

DETERMINAÇÃO DE ENXOFRE EM AMOSTRAS VEGETAIS POR OXIDAÇÃO VIA SECA EM MEIO ALCALINO COM DETECÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

Alexssandra Luiza Rodrigues Molina Rossete*, Josiane Meire Tolotti Carneiro, Hugo Henrique Batagello, Juliana Graciela Giovannini Oliveira e José Albertino Bendassoli

Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, CP 96, 13400-970 Piracicaba - SP, Brasil

Recebido em 18/3/10; aceito em 2/8/10; publicado na web em 30/11/10

ESPECTROFOTOMETRIC DETERMINATION OF SULFUR IN PLANTS USING DRY ASH OXIDATION AND ALKALINE OXIDIZERS. The sulphur take an essential role in plants and it is one of the main nutrients in several metabolic processes. The dry ash oxidation, using alkaline oxidizers agent, is the simplest and most economical form for the oxidation of Organic S to sulfate in plants. The objective of this work is to propose a method for sulfur determination in plants samples using dry ash oxidation and agent oxidizers alkaline. The quantification of $S-SO_4^{2-}$ in samples was accomplished by turbidimetric method. The results demonstrated that the proposed method for oxidation alkaline was appropriate.

Keywords: sulfate; digestion; turbidimetric method.

INTRODUÇÃO

O enxofre tem papel essencial no metabolismo das plantas destacando-se como um dos principais nutrientes, principalmente no desempenho das funções vitais. O nutriente é necessário para o desenvolvimento das raízes, para a plena fotossíntese, estimulando a nodulação e a fixação do nitrogênio nas raízes das leguminosas, garantindo um crescimento mais vigoroso e incrementando a produção de sementes.¹⁻⁵

Embora até pouco tempo não se tenha dado muita importância a estudos relacionados ao ciclo do enxofre em plantas, alguns trabalhos têm revelado a deficiência de enxofre em plantas cultivadas por todo o mundo e especialmente no Brasil, evidenciando a deficiência de enxofre no solo.^{3,6}

Desta forma, deve-se salientar a importância de se estabelecer métodos simples e eficientes na determinação de S-total, possibilitando estudos detalhados e definições mais precisas sobre a dinâmica do nutriente no sistema solo-planta.

Com relação ao enxofre orgânico, presente nas amostras vegetais, existem várias formas para promover a oxidação do S-orgânico a sulfato. Os procedimentos mais empregados envolvem a oxidação via úmida, digestão ácida. A via úmida é o método mais utilizado, em que as amostras vegetais em presença de ácido nítrico e perclórico são aquecidas em bloco digestor à temperatura de 190 a 210 °C.^{7,8} Este tipo de digestão requer cuidado, pois podem ocorrer explosões, fogo e perda de material, tornando-a inconveniente; além disso, deve-se salientar a dificuldade na aquisição de ácidos por muitas instituições.

A oxidação via seca utilizando agentes alcalinos é uma das formas mais simples na conversão do S-orgânico a sulfato.⁹ Rossete *et al.*¹⁰ descreveram um método para oxidação em amostras de solo, em mufla por 8 h à temperatura de 550 °C, na presença de agente oxidante (Ag_2O) em meio alcalino ($NaHCO_3$). A quantificação do sulfato foi realizada pelo método turbidimétrico com a utilização de cloreto de bário e detecção espectrofotométrica, sendo este o mais explorado.^{8,9}

Este trabalho teve como objetivo propor uma alternativa de um procedimento analítico simples e eficiente para a determinação de enxofre em amostras vegetais, utilizando oxidação alcalina e detecção

espectrofotométrica. A utilização da prata (metal nobre) eleva o custo analítico, neste sentido foi avaliada a substituição do óxido de prata por óxido de cobre.

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentação

As medidas turbidimétricas foram feitas em espectrofotômetro de feixe simples (Femto, Brasil), modelo 600S. A oxidação foi realizada em Mufla (Quimis), modelo 318-24, com faixa de temperatura de 100 a 1.200 °C.

Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas com água desionizada (resistividade 5-10 $m\Omega\text{ cm}^{-1}$ a 25 °C) obtida por um sistema de troca iônica.

A curva analítica contendo 5, 10, 15 e 20 $mg\text{ L}^{-1}$ de $S-SO_4^{2-}$ foi obtida a partir de uma solução estoque de 500 $mg\text{ L}^{-1}$ de S, preparada dissolvendo-se 1,03 g de $(NH_4)_2SO_4$ em aproximadamente 50 mL de água. Após a dissolução, transferiu-se para um balão volumétrico de 500 mL e completou-se o volume com água desionizada.

Solução estoque de ácido clorídrico 10 $mol\text{ L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 829 mL de HCl p.a em aproximadamente 100 mL de água. Após a dissolução, transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água desionizada. Solução de ácido clorídrico 0,1 $mol\text{ L}^{-1}$ foi preparada com 10 mL de solução estoque de ácido clorídrico 10 $mol\text{ L}^{-1}$ em aproximadamente 500 mL de água. Após a dissolução, transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água desionizada.

Solução de L-Cisteína 500 $mg\text{ L}^{-1}$ de S foi preparada dissolvendo-se 378,0 mg de L-Cisteína em aproximadamente 50 mL de água. Após a dissolução, transferiu-se para um balão volumétrico de 200 mL e completou-se o volume com água desionizada.

Solução de Na_2SO_4 500 $mg\text{ L}^{-1}$ de S foi preparada dissolvendo-se 1,10 g de Na_2SO_4 em aproximadamente 50 mL de água. Após a dissolução, transferiu-se para um balão volumétrico de 500 mL e completou-se o volume com água desionizada.

*e-mail: alrosset@cena.usp.br

Solução de ácido clorídrico 6 mol L⁻¹ contendo 20 mg L⁻¹ de S foi preparada dissolvendo-se 497,5 mL de HCl p.a em aproximadamente 300 mL de água e, na sequência, dissolveu-se 108,9 mg de K₂SO₄. Após a dissolução, transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água desionizada.

Solução de cloreto de cálcio 0,15% (m/v) foi preparada dissolvendo-se 1,5 g de CaCl₂ em aproximadamente 500 mL de água e, na sequência, transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água desionizada.

Preparo das amostras e determinação analítica

Inicialmente o S-orgânico presente na amostra vegetal foi oxidado a sulfato por combustão térmica, fazendo-se uso de duas misturas oxidantes: mistura contendo prata (NaHCO₃ + Ag₂O) e outra contendo cobre (NaHCO₃ + CuO). A razão em massa entre o S na amostra e as misturas oxidantes (S:NaHCO₃ + Ag₂O e S:NaHCO₃ + CuO) e entre os reagentes (NaHCO₃:Ag₂O e NaHCO₃:CuO) foi de 1:1000 e 10:1, respectivamente. Nos ensaios utilizou-se da mistura de prata contendo 2,0 g de NaHCO₃ e 0,2 g de Ag₂O e da mistura de cobre com 2,0 g de NaHCO₃ e 0,2 g de CuO.

A influência da superfície de contato no processo de combustão foi avaliada utilizando cadinhos de porcelana de 4,5 cm de diâmetro e cápsulas de porcelana de 11 cm de diâmetro. A influência da solubilização do sulfato contido nas cinzas (produto combustão) foi avaliada, fazendo-se uso de água e solução de CaCl₂ 0,15% (m/v).

As soluções contendo S-inorgânico e S-orgânico, 500 mg L⁻¹ de S como Na₂SO₄; 500 mg L⁻¹ de S na forma de L-Cysteina e 1000 mg L⁻¹ de S (500 mg L⁻¹ de Na₂SO₄ e 500 mg L⁻¹ de L-Cysteina) foram utilizadas para verificar a eficiência da oxidação alcalina e, também, a etapa de solubilização e homogeneização no preparo das amostras.

As soluções e as amostras vegetais, contendo 500 mg, foram adicionadas e homogeneizadas em cadinhos (4,5 cm de diâmetro) e cápsulas (11 cm de diâmetro) de porcelana sobre a mistura de prata (NaHCO₃/Ag₂O) ou de cobre (NaHCO₃/CuO). Separadamente, em 5 cadinhos foram pesadas somente as misturas de prata e cobre, denominadas de “brancos”. Estes foram utilizados na obtenção da curva analítica contendo 5, 10, 15 e 20 mg L⁻¹ de S-SO₄²⁻, para a determinação de enxofre por turbidimetria.

Após homogeneização das amostras foi realizada a combustão a 550 °C em forno mufla por 8 h. Na Tabela 1 podem-se verificar os parâmetros avaliados no preparo das amostras para combustão.

Tabela 1. Parâmetros avaliados no preparo das amostras vegetais na etapa de oxidação

Tratamentos	Mistura oxidante	Solução de solubilização	Recipiente de porcelana
Tr 1	prata	água	cadinho
Tr 2	prata	água	cápsula
Tr 3	prata	CaCl ₂ ⁽¹⁾	cadinho
Tr 4	prata	CaCl ₂ ⁽¹⁾	cápsula
Tr 5	cobre	água	cadinho
Tr 6	cobre	água	cápsula
Tr 7	cobre	CaCl ₂ ⁽¹⁾	cadinho
Tr 8	cobre	CaCl ₂ ⁽¹⁾	cápsula

⁽¹⁾ solução 0,15% (m/v).

Ao final da combustão e após o resfriamento das amostras à temperatura ambiente, foi efetuada a solubilização do sulfato nas cinzas com 30 mL de solução de solubilização (Tabela 1) e 1 g

carvão ativado, em frasco de vidro. Esse procedimento foi realizado com agitação por 15 min a 20 rad s⁻¹. Ao final do período de agitação adicionou-se mais 20 mL de solução de solubilização com a finalidade de transferir o conteúdo da amostra para o sistema de filtragem. Nesta etapa foram empregados filtros de éster de celulose de 45 mm de diâmetro e malha 0,45 µm.

No filtrado foi realizada a quantificação do S-SO₄²⁻ utilizando-se uma alíquota de 10 mL do extrato, à qual se adicionou 1 mL de solução 6,0 mg L⁻¹ de HCl contendo 20 mg L⁻¹ de S, para favorecer o processo de nucleação e melhorar a sensibilidade analítica.

Após 30 s, acrescentaram-se 500 mg de BaCl₂.2H₂O e deixou-se em repouso por 1 min; na sequência, foi realizada a dissolução dos cristais BaCl₂.2H₂O, com agitação, transferindo-se a solução para a cubeta do espectrofotômetro e realizando a leitura em 420 nm, em tempo máximo de 8 min após a adição de BaCl₂.2H₂O. Com a leitura da turbidez do filtrado e com emprego da curva analítica, foi possível determinar a concentração de S-SO₄²⁻ correspondente ao enxofre presente nas amostras vegetais.

Com o intuito de comparar os resultados da determinação de enxofre nas amostras vegetais foi realizada digestão ácida, utilizando HNO₃ e HClO₄.^{7,8} A comparação entre o método proposto e o método de digestão ácida foi realizada pelo teste de Tukey (p<0,05). Para determinação do teor de S foram utilizadas amostras vegetais adquiridas junto ao programa de interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal, biênio 2008/2009, da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Departamento de Ciência do Solo (ESALQ/USP).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados utilizando a oxidação alcalina nas soluções de Na₂SO₄ e L-Cysteina, após combustão a 550 °C por 8 h, indicaram que os rendimentos da oxidação foram de 99 ± 2% e 96 ± 4% com o emprego da mistura contendo prata e cobre, respectivamente, evidenciando a recuperação quantitativa do enxofre nas soluções.

As curvas analítica, contendo 5, 10, 15 e 20 mg L⁻¹ de S-SO₄²⁻ utilizando o branco das misturas de prata e de cobre, apresentaram regressão linear de 0,99, evidenciando a linearidade do método de quantificação. Deve-se salientar que o método de quantificação por turbidimetria se mostrou eficiente em meio alcalino e com alta salinidade.

Com os resultados satisfatórios foram preparadas as amostras vegetais, dentre elas milho, banana, citros e brachiaria. Os dados de enxofre, nas amostras vegetais, empregando os diferentes tratamentos (Tabela 1) e com a digestão ácida estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Enxofre (g kg⁻¹) nas amostras vegetais utilizando a oxidação via seca, com os tratamentos indicados na Tabela 1 (n=5)

Tratamentos	Brachiaria	Banana	Citros	Milho
Tr 1	0,48±0,03 a	1,29±0,06 a	3,11±0,17 a	1,08±0,05 a
Tr 2	0,47±0,03 a	1,29±0,05 a	3,11±0,16 a	1,08±0,05 a
Tr 3	0,52±0,03 a	1,41±0,03 a	3,26±0,07 a	0,89±0,06 a
Tr 4	0,46±0,03 a	1,27±0,06 a	3,08±0,17 a	1,06±0,05 a
Tr 5	0,39±0,02 b	1,26±0,04 a	3,02±0,01 a	0,75±0,05 bc
Tr 6	0,46±0,03 ab	1,37±0,03 a	3,33±0,04 ab	0,87±0,03 abc
Tr 7	0,38±0,03 b	1,27±0,14 a	3,12±0,02 a	0,71±0,05 c
Tr 8	0,39±0,02 b	1,33±0,08 a	3,70±0,03 b	0,99±0,12 ab
Digestão ácida ⁽¹⁾	0,56±0,05 a	1,48±0,09 a	3,17±0,06 a	1,04±0,03 a

Médias entre os tratamentos seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey; ⁽¹⁾ Método convencional;^{7,8} n: número de repetições para cada amostra.

Com os resultados apresentados na Tabela 2 pode-se verificar que não houve diferença significativa entre os métodos por digestão ácida (método convencional) e por digestão via seca, utilizando a mistura de prata (Tr 1 a Tr 4) independentes da solubilização e do recipiente de queima, o que recomenda o uso do método proposto por via seca no preparo de amostras vegetais para determinação de enxofre.

Devido ao grande número de amostras vegetais optou-se por utilizar cadinhos de porcelana realizando, assim, um maior número de queima, viabilizando o tempo e o custo do método proposto. Com relação à solubilização do sulfato nas cinzas foi utilizada a solução de cloreto de cálcio, devido ao poder de ionização do íon Ca^{+2} em relação ao íon H^+ .

Com relação ao emprego da mistura contendo cobre (Tr 5 a Tr 8) pode-se observar que a estatística indicou que houve diferença significativa para 40% dos resultados de enxofre das amostras avaliadas em relação ao método convencional.

Após a otimização do método por oxidação alcalina foram realizadas as digestões das amostras vegetais, adquiridas do programa interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal, utilizando os parâmetros do Tr 3, sendo estes, a mistura de NaHCO_3 e Ag_2O com temperatura de 550 °C e o tempo de 8 h. A oxidação foi realizada em cadinhos de porcelana e solução de CaCl_2 0,15% (m/v) na solubilização do sulfato. Os resultados foram comparados com os valores obtidos do programa e podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Determinação de enxofre nas amostras vegetais do programa interlaboratorial de Análise de Tecido Vegetal (g kg^{-1})

Amostras (n=3)	Método proposto		Valores do programa (*)	
	Média $\pm \sigma$	CV	Média $\pm \sigma$	CV
01/2009	1,67 \pm 0,02	1,1	1,88 \pm 0,22	11,9
02/2009	1,02 \pm 0,03	2,5	1,14 \pm 0,17	15,05
03/2009	0,90 \pm 0,06	6,9	1,00 \pm 0,14	14,04
04/2009	0,61 \pm 0,02	2,6	0,78 \pm 0,14	18,14
05/2009	1,01 \pm 0,03	2,7	1,13 \pm 0,13	11,82
06/2009	1,60 \pm 0,03	1,7	1,85 \pm 0,22	12,03
07/2009	2,07 \pm 0,07	3,4	2,23 \pm 0,30	13,63
08/2009	2,18 \pm 0,08	3,9	2,12 \pm 0,29	13,59
09/2009	1,04 \pm 0,09	9,0	1,16 \pm 0,15	13,13
10/2009	1,93 \pm 0,04	2,0	2,03 \pm 0,20	9,84
11/2009	0,27 \pm 0,01	4,5	0,28 \pm 0,07	26,85
12/2009	1,75 \pm 0,11	6,2	1,93 \pm 0,18	9,12
13/2009	0,96 \pm 0,03	3,3	1,07 \pm 0,17	16,09
14/2009	0,74 \pm 0,04	5,3	0,80 \pm 0,12	15,21
15/2009	0,90 \pm 0,02	2,4	1,15 \pm 0,15	13,19
16/2009	1,92 \pm 0,14	7,1	1,95 \pm 0,20	10,31

*Média de 106 laboratórios participantes do programa.

Os resultados do método proposto mostraram-se satisfatórios e concordantes com os valores obtidos junto ao programa interlaboratorial para todas as amostras. Os valores da média das amostras vegetais estão dentro da faixa de aceitação dos resultados para cada determinação, evidenciando que o preparo das amostras por oxidação alcalina e a quantificação por método turbidimétrico foram adequados.

CONCLUSÃO

A análise estatística indicou que os melhores procedimentos obtendo a determinação de enxofre em amostras vegetais, utilizando a oxidação alcalina, foram com a mistura de NaHCO_3 e Ag_2O com a oxidação por 8 h e temperatura de 550 °C.

O processo de oxidação alcalina é mais rápido e simples em relação à digestão ácida. Os resultados evidenciaram que é viável a oxidação via seca, em meio alcalino, na conversão do S-orgânico presente nas amostras vegetais a sulfato.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Epstein, E.; Bloom, A. J.; *Nutrição Mineral de plantas*, 2ª ed., Planta: Londrina, 2006.
2. Malavolta, E. Em *Fisiologia vegetal*; Ferri, M. G., ed.; EPU: São Paulo, 1979.
3. Bissani, C. A.; Tedesco, M. J.; *Resumos da Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo*, Londrina, Brasil, 1988.
4. Pasricha, N. S.; Fox, R. L.; *Advances in Agronomy* **1993**, 50, 209.
5. Thisdale, S. L.; Reneau, R. B.; Platou, J. S. Em *Sulfur in agriculture*; Tabatabai, M. A., ed.; American Society of Agronomy: Madson, 1986, p. 295.
6. Malavolta, E.; Paulino, V. T.; *International Conference Sulphur 87*, Houston, EUA, 1987.
7. Page, R. L.; Miller, R. H.; *Methods of Soil Analysis*, 2ª ed., ASA: Madison, 1982.
8. Malavolta, E.; Vitti, G. C.; Oliveira, S. A.; *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*, 2ª ed., Patafos: Piracicaba, 1997.
9. Tabatabai, M. A.; Bremner, J. M.; *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **1970**, 34, 62.
10. Rossete, A. L. R. M.; Bendassolli, J. A.; Trivelin, P. C. O.; *Rev. Bras. Ciên. Solo* **2008**, 32, 2547.