

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FÓSFORO EM PRODUTOS CÁRNEOS I. MÉTODO PARA DOSAGEM DO FÓSFORO *

Celso Augusto Fessel GRANER **
Dirceu Rodrigues MEIRA ***
Pasqual MUCCILO ***

RIAL-A/418

GRANER, C.A.F.; MEIRA, D.R. & MUCCILO, P. — Determinação do teor de fósforo em produtos cárneos. I. Método para dosagem do fósforo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 55-62, 1975/76.

RESUMO: Foram estudadas diversas variáveis operacionais de método do ácido fosfovanadomolibdico de determinação do fósforo, a fim de se montar um procedimento analítico simples, rápido, preciso e exato para dosagem do referido elemento em produtos cárneos. Os dados obtidos foram comparados com os provenientes do método oficial do Instituto Adolfo Lutz, mostrando-se estatisticamente não diferentes, e caracterizando o procedimento proposto como adequado ao levantamento a ser feito.

DESCRITORES: produtos de carne, determinação de fósforo; fósforo, determinação em produtos de carne; ácido fosfovanadomolibdico na determinação de fósforo em produtos de carne.

INTRODUÇÃO

A legislação brasileira de aditivos químicos em alimentos admite um máximo de 0,5% de polifosfatos em produtos cárneos (BRASIL⁵). Entretanto, além de o termo "polifosfato" não caracterizar adequadamente a forma sob a qual a concentração de fósforo deva ser expressa, a legislação ainda deixa margem a dúvidas no que diz respeito a esse teor referir-se a peso seco ou úmido do material em questão.

Dosagens preliminares revelaram a possibilidade de fósforo, expresso como P, vir a estar ocorrendo em teor superior a 0,5% no peso seco de alguns produtos cárneos adquiridos no mercado. Em termos de P_2O_5 ou de PO_4^{3-} , tal excesso em relação ao máximo legalmente permitido se evidenciaria mais ainda, caracterizando a necessidade de um levantamento sistemático da concentração de fósforo em tais produtos.

* Trabalho realizado no Departamento de Química da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, S.P.

** Do Departamento de Química da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.

*** Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.

O elevado número de análises a serem efetuadas nesse levantamento exige um método simples, rápido, e com suficiente precisão e exatidão para a dosagem do fósforo em produtos cárneos. Por essa razão, como primeira parte da pesquisa proposta, objetivou-se a montagem de um procedimento analítico que reúna as características necessárias.

Pequenas quantidades de fósforo têm sido determinadas nos mais variados materiais por dois métodos colorimétricos principais, o do ácido fosfomolibdico e o do ácido fosfovanadomolibdico. O primeiro deles, mais sensível, baseia-se na formação de uma espécie química azul em meio ácido, através da reação entre íons fosfato e molibdato, e na presença de um redutor seletivo; o segundo, baseia-se na formação de um composto amarelo, também em meio ácido, através da reação entre íons fosfato, molibdato e vanadato (BOLTZ & LUECK²; GOING & EISENREICH⁸). Ambos os métodos são bastante versáteis, permitindo a dosagem do fósforo em materiais os mais diversos.

O do ácido fosfomolibdico parece sofrer maior número de interferências, quer de outros elementos (BOLTZ & LUECK²; DUFF & STUART⁶) quer de variáveis operacionais como acidez do meio e concentração de reagentes (BRAGA & DeFELIPO⁴), e ainda do redutor utilizado (WOODS & MELLON¹⁸; KOZHUKHAROV¹¹). Apesar disso, e com modificações de autor para autor, o método já foi usado para a determinação do fósforo em solos (GAVIRIA *et alii*⁷; BRAGA & DeFELIPO⁴), em tecidos vegetais (GONZALEZ & BAEZ⁹), em rações (TULS¹⁶), e é preconizado pelo Instituto Adolfo Lutz na análise do fósforo em alimentos (SÃO PAULO¹⁴). Mesmo já sendo bastante sensível, o composto azul formado presta-se também à extração com solventes, o que aumenta ainda mais a sensibilidade do método (BITTENCOURT & ZAMBELLO JR.¹).

Segundo QUINLAN & DeSESA¹³, o método do ácido fosfovanadomolibdico teria sido proposto por Mission em 1908. Des-

de essa data, muitos trabalhos introduziram modificações no método original, visando definir condições de acidez do meio, concentrações de molibdato e metavanadato, formação e estabilidade da cor do composto formado, comprimento de onda de máxima absorção, entre outras. A sua aplicação tem sido na dosagem do fósforo em minério de ferro (WILLARD & CENTER¹⁷), em alimentos (KOENIG & JOHNSON¹⁰), em soro (SIMONSEN *et alii*¹⁵), em rochas uraníferas (QUINLAN & DeSESA¹³), em tecidos vegetais (PELLEGRINO¹²), em rações (TULS¹⁶), em cimento (BOWLEY³) e em diversos outros materiais.

Dos dados bibliográficos levantados, o método do ácido fosfovanadomolibdico parece ser de maior simplicidade no emprego, quer pela qualidade, quantidade e estabilidade dos reativos de que necessita, como pela ausência de interferências nos materiais em que será utilizado. Sua menor sensibilidade é irrelevante, face ao teor de fósforo encontrado normalmente em produtos cárneos.

Por essas razões, esse método será estudado detalhadamente para a montagem de um procedimento analítico que vise a determinação do fósforo em produtos cárneos. Seus resultados serão comparados com aqueles obtidos pelo método oficial do Instituto Adolfo Lutz, para verificar de sua real qualificação para as dosagens do levantamento proposto.

MATERIAL

As amostras de produtos cárneos, quais sejam, salsicha, mortadela, presunto, presunto defumado e rosbife, foram adquiridos em supermercados da cidade de Botucatu. Após secagem em estufa a 100°C até peso constante, as mesmas foram trituradas em gral de porcelana e conservadas em congelador durante o desenvolvimento do trabalho.

MÉTODOS

Os métodos empregados foram: a) em sua essência, aquele descrito por BOLTZ & LUECK² para o procedimento envolvendo

a formação do ácido fosfovanadomolibdico, ou seja, concentrações finais de metavanadato, molibdato e ácido nítrico respectivamente iguais a 0,002 M, 0,01 M e 0,5 N; b) integralmente, excetuando-se a massa de produto cárneo recomendada para tomada, aquele descrito nas Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁴, envolvendo a formação do ácido fosfomolibdico.

Estudaram-se diversas variáveis operacionais do primeiro método, as quais, depois de padronizadas, originaram a marcha analítica para dosagem do fósforo em produtos cárneos, cujos resultados foram comparados com aqueles obtidos empregando-se o procedimento preconizado pelo referido Instituto.

Reativos

Dos reativos empregados, merecem menção os seguintes:

Solução padrão "estoque" de fósforo: 1,0984 g de fosfato diácido de potássio, KH_2PO_4 , foram dissolvidos em cerca de 450 ml de água destilada num balão volumétrico de 500 ml; juntaram-se 5 ml de ácido clorídrico concentrado, completou-se e homogeneizou-se o volume com água destilada. Esta solução contém 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, e é aproximadamente 0,1 N em ácido clorídrico.

Solução padrão "de uso" de fósforo: transferiram-se 10 ml da solução padrão "estoque" de fósforo para balão volumétrico de 250 ml, completou-se e homogeneizou-se o volume com água destilada. Esta solução contém 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ e é aproximadamente 0,004 N em ácido clorídrico.

Solução vanadomolibdica: em aproximadamente 300 ml de água destilada quente (80-90°C), dissolveram-se vagarosamente e com agitação constante 1,2 g de metavanadato de amônio, NH_4VO_3 , e mais 12,1 g de molibdato de sódio dihidratado, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; esfriou-se a solução, juntaram-se 170 ml de ácido nítrico concentrado, completou-se e homogeneizou-se o volume a 500 ml com água destilada. Esta solução é aproximadamente 0,02 M em VO_3^- , 0,1 M em MoO_4^{2-} e 5 N em HNO_3 .

Solução de molibdato de amônio: dissolveram-se 31,4 g de molibdato de amônio tetrahidratado, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, em cerca de 200 ml de água destilada e juntou-se esta solução à outra contendo 400 ml de água destilada, 252 ml de ácido sulfúrico e 3,5 ml de ácido nítrico concentrado. Esfriou-se, completou-se e homogeneizou-se o volume a 1 litro com água destilada.

Solução de ácido aminonaftolissulfônico: pulverizou-se, num gral de porcelana, 0,75 g de ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfônico com 2 g de metabissulfito de sódio, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$; transferiu-se o pulverizado para um balão volumétrico de 1 litro, e dissolveu-se com 900 ml de solução contendo 68 g de metabissulfito de sódio e 42 g de sulfito de sódio, Na_2SO_3 . Completou-se e homogeneizou-se o volume com água destilada, conservando-se a solução em frasco escuro.

As medidas de absorvância foram feitas ou no espectrocolorímetro Metrohm E 1009 ou no espectrofotômetro Coleman Jr. II, usando-se respectivamente cubetas de 10 mm de espessura ou tubos de 10 mm de diâmetro.

Curva padrão

Para séries de sete béqueres de 50 ml, transferiram-se:

a) 0,0 — 0,8 — 1,6 — 3,2 — 4,8 — 6,4 e 8,0 ml da solução padrão "de uso" de fósforo (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$);

b) respectivamente 8,0 — 7,2 — 6,4 — 4,8 — 3,2 — 1,6 e 0,0 ml de água destilada;

c) 1,0 ml de solução aproximadamente 6,2 N de ácido clorídrico;

d) 1,0 ml de solução vanadomolibdica.

Os volumes foram homogeneizados, aguardaram-se 10 minutos e procedeu-se às leituras no espectrocolorímetro Metrohm E 1009, a 420 nm, contra a prova em branco.

Os dados obtidos, representando a média de três repetições, encontram-se na tabela 1.

Ensaio de recuperação

Para três séries de três cápsulas de porcelana cada série, de aproximadamente 60 mm de diâmetro, transferiram-se:

a) 0,2000 g de produto cárneo, seco a 100°C e triturado;

b) 0,0 — 2,0 e 4,0 ml da solução padrão "estoque" de fósforo (500 µg/ml).

O material das cápsulas foi seco em banho-maria, e a seguir incinerado a 500-550°C, por 1 a 2 horas, deixando-se em seguida esfriar até a temperatura ambiente. A partir deste ponto, uma prova em branco foi feita simultaneamente com as demais amostras.

O material foi umidecido com 2 a 3 gotas de água destilada, juntaram-se 2 ml de ácido clorídrico concentrado e secou-se em banho-maria; repetiu-se esta operação com 5 ml de solução (1+1) de ácido clorídrico.

Acrescentaram-se 5 ml de solução aproximadamente 1 N de ácido clorídrico, aqueceu-se levemente em banho-maria e transferiu-se o material das cápsulas para balão volumétrico de 50 ml, lavando-se as mesmas com cinco porções de 5 ml de água destilada quente. Depois de esfriados sob água corrente, os balões tiveram seus volumes completados e homogeneizados com água destilada.

Dos extratos assim preparados, transferiram-se 2,0 ml (1,0 ml no caso de presunto defumado) para béqueres de 50 ml, juntaram-se 7,0 ml de água destilada (8,0 ml no caso de presunto defumado) e 1,0 ml da solução vanadomolibdica. As soluções foram homogeneizadas, aguardaram-se 10 minutos e procedeu-se às leituras no espectrocolorímetro Metrohm E 1009, contra a prova em branco.

Os dados obtidos encontram-se na tabela 2, e representam a média de três repetições.

Ensaio de determinação e comparação de métodos

A curva padrão para determinação do fósforo pelo método do ácido fosfomolibdico foi feita no intervalo da concentração de 20 a 160 µg/50 ml, utilizando-se das soluções de molibdato de amônio e de ácido aminonaftolssulfônico já descritas, segundo a marcha analítica referida nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁴.

O procedimento analítico para a obtenção dos extratos de produtos cárneos foi o mesmo já descrito, porém sem colocação de padrão de fósforo nas amostras. As alíquotas tomadas para a colorimetria variaram segundo o produto cárneo analisado, e o método utilizado.

Os dados obtidos nas determinações por ambos os métodos acham-se na tabela 3, e referem-se a médias de três repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados da tabela 1 mostram que a relação entre a absorvância (A) e a massa de fósforo da solução, em µg de P em 10 ml (volume final da solução submetida à colorimetria) é linear e dada por:

$$\mu\text{g P}/10 \text{ ml} = (A - 0,019) \cdot 264,6$$

sendo o coeficiente de correlação linear, r, igual a 0,9986.

Para se chegar ao procedimento analítico descrito para a obtenção da curva padrão, fixaram-se as concentrações finais de 0,5 M para o ácido nítrico, 0,002 M para o metavanadato e 0,01 M para o molibdato, consideradas ideais para tais reativos, segundo os dados levantados por BOLTZ & LUECK². Entretanto, diferentemente do que os mesmos propuseram, ou seja, tais reativos serem colocados separadamente, neste trabalho verificou-se ser possível o

emprego de uma única solução contendo os três reativos em concentrações tais que reproduzam aquelas consideradas ideais na solução final. Além disso, essa solução, denominada de vanadomolibdica, mostrou-se estável pelo menos por três meses.

Constatou-se ser de 385 nm o comprimen-

to de onda onde ocorre a maior diferença entre as leituras de solução contendo fósforo e de prova em branco, utilizando-se de um espectrofotômetro Coleman Jr. II para as medidas. A adoção de 420 nm como o comprimento de onda para as demais leituras, porém, prende-se ao fato de estar o mesmo ao alcance de equipamento

TABELA 1

Dados referentes à curva padrão para determinação do fósforo em produtos cárneos pelo método do ácido fosfovanadomolibdico. Leituras no espectrocolorímetro Metrohm E 1009, em cubetas de 10 mm de espessura, a 420 nm

µg P/ 10 ml	Absorbância		Desvio padrão relativo %
0	0,000	—	—
16	0,075	± 0,001	2,27
32	0,147	± 0,001	1,16
64	0,277	± 0,001	0,83
96	0,403	± 0,000	0,00
128	0,511	± 0,002	1,00
160	0,599	± 0,003	0,77

TABELA 2

Resultados dos ensaios de recuperação do fósforo adicionado a diversos produtos cárneos, analisados pelo método do ácido fosfovanadomolibdico

Amostra	Quantidade de fósforo em µg de P			Recuperação	
	Adicionado	Determinado	D.P.R. * %	µg	%
Salsicha	—	26,7 ± 0,7	4,37	—	—
	40	67,3 ± 0,4	0,95	40,6	101,5
	80	108,8 ± 0,5	0,85	82,1	102,6
Mortadela	—	43,0 ± 0,8	3,20	—	—
	40	82,6 ± 0,8	1,61	39,6	99,0
	80	124,1 ± 0,0	0,00	81,1	101,4
Presunto	—	61,0 ± 0,7	2,08	—	—
	40	101,8 ± 0,8	1,29	40,8	102,0
	80	140,6 ± 0,7	0,86	79,6	99,5
Presunto defumado	—	42,9 ± 0,0	0,00	—	—
	20	64,5 ± 0,7	1,88	21,6	108,0
	40	83,4 ± 0,3	0,69	40,5	101,2
Rosbife	—	34,7 ± 0,3	1,33	—	—
	40	74,3 ± 1,7	3,92	39,6	99,0
	80	113,0 ± 0,5	0,77	78,3	97,9

* D.P.R. — desvio padrão relativo

TABELA 3

Resultados obtidos na determinação do fósforo em diversos produtos cárneos pelo método do ácido fosfovanadomolibdico proposto, e pelo método do ácido fosfomolibdico, oficial, do Instituto Adolfo Lutz

Amostra	Fósforo determinado				t**
	Método proposto		Método oficial		
	Fósforo %	D.P.R. * %	Fósforo %	D.P.R. %	
Salsicha	0,33 ± 0,01	4,64	0,32 ± 0,00	1,81	2,25
Mortadela	0,53 ± 0,01	3,85	0,53 ± 0,01	1,89	2,60
Presunto	0,77 ± 0,01	2,28	0,75 ± 0,00	0,77	2,75
Presunto def.	1,07 ± 0,00	0,00	1,11 ± 0,03	4,78	1,83
Rosbife	0,43 ± 0,00	1,35	0,42 ± 0,01	3,64	2,41

* D.P.R. — desvio padrão relativo

** t — significância de t a 5% = 2,78

mais simples, à base de filtros ou outro sistema de seleção de comprimento de onda. Além disso, a colorimetria do sistema fósforo - metavanadato - molibdato mais na região do visível minimiza possíveis interferências do ferro.

A acidez proveniente de extratos pode interferir nos valores de absorvância das soluções coloridas, qualquer que seja o ácido empregado na solubilização das cinzas. Assim, preferiu-se juntar ácido clorídrico ao sistema que vai originar a curva padrão, para se aproximarem as condições, em relação a esse ácido, com aquelas provenientes dos extratos. Entretanto, até concentração final igual a 0,1 N em ácido clorídrico, não ocorreu influência nos valores de absorvância de padrões experimentados.

Desde 10 até 60 minutos, a cor das soluções manteve-se estável, confirmando o que outros autores relataram em trabalhos posteriores. Por essa razão, aguardaram-se 10 minutos após a homogeneização final para a colorimetria.

Os dados das tabelas 2 e 3 revelam que o procedimento analítico ora proposto reveste-se de suficientes precisão e exatidão para a determinação do fósforo em produtos cárneos, face aos baixos valores de erro padrão da média e desvio padrão rela-

tivo (DPR) ocorridos. Além disso, os valores médios de teor de fósforo obtidos pelos dois métodos não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância, quando analisados pelo teste t.

A pequena quantidade de produto cárneo proposta para incineração (0,2000 g) permite um máximo de utilização da capacidade forno. Por outro lado, os resíduos de incineração, quando insolúveis em ácido clorídrico, são também em pequena quantidade, dispensando filtração de material para obtenção do extrato.

Utilizando-se da curva padrão obtida, e considerando-se 0,2000 g a massa de produto cárneo originando 50 ml de extrato para análise, as porcentagens de fósforo, em termos de P, P₂O₅ ou PO₄³⁻ no material, serão dadas por:

$$\% P = \frac{(A - 0,019) \cdot 6,615}{V}$$

$$\% P_2O_5 = \frac{(A - 0,019) \cdot 15,16}{V}$$

$$\% PO_4^{3-} = \frac{(A - 0,019) \cdot 20,28}{V}$$

sendo A a absorvância da solução submetida à colorimetria, e V o volume tomado do extrato de 50 ml.

TABELA 4

Teor de fósforo nos diversos produtos cárneos analisados pelo método do ácido fosfovanadomolibdico proposto, expresso em porcentagens de P, P_2O_5 e PO_4^{3-} .

Amostra	Porcentagens de fósforo		
	como P	como P_2O_5	como PO_4^{3-}
Salsicha	0,33	0,76	1,01
Mortadela	0,54	1,24	1,65
Presunto	0,76	1,74	2,33
Presunto defumado	1,07	2,45	3,28
Rosbife	0,43	0,98	1,32

A tabela 4 mostra o teor de fósforo no peso seco dos diversos produtos cárneos analisados pelo método proposto, exprimindo-o em porcentagem de P, P_2O_5 e PO_4^{3-} .

Como a legislação brasileira de aditivos químicos em alimentos admite um máximo de 0,5% de "polifosfato" em tais produtos, verifica-se que todos apresentam concentração de fósforo superior ao permitido por lei, desde que a mesma se refira ao peso seco do material, expresso em termos de P_2O_5 ou de PO_4^{3-} .

CONCLUSÕES

A dosagem de fósforo total em produ-

tos cárneos pode ser efetuada pelo método do ácido fosfovanadomolibdico como ora proposto, tendo em vista que os resultados obtidos, quando comparados com aqueles oriundos da dosagem por método oficial, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância. Por outro lado, a pequena quantidade de material utilizada simplifica operações normalmente requeridas quando quantidades maiores são empregadas.

O teor de fósforo encontrado nos diversos produtos mostrou-se sempre superior ao permitido por lei, quando expresso na forma de P_2O_5 ou PO_4^{3-} .

RIAL-A/418

GRANER, C.A.F.; MEIRA, D.R. & MUCCILOLO, P. — Determination of phosphorus in meat products. I. A method for phosphorus dosage. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 55-62, 1975/76.

SUMMARY: The authors propose a simple, quick, precise and accurate method for the meat products phosphorus determination by the molybdovanadophosphoric acid method.

The resulting data showed no statistical differences when compared with those obtained through the official method of the Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil, thus characterizing the proposed procedure as a suitable method to carry out routine analysis.

DESCRIPTORS: phosphorus determination in meat products; meat products, phosphorus determination; molybdovanadophosphoric acid to determine phosphorus in meat products.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BITTENCOURT, W.C. & ZAMBELLO JR., E. — Estudo comparativo dos métodos espectrofotométricos de extração com os álcoois isobutílico e amílico para a determinação do fósforo em solos tropicais. *Científica (Jaboticabal)*, 1: 89-100, 1974.
2. BOLTZ, D. F. & LUEK, C.H. — Phosphorus. In: BOLTZ, D.F., ed. *Colorimetric determination of nonmetals*. New York, Interscience Publishers, 1958. p. 29-46.
3. BOWLEY, M.J. — Spectrophotometric determination of phosphorus (V) oxide in cements and clinkers with molybdovanadate reagent. *Analyst (London)*, 98: 739-44, 1973.
4. BRAGA, J.M. & DeFELIPO, B.V. — Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solo e material vegetal. *Rev. Ceres (Viçosa)*, 21: 73-85, 1975.
5. BRASIL. Leis, decreto, etc. — Decreto n.º 55.871 — 26 mar. 1965. Modifica o Decreto n.º 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto n.º 691, de 13 de março de 1962. *Diário Oficial, da União, Brasília*, 9 abr. 1965. p. 3610-22.
6. DUFF, E.J. & STUART, J.L. — Determination of orthophosphate in the presence of nitrate ions. *Analyst (London)*, 96: 802-6, 1971.
7. GAVIRIA, O.V.; MORA, M.H.; GAMBOA, V.J.; GUERREIRO, R.R. — Evaluacion de metodos para la determinacion de fosforo aprovechable en suelos volcanicos de la zona andina del Departamento de Nariño. *Rev. Cienc. agr., Nariño*, 4: 55-64, 1972.
8. GOING, J.E. & EISENREICH, J.E. — Spectrophotometric studies of reduced molybdoantimonyphosphoric acid. *Analytica chim. Acta*, 70: 95-106, 1974.
9. GONZALEZ, O.C. & BÁEZ, C.M. — Método de determinación de fósforo en tejidos vegetales. *Agrochimica*, 16: 342-4, 1972.
10. KOENIG, R.A. & JOHNSON, C.R. — Colorimetric determination of phosphorus in biological materials. *Ind. Engng Chem. analyt. Edn.*, 14: 155-6, 1942.
11. KOZHUKHAROV, M.K. — A new variant of the photometric method of determining phosphoric acid as the blue phosphomolybdic heteropoly acid. *J. analyt. Chem. USSR*, 17: 389-90, 1962.
12. PELLEGRINO, D. *A determinação do fósforo pelo método do ácido fosfovanadomolibdico*. Piracicaba, 1960. [Tese — Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", U.S.P.].
13. QUINLAN, K.P. & DeSESA, M.A. — Spectrophotometric determination of phosphorus as molybdovanadophosphoric acid. *Analyst. Chem.*, 27: 1626-29, 1955.
14. SAO PAULO. Instituto Adolfo Lutz — *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. Vol. I. *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. São Paulo, [1967-]. 291 p.
15. SIMONSEN, D.G.; WERTMAN, M.; WESTOVER, L.M. & MEHL, J.W. — The determination of serum phosphate by the molybdivanadate method. *J. biol. Chem.*, 166: 747-55, 1946.
16. TULS, J. — Spectrophotometric determination of phosphorus in biological samples after dry ashing without fixatives. *Analyst (London)*, 97: 111-3, 1972.
17. WILLARD, H.H. & CENTER, E.J. — Colorimetric determination of phosphorus in iron ore. *Ind. Engng Chem. analyt. Edn.*, 13: 81-3, 1941.
18. WOODS, J.T. & MELLON, M.G. — The molybdenum blue reaction. A spectrophotometric study. *Ind. Engng Chem. analyt. Edn.*, 13: 760-4, 1941.

Recebido para publicação em 7 de agosto de 1975.