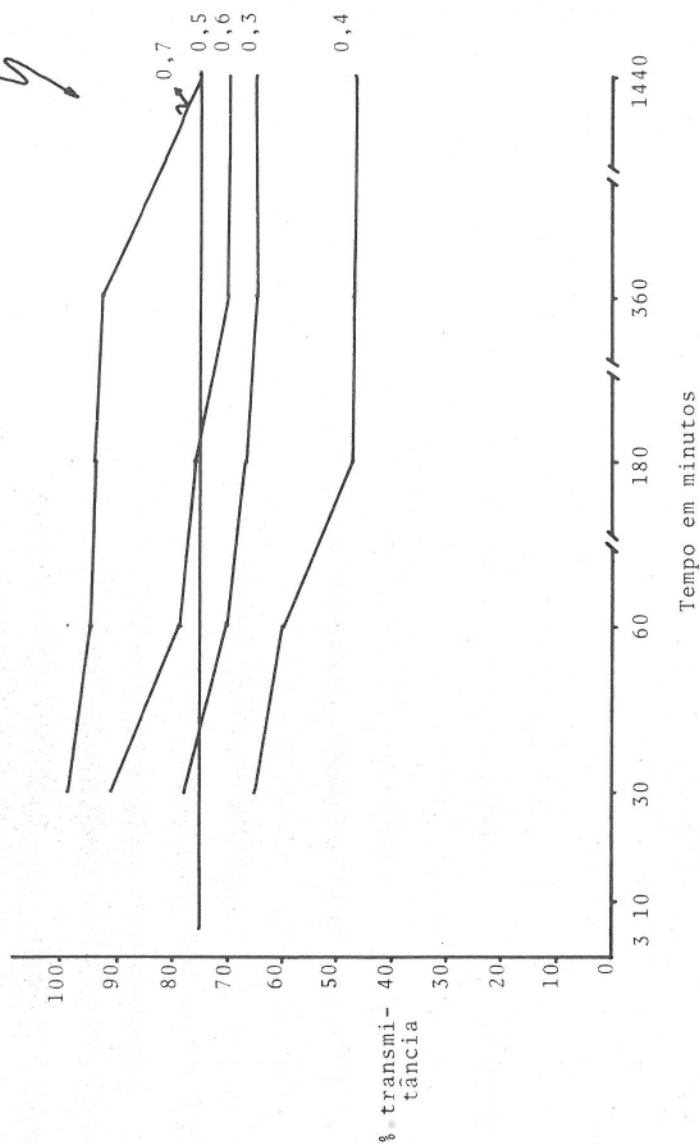


FIGURA 2 - Variação da transmitância em períodos de tempo (minuto) em função da normacidade do ácido.

apressamento na formação da cor azul, quando a concentração de subcarbonato de bismuto foi de 10 e de 20 mg e o papel catalizador do bismuto foi verificado na faixa de acidez de 0,5 a 0,8 N, em H_2SO_4 , com dependência da concentração de molibdato de amônio.

O molibdato deve ser adicionado em quantidade suficiente para assegurar a formação do complexo fosfo-molíbídico. No quadro 2, a concentração de 400 mg de molibdato de amônio é excessiva, pois houve leituras de transmitância muito baixas, sugerindo a redução do molibdato em excesso. Quando a concentração era de 200 mg, houve desenvolvimento da cor na acidez de 0,8 a 0,9 N, mas na concentração de 100 mg de molibdato de amônio o complexo foi reduzido, estando a acidez na faixa de 0,5 a 1,0 N.

Conforme os critérios estabelecidos, as menores concentrações dos reagentes foram: acidez de 0,5 N; concentração de 100 mg de molibdato de amônio e 5 mg de subcarbonato de bismuto em balão de 50 mililitros.

A acidez escolhida não coincide com a recomendada por RAMOS (15) e por VETTORI (18), porém, está bem próxima à recomendada por JOHN (9). O mesmo acontece com a concentração de molibdato de amônio. O teor de bismuto é inferior ao recomendado por diversos autores (16, 19).

RAMOS (15) utiliza a concentração de 200 mg de molibdato de amônio e H_2SO_4 0,9 N. Observando o quadro 2, com os valores usados por RAMOS (15), obtiveram-se também leituras estáveis de transmitância. Entretanto, não foram obtidas as mesmas concentrações dos reagentes recomendadas por VETTORI (18), quando se observam os valores de transmitância.

As leituras de transmitância permaneceram constantes desde cinco minutos até 24 horas, pelo menos após aplicados os reagentes. Este tempo coincide com o recomendado por JOHN (10) e é mais amplo do que recomenda VETTORI (18).

3.3. O Método

A solução sulfo-molíbídica, contendo subcarbonato de bismuto, molibdato de amônio e ácido sulfúrico, segundo as concentrações testadas, foi preparada da seguinte maneira: em um balão volumétrico de 100 ml adicionaram-se 100 mg de subcarbonato de bismuto, 20 ml de água e, com agitação, 13,8 ml de ácido sulfúrico concentrado. O calor desenvolvido com a adição do ácido é suficiente para dissolver o subcarbonato de bismuto. Depois que o balão esfriou, adicionou-se, lentamente, e com agitação, solução aquosa contendo 2 g de molibdato de amônio. Em seguida, completou-se o volume do balão com água.

Para a formação do complexo fosfo-molíbídico, tomaram-se 5 ml da solução sulfomolíbídica, que foi colocada no balão volumétrico de 50 ml contendo o extrato de solo ou material vegetal.

3.4. Interferência de Ferro III e Fluoreto

A eliminação de ferro III foi estudada com soluções que contêm ferro III em doses variadas. Percebe-se, pelo quadro 3, que na concentração de 0,01 g/50 ml de ácido ascórbico há diminuição da interferência de ferro III.

QUADRO 2 - Valores de transmitância (%), quando o nível de fósforo é de 0,2 ppm e após 30 minutos da adição dos reagentes

Concentração		Normalidade do ácido sulfúrico (N)							
		0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
Subcar- Molib- bonato dato bismuto amônio									
mg/50ml mg/50ml									
5	100	73	65	76(75)	91	99	99	97	84
10	100	25	69	76(75)	75(76)	91	99	97	92
20	100	-	-	-	75(75)	76(75)	75(76)	67	75(86)
5	200	16	70	69	66	75	88	92	77(90)
10	200	0	38	41	64	72	75	85	73
20	200	-	-	-	64	67	76(75)	75(76)	55
5	400	0	12	58	16	20	42	55	53
10	400	0	0	27	52	71	50	66	67
20	400	-	-	-	0	49	76	33	0

Obs: Os números entre parênteses referem-se à leitura após cinco minutos.

Não se nota a interferência de fluoreto de amônio, quando há adição de ácido bórico 0,8 M. O quadro 4 mostra que a adição de 5 ml de reagente proposto (item 3.3.) é suficiente para estes casos.

QUADRO 3 - Efeito do ácido ascórbico na eliminação da interferência de ferro III

Fósforo	Ferro adicio- cionado	Quantidade de ácido ascórbico (g/ 50 ml)			
ppm	ppm	0,01	0,02	0,04	0,08
Transmitância (%)					
0	0	100	100	100	100
0,2	0	77	77	77	77
0,2	500	96	76	77	76
0,2	1000	98	97	91	76
0,2	2000	100	98	98	97

QUADRO 4 - Efeito de adição de ácido bórico e fluoreto de amônio no valor de transmitância

Fósforo ppm	Ácido bórico 0,8 M	Fluoreto amônio 0,5 N	Transmitância (%)
0,2	0	0	77
0,2	15	0	69
0,2	15	5	77
0,2	15	10	73
0,2	15	25	72

3.5. Aplicação do Método

O método modificado foi aplicado em diversas situações para se estudar a possibilidade de seu uso na determinação de fósforo em solução.

Em primeiro lugar, verificou-se a amplitude de concentração de fósforo, que obedeceria à lei de Beer-Lambert. Para isto, houve variação de concentração de fósforo de 0,05 a 1,0 ppm e feita a análise de regressão encontrou-se coeficiente de determinação de 99,9%.

Usando-se o método no estudo da interferência de ácido bórico

rico e fluoreto de amônio, obtiveram-se os dados que estão no quadro 4, que mostram a viabilidade do uso do método pois não houve interferência.

O método foi usado nas determinações de fósforo dos extratos provenientes de material vegetal como também de extratos de solo, com diversos extratores. A eficiência do método foi testada pela taxa de recuperação. O quadro 5 informa sobre a precisão do método. A recuperação dos teores de fósforo adicionados é da ordem de 96 a 105%.

Também estudou-se a correlação do método modificado com os métodos de cloreto estanhoso em meio sulfúrico (Método I de JACKSON (8) e o método de vanadato, tendo sido encontrados valores de r de 0,938 e 0,739, significativos a 1%, sugerindo a possibilidade de ser o método substituído dos dois estudados.

A correlação do método modificado e o proposto por JOHN (10) foi de 0,990, sendo que o valor do coeficiente de regressão entre os dois métodos foi de 0,99. Quando se correlacionou com o método de RAMOS (16), o valor de r foi de 0,987, com um coeficiente de regressão de 1,054.

QUADRO 5 - Taxa de recuperação do fósforo adicionado em extratos de vegetal e solo

Material	Fósforo no extrato		Obtido	Fósforo recuperado (%)
	Existente	Adicionado		
Vegetal				
1 <i>Fruto do cafeeiro</i>	0,301	0,200	0,501	100
2 <i>Folha do cafeeiro</i>	0,208	0,200	0,420	105
Solo				
1 <i>Total</i>	0,262	0,200	0,460	99
2 <i>Disponível:</i>				
Bray 1	0,190	0,200	0,385	97
Mehlich	0,190	0,200	0,385	97
H ₂ SO ₄				
0,05 N	0,182	0,200	0,381	99
3 <i>Frações:</i>				
P-Al	0,081	0,200	0,282	100
P-Ca	0,239	0,200	0,445	101
P-Red.	0,197	0,200	0,323	99

4. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo indicar a melhor concentração de ácido sulfúrico, de molibdato de amônio, subcarbonato de bismuto, ácido ascórbico e comprimento de onda para a determinação de fósforo em extratos de solo e planta.

Para tanto, utilizaram-se as seguintes concentrações: ácido sulfúrico 0,3 a 1,0 N; subcarbonato de bismuto, 0,1-0,2-0,4; molibdato de amônio, 2,4 e 8 mg/ml; vitamina C 0,4-0,8-1,6 mg/ml. O comprimento de onda variou de 325 a 975 nm, com intervalos de 25 nm. Usou-se o espectrofotômetro "Spectronic 20" (Bausch & Lomb).

Durante o trabalho, deu-se ênfase à velocidade no desenvolvimento e na estabilidade da cor azul do complexo fosfo-molibdico. Assim, os valores considerados ótimos, neste trabalho, foram: comprimento de onda de 725 nm; concentração de ácido sulfúrico de 0,5 N; 0,1 mg de subcarbonato de bismuto por ml; 2 mg de molibdato de amônio por ml; e 0,8 mg de vitamina C por ml.

O método foi testado para se verificar a taxa de recuperação de doses conhecidas de fósforo adicionados a extratos de solo e vegetal, tendo sido encontradas taxas de recuperação da ordem de 96 a 105%. Em estudos de correlação com outros métodos, encontraram-se valores altamente significativos. O método permitiu leituras após cinco minutos, e até 24 horas, após adicionados os reagentes.

5. SUMMARY

The objectives of this study was three fold; first, to determine the best concentration of ammonium molybdate, bismuth subcarbonate and ascorbic acid, second, to determine the desirable acidity of these solutions, and third, to determine the appropriate wavelength to use in the colorimetric determination of phosphorus in soil and plant extracts.

The data obtained permitted the following conclusions:

1. The ideal concentration for ammonium molybdate, bismuth subcarbonate and ascorbic acid are 2,0.1 and 0,8 mg/ml respectively.

2. A 0,5 N sulfuric acid solution gives the best desirable acidity.

3. The appropriate wavelength for the colorimetric determination of phosphorus is 725 nm.

6. LITERATURA CITADA

1. BRAY, R.H. & KURTZ, L.T. Determination of total, organic and available of phosphorus in soils. *Soil Sci.*, Baltimore, 59: 39-45. 1945.
2. CHANG, S.C. & JACKSON, M.L. Fractionation of soil phosphorus. *Soil Sci.*, Baltimore, 84: 134-144. 1957.
3. CHANG, S.C., CHU, W.K. & ERH, K.T. Determination of reductant-soluble phosphate in soils. *Soil Sci.*, Baltimore, 102: 44-45. 1966.

4. CING, N.S. Extration method for colorimetric determination of phosphorus in microgram quantities. *Anal Chem.*, Washington, 28: 1330-1333. 1956.
5. CROUCH, S.R. & MALMSTADT, H.V. A mechanistic investigation of molybdenum blue method for determination of phosphate. *Anal Chem.*, Washington, 39: 1084-1089. 1967.
6. DUVAL, L. Determination of phosphorus in soils, plants and fertilizers by means of the molybdenum blue method. *Ann. Agron.*, Paris, 13: 469-482. 1962 (*Soil and Fertilizers* 26 (2): 632. 1963).
7. FELKAI, B. The utility of different reducing agents in the determination of P in soil extracts. *Agro Ken Talajt.* 17: 215-224, 1968 (*Soil and Fertilizers* 32 (1): 121. 1969).
8. JACKSON, M.L. *Soil chemical analysis*. Prentice Hall, N. Jersey, 1968. 498 p.
9. JOHN, M.K. Colorimetric determination of phosphorus in soil and plant materials with ascorbic acid. *Soil Sci.*, Baltimore, 109: 214-220, 1970.
10. LUCENA CONDE, F. & PRATT, L. Nuevo reactivo para la determinación colorimetrica del fosforo en suelos 1. Propriedade generales. *An Edaf. Fis. Veg.*, Madrid, 16: 1-18. 1957.
11. LUECK, C.H. & BOLTZ, E.F. Spectrophotometric study of modified heteropoly blue methods for phosphorus. *Anal. Chem.*, Washington, 28: 1168.1171. 1956.
12. NIELSEN, J.D. Ascorbic acid compared with metol for the reduction of phosphorus molybdic acid in the determination of phosphate in soils. *Tisdsskr Plave.* 72: 166-169, 1968 (*Soil and Fertilizers* 32 (1): 123. 1969).
13. OMAN WAR, P.K. & ROBERTSON, J.A. Modification of the acid method for determining phosphorus in dilute solution. *Can. J. Soil Sci.*, 49: 259-261, 1969.
14. PROSKURYAKOVA, G.F. & SITNIKOVA, G.A. Colorimetric determination of phosphorus. *Trudy Sverdbosvsk. Selkhoz. Inst.* 11: 503-508. 1964. (*Soil and Fertilizers* 29 (1): 107. 1966).
15. RAMOS, B.M. *Determinação colorimétrica do fósforo em solos pelo método de redução com ácido ascórbico a frio*. Rio de Janeiro, Inst. Química Agrícola, 1961. 31 p. (Bol.nº 61).
16. REID, P.H. & COPELANO, C. Analytical methods used by the Soil Testing Division, North Caroline Department of Agriculture, Raleigh, 1969. 19 p.

17. ULRICH, B., HEMPLER, K. & BENZLER, J.H. The analytical determination of total and lactate soluble phosphorus in soil samples. *Phosphorsaure*, 20: 344-347, 1960 (*Soil and Fertilizers* 24 (3): 1247, 1961).
18. VETTORI, L. *Métodos de análise de solos*. Rio de Janeiro, Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo, 1961. 24 p. (Bol. Técnico nº 7).
19. WATANABE, F.S. & OLSEN, S.R. Test of an ascorbic method for determine phosphorus in water and NaHCO_3 extracts form soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, Madison, 29: 677-678. 1965.