

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

ALEXSSANDRA LUIZA RODRIGUES MOLINA ROSSETE

**Determinação isotópica de S (% átomos em ^{34}S) por espectrometria
de massas em amostras de solo, a partir de S-Total e S-Sulfato
disponível**

PIRACICABA

2006

ALEXSSANDRA LUIZA RODRIGUES MOLINA ROSSETE

Engenheira Química

**Determinação isotópica de S (% átomos em ^{34}S) por espectrometria
de massas em amostras de solo, a partir de S-Total e S-Sulfato
disponível**

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na
Agricultura da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Química na Agricultura e no
Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. José Albertino Bendassolli

PIRACICABA

2006

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Rossete, Alexssandra Luiza Rodrigues Molina

Determinação isotópica de S por espectrometria de massas em amostras de solo, a partir de S-Total e S-Sulfato disponível / Alexssandra Luiza Rodrigues Molina Rossete; orientador José Albertino Bendassolli. - - Piracicaba, 2006.

96 f. : fig.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Análise do solo 2. Enxofre 3. Enxofre 34 4. Espectrometria de massas 5. Sulfato I. Título

CDU 631.4:543.42

MINHA MENSAGEM ESPECIAL

*A meu querido e amado esposo, Richard
e aos meus filhos, Andrey e a pequena Sophia,
pelo apoio e compreensão.*

A Esperança é tudo nesta vida.

Lute e viva com muita alegria, porque a força vem lá de dentro.....de um lugar chamado Coração.

Alexsandra

15/12/2006

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares e a minha querida mãe, Maria Lucia, as minhas irmãs: Carmini, vera Lucia e Elisangela.

Em especial à minha querida sogra Leonor pela dedicação diária ao meu filho Andrey.

Ao Professor Dr. José Albertino Bendassolli pela luz na minha formação, apoio e confiança no período da realização deste trabalho e principalmente na elaboração da tese.

Aos Professores Dr. Boaventura Freire dos Reis e Dr. Paulo C. O. Trivelin, pelo ótimo convívio e troca de experiências e informações.

Aos técnicos e funcionários do Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP: José Aurélio Bonassi, Glauco Tavares, Bento M. de Moraes Neto, Hugo H. Batagello, Juliana giovannini, Cleuber Preste, Miguel Baldessin e a Magda Bortolamei que de alguma forma colaboraram na execução desta tese.

Aos técnicos do Laboratório de Química Analítica do CENA/USP: Sheila, Fátima e Iolanda por toda colaboração e análises realizadas, para a execução deste trabalho.

A todos os meus companheiros de Pós-Graduação do Laboratório de Isótopos Estáveis: Josiane, André, Alexandre, Henrique, Carlos Faroni, Carlos Sant'Anna, Claudinéia e João Paulo pela colaboração na aprendizagem científica e na alegria do convívio diário.

À Universidade de São Paulo – USP

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

	SUMÁRIO	Pg
	LISTA DE FIGURAS	iv
	LISTA DE TABELAS	v
	RESUMO	vii
	ABSTRACT	ix
1	Introdução geral e Objetivo	1
2	Coleta e Classificação dos solos	9
3	Determinação de enxofre total e sulfato disponível	18
4	Determinação de enxofre total e sulfato disponível em amostras de solo por turbidimetria, empregando multicomutação e amostragem binária	44
5	Determinação Isotópica de S (% átomos de ³⁴ S), em amostras de solo, por espectrometria de massas	65
6	Conclusões gerais	87
7	Referências	89

	LISTA DE FIGURAS	Pg
1	Ciclo do enxofre	3
2	Modulo de análise do sistema em fluxo (FIA)	51
3	Diagrama de tempo de acionamento das válvulas do módulo de análise.	52
4	Efeito do tempo de acionamento das válvulas (V1, V2 e V3)	57
5	Efeito do número de ciclos de amostragem das válvulas V3, V1, V2 e V3	57
6	Efeito da concentração de cloreto de bário (V3)	58
7	Linha de alto vácuo para produção e purificação do SO ₂	77

LISTA DE TABELAS		Pg
1	Isótopos estáveis e radioativos do enxofre (S)	5
2	Tipo de solo, nomenclatura e as cidades onde foram realizadas as coletas das amostras	11
3	Análise química das amostras de solo realizadas no laboratório de fertilidade do solo do CENA/USP	13
4	Análise de micronutrientes e pH das amostras de solo	13
5	Dados da soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC) e a saturação por bases (V)	14
6	Análises química das amostras de solo realizadas no Instituto Agronômico de Campinas	15
7	Dados da soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC) e a saturação por bases (V)	15
8	Condições operacionais do forno de microondas	27
9	Determinação S-Total por digestão nítrica em sistema fechado (n=4)	33
10	Concentração de enxofre e rendimento da oxidação alcalina utilizando as misturas de $\text{NaHCO}_3/\text{Ag}_2\text{O}$ (n=5)	34
11	Dados S-Total (mg kg^{-1} de solo) por digestão ácida e alcalina, utilizando mistura oxidante de $\text{NaHCO}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$ (2,0/0,2 g) e temperatura de 550 °C (n=5)	35
12	Dados S-Total (mg kg^{-1} de solo) por digestão ácida e alcalina, utilizando mistura oxidante de $\text{NaHCO}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$ (2,0/0,2 g) a temperatura de 650 °C (n=5)	36
13	Concentração de enxofre e rendimento da oxidação alcalina utilizando as mistura oxidante de $\text{NaHCO}_3 + \text{CuO}$ (n=5)	38
14	Dados S-Total (mg kg^{-1} de solo) por digestão ácida e alcalina utilizando mistura oxidante de $\text{NaHCO}_3 + \text{CuO}$ (2,0/0,2 g), temperatura de 550 e 650 °C e tempo de oxidação de 8 horas (n=5)	39

15	Dados de S-Total (mg kg^{-1} de solo) por digestão ácida e alcalina utilizando mistura oxidante de $\text{NaHCO}_3 + \text{CuO}$ (razão 10/1 e 10/2), com temperatura de 550°C e tempo de 8 horas ($n=5$)	40
16	Resultados de S-Total (mg kg^{-1} de solo) por oxidação alcalina utilizando mistura Eschika (razão 1/1 e 1/2), com temperatura de 800°C e tempo de 1 hora ($n=5$)	41
17	Resultados de S-Sulfato disponível, utilizando solução de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de NH_4Ac em $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ HAc ($n=5$)	42
18	Tempo de acionamento das válvulas solenóides	56
19	Dados de S-Total (mg kg^{-1} de solo), para os dois procedimentos analíticos	60
20	Dados de sulfato disponível (mg kg^{-1} de solo), para os dois procedimentos analíticos	60
21	Dados de teor de S-Total nos padrões NIST, utilizando-se do método por via úmida e seca	62
22	Determinação isotópica de S nas amostras de BaSO_4 (p.a) e $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ marcado	83
23	Determinação de S-Total inicial e isotópica de S nas amostras de solo das usinas São Martinho e Santa Adélia	84
24	Determinação isotópica de S experimental e teórica nas amostras de solo das usinas São Martinho e Santa Adélia, após aplicação do $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ marcado	85

RESUMO

Rossete, A. L. R. M. **Determinação isotópica de S por espectrometria de massas em amostras de solo, a partir de S-Total e S-Sulfato disponível. 96f. Tese (Doutorado)** - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2006.

O enxofre no solo pode ser encontrado em duas formas básicas como S-Inorgânico e S-Orgânico. O enxofre na forma inorgânica (S-Sulfato) pode estar prontamente disponível à planta, mas o enxofre orgânico é responsável por 95% do enxofre total na maioria dos solos. Com o objetivo de quantificar o sulfato disponível do solo utilizou-se como extrator solução de acetato de amônio em ácido acético. A eficiência da oxidação do S-Orgânico à S-Inorgânico, para determinação de S-Total em amostras de solo, foi avaliada com o emprego de métodos de oxidação por via úmida e seca.

Para a quantificação do S-Total e S-Sulfato disponível foi desenvolvido um sistema automatizado de análise em fluxo (FIA) empregando multicomutação e amostragem binária. Os resultados das determinações de S-Total e de Sulfato disponível mostraram-se concordantes entre os procedimentos analíticos avaliados, sistema automatizado e o manual (convencional).

A utilização de material marcado ($K_2^{34}SO_4$), teve como finalidade a validação do método de determinação de S-Total e isotópica de S nas amostras de solo. Com os resultados obtidos no experimento pode-se verificar que o processo de conversão de S-Orgânico à S-Inorgânico utilizando o método de oxidação alcalina, via seca, foi adequado.

Com os resultados da determinação isotópica de S (% em átomos de ^{34}S) do experimento empregando material enriquecido em $^{34}S(K_2SO_4)$, pode-se

calcular que o erro analítico foi em média 1,1 %. Este foi considerado baixo tendo em vista que o processo envolve varias etapas e dois procedimentos analíticos complexos.

ABSTRACT

Rossete, A. L. R. M. **Isotopic determination of S by mass spectrometry in soil samples based on Total-S and available Sulphate-S. 96f. Tese (Doutorado) -** Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2006.

Sulphur in soil may be found under two basic forms; Inorganic-S and Organic-S. Sulphur under inorganic form (Sulphate-S) may be available to plant, however organic sulphur is responsible for 95 % of total sulphur in the most of soils. Aiming quantifies the available sulphur in soil, ammonium acetate plus acetic acid extractor solution was used. Efficiency of Organic-S oxidation to form Inorganic-S for Total-S determination in soil samples was evaluated applying oxidation reaction by wet and dried methods.

A flow injection analysis (FIA) automatic system exploring multi-commutation and binary sample techniques was development for determination of Total-S and available Sulphate-S. Results of Total-S and available Sulphate were in agreement with analytical procedures evaluated, automatic and conventional systems.

Use of labeled material ($K_2^{34}SO_4$) aimed to validate the method for Total-S and isotopic S determination in soil samples. Obtained results in experiments showed that the conversion process of Organic-S to Inorganic-S using alkaline oxidation reaction by dried method was appropriated.

Based on results obtained in S isotopic determination (% in atoms of ^{34}S) by applied experiment using material enriched on $^{34}S(k_2SO_4)$, was possible calculate that the analytical error was about 1.1 %. This result was considered low considering quantity of involved steps in process and complexity of analytical process.

Capítulo 1

Introdução geral e Objetivos

1.1. INTRODUÇÃO

1.1.1. O enxofre no ecossistema

O enxofre foi reconhecido como elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento dos vegetais há mais de 100 anos, sendo disponibilizado às plantas de quatro maneiras distintas: por deposição atmosférica proveniente da queima de biomassa e combustíveis fósseis; intemperismo das rochas; decomposição e mineralização da matéria orgânica do solo e pela aplicação de fertilizantes contendo o elemento S (Maynard et al., 1984; Germida et al., 1992; Krouse et al., 1996).

O ciclo do enxofre na natureza apresenta diversos estados de oxidação, como apresentado na Figura 1 de Martins & Andrade (2002), este ciclo envolve a movimentação do elemento nos diferentes compartimentos do ecossistema.

Na atmosfera a forma predominante é o dióxido de enxofre, que quando em contato com outras moléculas (H_2O_2 , NO_x e o próprio vapor d'água) resulta na formação de ácido sulfúrico e juntamente com ácido nítrico formam a chuva ácida. Esses ácidos na atmosfera vêm provocando desequilíbrios nos ecossistemas naturais, além de danos causados em monumentos históricos.

As refinarias de petróleo, indústrias químicas, siderúrgicas e fábricas de cimento emitem dióxido de enxofre em altas concentrações. Outra forma de emissão de dióxido de enxofre e outros gases, CO_x e NO_x , ocorre nas grandes cidades, cerca de 40% da poluição do ar é proveniente da queima de gasolina e óleo diesel pelos veículos automotores (Martins & Andrade, 2002).

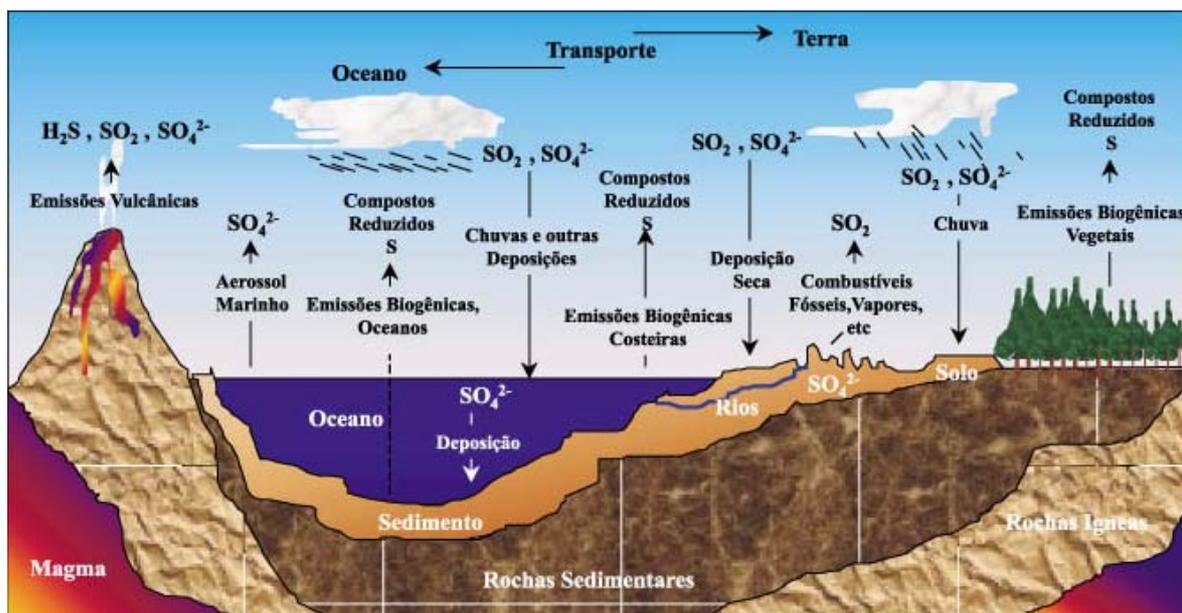


Figura 1. Ciclo do enxofre.

Fonte: Martins e Andrade, 2002

1.1.2. O enxofre e sua importância

O enxofre é um dos elementos essenciais à vida das plantas e animais. Nas plantas, além de fazer parte de alguns aminoácidos e de todas as proteínas, o S desempenha outras funções: como SO_4^{2-} é ativador enzimático; como SH é grupo ativo de enzimas e de coenzimas (ácido lipoico, tiamina, biotina); na fotossíntese participa de ribulose-2P e de reações de fosforilação; é essencial ainda no processo de fixação do N pelas leguminosas e garante um crescimento mais vigoroso e incrementa a produção de sementes (Malavolta, 1979a; Malavolta, 1979b).

É fato comprovado no Brasil e em outros países tropicais o aumento da deficiência de S nos solos devido a utilização de variedades melhoradas, intensificação da agricultura, fosfatagens e calagens entre outras práticas. O aumento considerável no uso de fórmulas ou adubos concentrados apenas em NPK, isentos de enxofre é outro fator a se destacar (Vitti, 1986; 1989; Raij, 1988). Todos

estes fatores são agravantes na deficiência deste elemento, com reflexos negativos na produção e na qualidade do produto colhido.

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 desta forma a deficiência de enxofre no solo (Bissani & Tedesco, 1986; Malavolta & Paulino, 1987).

Os solos das regiões tropicais apresentam, naturalmente, baixa disponibilidade de enxofre (Neptune et al., 1975), sendo que na realidade está sendo constatada uma redução progressiva na disponibilidade do nutriente aos vegetais, em áreas com agricultura intensiva. Malavolta & Paulino (1987) relatam que 55% do solo da América tropical é deficiente em S, e cerca de dois terços dos solos analisados são muito pobre em S (menos que 5 mg kg^{-1} de S-SO_4) ou pobres ($5\text{-}10 \text{ mg kg}^{-1}$ de S-SO_4).

A causa da falta de enxofre no solo e no adubo provoca o aparecimento de sintomas de carências nas plantas destacando o amarelecimento nas folhas novas, cores anormais nas folhas e no caule, folhas pequenas, enrolamento das margens das folhas, desfolhamento, internódios curtos, diminuição no florescimento, raízes mal desenvolvidas, pequena nodulação e podendo causar a morte da planta e um prejuízo para o agricultor (Malavolta, 1979a).

1.1.3. Enxofre e seus Isótopos

O uso de isótopos estáveis em pesquisa permite estudos do ciclo dos elementos essenciais às plantas a partir da técnica de diluição isotópica. Com desenvolvimento de técnicas de medidas para isótopos estáveis, sobretudo a espectrometria de massas, associado a oferta de compostos químico marcados, decorrentes dos avanços conseguidos com métodos de enriquecimento isotópico (B, N, S entre outros), tais estudos têm se ampliado e permitido a investigação de fatores que têm contribuído significativamente para o aumento da produtividade agrícola (Hamilton et al., 1991; Trivelin et al., 2002).

O enxofre apresenta quatro isótopos estáveis (^{32}S , ^{33}S , ^{34}S e ^{36}S) e sete radioisótopos. A abundância natural dos isótopos e as meias vidas dos radioisótopos podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1. Isótopos estáveis e radioativos do enxofre (S).

Massa	Abundância (%)	Meia vida (tempo)	Decaimento	Energia (mev)
29	..	0,19 s	β^+ (β^+ +p)	
30	..	1,4 s	β^+	6,144
31	..	2,7 s	β^+	5,396
32	95,02
33	0,75
34	4,21
35	..	88 d	β^-	0,167
36	0,02
37	..	5,06 m	β^-	4,865
38	..	2,87 h	β^-	2,94
39	..	11,5 s	β^-	6,8

Fonte: Krouse et al., 1996; Weast, 1986

* As letras representam: s, segundos; d, dias; m, minutos; h, horas

A maioria dos estudos já realizados utilizando S como traçador têm empregado o radioisótopo ^{35}S , sendo este de grande utilidade em pesquisas envolvendo o nutriente (Lal & Dravid, 1990; Arora et al., 1990; Sharma & Kamath, 1991; Bansal et al., 1993; Patnaik' & Santhe, 1993).

Todavia os compostos marcados no isótopo estável ^{34}S apresentam algumas vantagens, podendo-se destacar: não serem radiativos; os experimentos não são limitados pelo tempo por não haver decaimento radioativo; o material em estudo não é exposto à radiação, portanto nenhuma medida de segurança contra radiação é necessária. Atualmente não deve ser esquecida a tendência em nível internacional, de utilizar, quando possível, técnicas não radioativas em pesquisas com traçador isotópico, especialmente em trabalho de campo.

Os primeiros estudos com o uso do traçador com o isótopo estável ^{34}S foram desenvolvidos por Hamilton et al. (1991) e Awonaike et al. (1993) e constitui-se numa alternativa para avaliações da dinâmica do enxofre no sistema solo-planta. Recentemente os laboratórios dos EUA e Europa passaram a produzir compostos enriquecidos no isótopo ^{34}S .

No Brasil os primeiros estudos objetivando a separação dos isótopos de enxofre (especialmente ^{34}S) foram iniciados por Bendassolli et al. (1997), onde desenvolveram trabalho, utilizando-se da reação de troca isotópica entre solução de ácido sulfuroso e ânions bissulfito adsorvidos em resinas aniônicas.

A obtenção de $\text{S-}^{34}\text{SO}_{2\text{aq}}$ possibilitou a produção de vários compostos marcados entre eles: o $\text{H}_2^{34}\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2^{34}\text{SO}_4$, $\text{Na}_2^{34}\text{SO}_4$ (Maximo et al., 2000; Rossete, 2002). Os pesquisadores da área agrônômica tem empregado a técnica isotópica, e os compostos marcados, na elucidação de aspectos relacionados ao

ciclo de vários elementos dentre eles o nitrogênio e o enxofre em avaliações da utilização destes nutrientes por culturas.

No Brasil o primeiro estudo de nutrição de plantas utilizando a técnica isotópica com ^{34}S foi realizado no CENA/USP, onde avaliou-se a utilização do enxofre adicionado ao solo como fertilizante, pelo arroz e *Crotalaria juncea*, num experimento em vaso e em condições de casa de vegetação (Trivelin et al., 2002). Nesse trabalho não foi possível a realização do balanço da dinâmica do enxofre no sistema solo-planta, devido a ausência de método para determinação de ^{34}S em amostras de solo.

1.2. OBJETIVO

Esse trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de um método que possibilite a análise isotópica de S (% em átomos de ^{34}S), em amostras de solo, por espectrometria de massas, empregando reagentes simples e de fácil manipulação e gerenciamento dos resíduos químico.

O desenvolvimento do plano em apreço compreende quatro etapas: a) oxidação de S-Orgânico à S-Sulfato, em amostras de solo, por via seca e úmida; b) extração das três frações de sulfato disponível; c) montagem e otimização de um sistema de análises em fluxo (FIA); d) determinação isotópica de S (% em átomos de ^{34}S) a partir do $^{34}\text{SO}_2$, por espectrometria de massas.

Capítulo 2

Coleta e Classificação dos solos

2.1. MATERIAL

2.1.1. Equipamentos

Os equipamentos listados foram necessários no desenvolvimento do trabalho, estando a maioria deles em funcionamento no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP.

Balança eletrônica digital modelo ER-182A, range 0,0001g, marca And; balança eletrônica digital faixa 28 - 280g, marca TECNAL; estufa ventilada, marca Marconi; moinho de bola, marca Marconi.

2.2. COLETA E CLASSIFICAÇÃO DOS SOLOS

Para avaliar o método de determinação de S-Total foram utilizados diferentes tipos de textura de solo, arenoso e argiloso. As amostras de solos foram coletadas no horizonte superficial (0-20 cm) em diferentes cidades do interior do estado de São Paulo. A classificação dos solos foi realizada conforme as normas do Sistema Brasileiro de Classificação de solos (EMBRAPA, 1999).

Nos diferentes tipos de solo foi necessária a utilização de uma nomenclatura que será empregado no trabalho. Na Tabela 2 pode-se observar os diferentes tipos de solo, o local onde foram realizadas as coletas e a nomenclatura correspondente.

Tabela 2: Tipo de solo, nomenclatura e as cidades onde foram realizadas as coletas das amostras.

Solo *	Nomenclatura	Cidade
LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico	LVe	Ribeirão Preto
NEOSSOLO QUARTZARÊNICO Órtico	NQo	Cravinhos
NITOSSOLO VERMELHO Eutroférico	NVe	Ribeirão Preto
LATOSSOLO VERMELHO ESCURO Distrófico	LVEd	Piracicaba
ARGISSOLO VERMELHO AMARELO Distrófico	AVAd	Piracicaba
ARGISSOLO VERMELHO ESCURO Distrófico	AVEd	Piracicaba

* Sistema Brasileiro de Classificação de solos (EMBRAPA, 1999).

As amostras de solo utilizadas no experimento de validação do método de conversão de S-Orgânico a S-Inorgânico para a determinação de enxofre, utilizando $K_2^{34}SO_4$ enriquecido no isótopo ^{34}S , foram obtidas nas usinas São Martinho (Pradópolis-SP) e Santa Adélia (Jaboticabal-SP).

2.2.1. Preparo das amostras de solos

Para a determinação de S-Total os solos foram secos em estufa ventilada a 60°C por 48 horas e posteriormente realizada a sub-amostragem. Deve-se ressaltar a importância da sub-amostragem nas amostras de solo principalmente para a determinação de enxofre, devido a baixa concentração do elemento disponível no solo (mg Kg^{-1} de S).

Com o auxílio de um moinho de bola, as amostras de solos foram pulverizadas por aproximadamente 3 minutos ou até que estejam com a textura inferior a 50 μm (Raij et al., 2001).

Com relação às análises de S-Sulfato disponível os solos foram secos ao ar, na seqüência foram peneirados com auxílio de uma peneira de 2 mm.

2.2.2. Análise Química dos solos coletados

Nos solos coletados foram realizadas análises químicas para verificar a características de cada solo em estudo. As determinações de matéria orgânica (MO), cátions trocáveis (Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^{+} e $\text{Al}^{+3}+\text{H}$), macronutriente (P) e os micronutrientes (Fe, Mn, Zn e Cu) foram realizadas segundo Raij et al. (2001). Estas análises foram realizadas no laboratório de fertilidade do solo do CENA/USP e no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.3.1. Análise Química dos solos coletados

Nas Tabelas 3 e 4 podem-se observar os dados analíticos que caracterizam cada um dos solos utilizados. As amostras foram coletadas no horizonte A, no perfil de 0-20 cm.

Tabela 3: Análise química das amostras de solo realizadas no laboratório de fertilidade do solo do CENA/USP.

Solos	P mg dm ⁻³	M.O g dm ⁻³	Ca mmolc dm ⁻³	Mg mmolc dm ⁻³	K mmolc dm ⁻³	Al+H mmolc dm ⁻³
LVe	67,6	24,5	11,4	4,4	5,3	77,9
NQo	19,3	10,8	5,8	3,4	0,6	18,9
NVe	9,6	29,6	24,2	12,3	2,4	63,3
LVEd	20,7	18,3	36,6	30,5	1,7	29,9
AVAd	54,4	20,3	66,0	37,9	3,3	14,9
AVEd	16,8	19,2	35,8	17,3	2,0	28,5

Tabela 4: Análise de micronutrientes e pH das amostras de solo.

Solos	pH	Cu mg dm ⁻³	Fe mg dm ⁻³	Mn mg dm ⁻³	Zn mg dm ⁻³
LVe	4,4	11,8	12,0	65,3	1,7
NQo	4,7	0,4	70,7	3,8	0,7
NVe	4,6	16,7	14,9	150,6	1,3
LVEd	5,4	1,4	24,4	29,9	1,2
AVAd	6,5	4,9	41,4	27,2	5,5
AVEd	5,2	5,7	32,8	55,3	4,2

Com os dados da Tabela 3 foi possível calcular a soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC) e a saturação por bases (V), e os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5: Dados da soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC) e a saturação por bases (V).

Solos	SB mmolc dm ⁻³	CTC mmolc dm ⁻³	V %
LVe	21,1	98,9	21,3
NQo	9,8	28,8	34,2
NVe	39,0	102,3	38,1
LVEd	68,8	98,7	69,7
AVAd	109,2	124,2	88,0
AVEd	55,1	83,6	65,8

O solo arenoso NEOSSOLO QUARTZARÊNICO Órtico (NQo) tem o índice mais reduzido do teor da matéria orgânica (M.O), soma de bases (SB) e da capacidade de troca (CTC). Os valores podem ser observados nas Tabelas 3 e 5.

Na Tabela 5 pode-se ainda observar que existe variação nos valores da saturação por bases (V) nos solos estudados. O LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico tem 21,3% de saturação por bases, este solo é Distrófico no horizonte superficial (A). O solo que tem a maior saturação por bases (88%) é o ARGISSOLO VERMELHO AMARELO Distrófico, mas este solo é Eutrófico no horizonte superficial A (0-20 cm).

Com os dados das Tabelas 3, 4 e 5 pode-se verificar que os solos apresentam consideráveis variações em relação a vários parâmetros avaliados. O teor da matéria orgânica (M.O) apresentam valores que variam de 10,8 a 29,6 g dm⁻³

(Tabela 3) e este é um dos parâmetros importantes com relação as análises de enxofre total.

As amostras de solo utilizadas no experimento de validação do método determinação de enxofre foram coletadas no horizonte A, no perfil de 0-20 cm. Os resultados das análises química das amostras de solo da Usina São Martinho e Santa Adélia encontram-se na Tabela 6. Na Tabela 7 podem ser observados os valores da soma de bases, capacidade de troca catiônica e a saturação por bases.

Tabela 6. Análises química das amostras de solo realizadas no Instituto Agronômico de Campinas.

Solos	pH	M.O g dm ⁻³	P mg dm ⁻³	Ca mmolc dm ⁻³	Mg mmolc dm ⁻³	K mmolc dm ⁻³	Al+H mmolc dm ⁻³
LVe- USM ⁽¹⁾	5,2	31	42	31	9	3,1	34
LVd- USA ⁽²⁾	5,1	16	15	11	5	3,9	28

(1) Usina São Martinho em Pradópolis-SP

(2) Usina Santa Adélia em Jaboticabal-SP

Tabela 7: Dados da soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC) e a saturação por bases (V).

Solos	SB mmolc dm ⁻³	CTC mmolc dm ⁻³	V %
LVe-USM ⁽¹⁾	43,1	77,4	56
LVd-USA ⁽²⁾	19,9	47,7	42

(1) Usina São Martinho em Pradópolis-SP

(2) Usina Santa Adélia em Jaboticabal-SP

Os valores de matéria orgânica (M.O) no horizonte A (0-20) apresentados na Tabela 6, estão dentro daqueles encontrados no Boletim Técnico 100 do IAC que variam de 16 a 30 g dm⁻³ para textura média, equivalente a área em estudo.

Os solos em estudos apresentam valores de pH que variam de 4,4 a 6,5 sendo que os principais fatores que afetam a adsorção do sulfato no solo são: pH do solo, tipo e teor de minerais.

2.4. CONCLUSÃO

Pode-se verificar que os solos apresentam consideráveis variações em relação a vários parâmetros avaliados, O teor da matéria orgânica (M.O) variaram de 10,8 a 31 g kg⁻¹, sendo este um dos principais parâmetros relacionados com teor de enxofre total em solo.

Capítulo 3

Determinação de enxofre total e sulfato disponível

3.1. INTRODUÇÃO

3.1.1. O enxofre no solo

O enxofre no solo pode ser encontrado em duas formas básicas como S-Inorgânico e S-Orgânico. O enxofre na forma inorgânica (S-Sulfato) pode estar prontamente disponível à planta, mas o enxofre orgânico é responsável por 95% do enxofre total na maioria dos solos, o que é indicado pelas estreitas relações entre C orgânico, N total e S total (Beiderbeck, 1978).

O enxofre orgânico pode ser encontrado em três formas: composto com ligação S-O (sulfato de ésteres); compostos com ligação S-C (aminoácidos) e compostos com S inerte ou residual (Beiderbeck, 1978; Neptune et al., 1975).

O enxofre disponível no solo (S-Inorgânico) pode ser definido como a quantidade do elemento que está pronto a ser absorvido pela planta e que pode estar presente em três frações: sulfato da solução do solo; S-Inorgânico adsorvido as cargas positivas dos colóides e a fração do S-Orgânico que é mineralizado durante o desenvolvimento da cultura (Bettany et al., 1973).

Segundo Reisenauer et al. (1973), os extratores utilizados para extrair o enxofre disponível no solo podem ser classificados de acordo com a fração a ser extraída; fração de sulfato prontamente solúvel; fração do sulfato solúvel e parte do sulfato adsorvido no complexo sortivo do solo e a fração do sulfato solúvel, parte do sulfato adsorvido e porções do enxofre orgânico. Com a finalidade de simplificar a descrição foi definida a nomenclatura: FI (sulfato solúvel); FII (FI e o adsorvido); FIII (FI, FII e a fração orgânica).

3.1.2. Métodos de conversão do S-Orgânico à S-Inorgânico

A dificuldade principal em estabelecer um método de determinação de S -Total, para as amostras de solo, esta na conversão de todo o S-Orgânico à S-Inorgânico (sulfato), pois pouco se sabe a respeito da natureza dos complexos orgânicos. Starkey (1950) escreveu: "Uma grande variedade de compostos orgânicos de enxofre está presente na matéria orgânica como proteínas e outros compostos produzidos por plantas superiores, animais e microorganismos". Freney (1986) classificou o S-Orgânico no solo em três frações: compostos não ligados ao carbono, principalmente com ligação S-O que seriam os ésteres de sulfato; compostos com ligação S-C como os aminoácidos cisteína e metionina e os compostos de S inerte ou residual como as sulfonas alifáticas (sulfona metionina) e ácidos alifáticos sulfônicos (ácidos cisteico).

Existem vários métodos de determinação de S-Total em amostras de solo, onde as formas de enxofre são oxidadas a sulfato. Os procedimentos mais empregados envolvem a oxidação via úmida e via seca. A oxidação via úmida é dividida em digestão ácida e alcalina. A digestão ácida é um procedimento muito utilizado, onde as amostras de solo em presença de ácido nítrico e perclórico é aquecido em bloco digestor a temperatura de 190 a 210 °C (Page et al., 1982). A digestão alcalina tem como agente oxidante alcalino a solução de hipobromito de sódio aquecido em bloco digestor a 250 °C (Tabatabai & Bremner, 1970). A digestão via ácida requer cuidados, pois podem ocorrer explosões, fogo e perda de material, tornando-as inconveniente.

Outro método de oxidação via úmida e ácida utilizam-se de ácido nítrico e clorídrico (água régia), onde a oxidação do S-Orgânico à S-Sulfato, nas

amostras de solo, ocorre em presença desses ácidos, à temperatura de 95 °C em bloco digestor sob refluxo (Rajj et al., 2001).

A oxidação via seca utilizando agentes oxidantes alcalinos é um dos métodos mais simples para a oxidação S-Orgânico, presente no solo, à S-Inorgânico na forma de sulfato. Nesse método as amostras de solo em presença de agente oxidante alcalino, bicarbonato de sódio e óxido de prata, são oxidadas à temperatura de 550 °C (Steinbergs et al., 1962). Outro agente alcalino que pode ser empregada é a mistura Eschika que contém 17 % de carbonato de sódio, 66 % de óxido de magnésio e 17 % de carbonato de potássio (Mott et al., 1953).

3.1.3. Extração do S-Inorgânico

Segundo Reisenauer et al. (1973), os extratores utilizados para extrair o enxofre disponível no solo podem ser classificados de acordo com a fração a ser extraída. Estas frações são definidas como: sulfato prontamente solúvel; sulfato solúvel e parte do sulfato adsorvido no complexo sortivo do solo e o sulfato solúvel, parte do sulfato adsorvido e porções do enxofre orgânico. Com a finalidade de simplificar a descrição do texto foi definida a nomenclatura: FI (sulfato solúvel); FII (FI e o adsorvido); FIII (FI, FII e a fração orgânica).

Para a quantificação do sulfato disponível, em cada fração do solo, são utilizados extratores específicos. Para a obtenção da fração FI (sulfato solúvel) utiliza-se água desionizada e solução 0,15% (m/v) de cloreto de cálcio como extrator (Williams & Steinbergs, 1959).

A fração FII é obtida utilizando-se como extrator solução de fosfato de sódio monobásico, fosfato de potássio e fosfato de cálcio dibásico contendo 500 mg L⁻¹ de P (Hoeft et al., 1973; Fox et al., 1964; Raij et al., 2001).

Com o objetivo de quantificar todo sulfato disponível do solo são utilizados extratores específicos para a obtenção da fração FIII. Esta é obtida utilizando-se como extrator solução de 0,5 mol L⁻¹ de acetato de amônio em 0,25 mol L⁻¹ de ácido acético e solução 0,5 mol L⁻¹ (pH 8,5) de bicarbonato de sódio (Vitti, 1989; Kilmer et al., 1960).

3.2. MATERIAL

3.2.1. Equipamentos

Os equipamentos listados foram necessários no desenvolvimento do trabalho: Espectrofotômetro, Femto 600S; Forno de microondas; Espectrômetro de emissão atômica por plasma induzido (ICP-AES).

Agitador e aquecedor magnético, Marconi, mod 085; balança eletrônica digital modelo ER-182A, range 0,0001g, marca And; balança eletrônica digital faixa 28 - 280g, marca TECNAL; Mufla modelo 318-24 com faixa de temperatura de 100 a 1.200°C, marca QUIMIS; mesa agitadora, marca Marconi; chapa aquecedora.

3.2.2. Vidrarias

As principais vidrarias utilizadas foram: balão volumétrico de 0,05; 0,1; 0,2; 1 e 2 litros, proveta graduada de 0,025; 0,05 e 0,1 litros, Becker graduado, pipetas volumétrica, micro-pipeta 0-300; 200-1000 μL , kitasato, entre outros.

3.2.3. Reagentes

No trabalho foram utilizados os seguintes reagentes: ácido clorídrico, acético e nítrico, cloreto de bário e cálcio, carvão ativado, sulfato de bário, amônio e sódio, L-Cysteina, Mistura Eschika, acetato de amônio, carbonato de sódio e potássio, óxido de magnésio, bicarbonato de sódio, óxido de prata todos de grau analítico.

3.3. PARTE EXPERIMENTAL

3.3.1. Preparo de soluções

As soluções foram preparada com água desionizada obtida por troca iônica com resistividade de 5-10 mΩ cm⁻¹.

Uma solução estoque de 1000 mg L⁻¹ de SO₄ foi preparada dissolvendo 1,376 g de (NH₄)₂SO₄ 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 estoque de 500 mg L⁻¹ de S foi preparada dissolvendo 1,03 g de (NH₄)₂SO₄ 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 de L-Cysteina 500 mg L⁻¹ de S foi preparada dissolvendo 378,0mg de L-Cysteina 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 estoque de 500 mg L⁻¹ de S foi preparada dissolvendo 1,10 g de Na₂SO₄ 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 ácido clorídrico 10 mol L⁻¹ foi preparada dissolvendo 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 6 mol L^{-1} contendo 20 mg L^{-1} de S foi preparada dissolvendo 497,5 mL de HCl p.a em aproximadamente 300 mL de água e na seqüência dissolveu 108,9 mg de K_2SO_4 . Após a dissolução transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água desionizada.

Solução de acetato de amônio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido acético $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo 39,79 g de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ em aproximadamente 500 mL de água e na seqüência adicionou-se 15 mL de CH_3COOH . 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 1,5 g de CaCl_2 em aproximadamente 500 mL de água e na seqüência transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água desionizada.

Solução de bicarbonato de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 8,5) foi preparada dissolvendo 42 g de NaHCO_3 em aproximadamente 500 mL de água e na seqüência transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água desionizada.

3.3.2. Procedimento analítico

3.3.2.1. Determinação de S-Total em amostras de solo

A eficiência da oxidação do S-Orgânico à S-Inorgânico, para determinação de S-Total em amostras de solo, foi avaliada com o emprego de

métodos de oxidação por via úmida e seca. A eficiência da oxidação também foi verificada com a utilização de um sedimento certificado da NIST e uma amostra de L-Cysteina Merck p.a (S-Orgânico).

Após o estabelecimento do método mais adequado de oxidação do S-Orgânico à S-Inorgânico (sulfato) foi realizada a precipitação do sulfato como BaSO_4 empregando solução 10 % (m/v) de BaCl_2 . A partir do BaSO_4 foi obtido o gás SO_2 e posteriormente realizou-se a determinação isotópica de S (% em átomos de ^{34}S) por espectrometria de massas.

3.3.2.1.1. Oxidação via úmida

3.3.2.1.1.1. Digestão nítrica em sistema fechado

Nas amostras dos diferentes tipos de estrutura de solo foram realizadas as quantificações de S-Total, utilizando a oxidação via úmida. O método consiste na digestão nítrica, em sistema fechado, com emprego de bombas de Teflon com auxílio do forno de microondas. A quantificação do S no extrato foi realizada por espectrômetro de emissão atômica por plasma induzido o ICP-AES (EPA 3051, Rajj et al., 2001). As análises foram realizadas no Laboratório de Química Analítica no CENA/USP.

O método de digestão ácida, em sistema fechado, foi utilizado como referência com o objetivo de avaliar a eficiência da oxidação do S-Orgânico à S-Sulfato quando do emprego do método por via seca (alcalina) e suas variações (parâmetros). Deve-se destacar que a massa de solo utilizada na digestão ácida (0,25 g) é muito pequena se tratando de análise isotópica.

Inicialmente adicionou-se 3 mL de ácido nítrico concentrado nas amostras de solo (0,25 g) deixando em repouso por 15 minutos antes de proceder o fechamento dos frascos de Teflon. Após esta etapa foi utilizado o forno de microondas, com três programações de rampas, nas condições especificada na Tabela 8.

Tabela 8. Condições operacionais do forno de microondas.

Rampa	Tempo min	Temperatura °C	Potencia Watts
1	10	150	700
2	10	200	800
3	15	200	800

No final da programação, o frasco foi resfriado até a pressão atingir cerca de 69 kPa quando retirou-se a tampa com cuidado. Posteriormente, o volume foi ajustado para 25 mL com água desionizada e realizou-se a filtragem do extrato, utilizando papel de filtro para filtragem lenta (faixa azul). No extrato foi realizada a quantificação de S (mg kg^{-1} de solo) no espectrômetro de emissão atômica por plasma induzido (ICP-AES). Todos os ensaios foram realizados em quadruplicatas.

3.3.2.1.2. Oxidação via seca

A avaliação da eficiência da oxidação do S-Orgânico à S-Inorgânico foi realizada fazendo-se uso de três misturas oxidante: $\text{NaHCO}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$, mistura Eschika (17 % de Na_2CO_3 , 66 % de MgO e 17 % de K_2CO_3) e $\text{NaHCO}_3 + \text{CuO}$. A

terceira mistura oxidante ($\text{NaHCO}_3 + \text{CuO}$) foi empregada com a finalidade de se avaliar um método menos dispendioso para a determinação de S-Total.

3.3.2.1.2.1. Mistura oxidante de NaHCO_3 e Ag_2O

O S-Orgânico presente nas amostras de solo foi oxidado a S-Sulfato por combustão térmica, na presença dos reagentes NaHCO_3 (meio alcalino) e o oxidante Ag_2O (Steinbergs, 1962). Inicialmente foi avaliada a influência da razão entre o enxofre (S) na amostra e a mistura oxidante na relação em massa de 1 : 1000 e 1 : 2000 (S: $\text{NaHCO}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$). A razão em massa entre os reagentes foi de 10/1 ($\text{NaHCO}_3/\text{Ag}_2\text{O}$). No plano inicial foi proposto a avaliação da influencia da temperatura (550 e 800 °C) e o tempo de queima (5 e 8 horas) na oxidação da amostra na mufla. As temperaturas efetivamente utilizadas foram de 550 e 650 °C.

Em cápsulas de porcelana de 11 cm de diâmetro foi adicionado e homogeneizada a amostra de solo (5,0 g) e a mistura de $\text{NaHCO}_3/\text{Ag}_2\text{O}$ na proporção de 2,0/0,2 g. Para a obtenção da curva analítica de 2,5, 5, 10, 15 e 20 mg L^{-1} de S-SO_4^{2-} realizou-se a queima dos reagentes NaHCO_3 e Ag_2O (branco) nas mesmas condições das amostras.

Para verificar a eficiência da oxidação alcalina, por via seca, foram preparadas soluções contendo 500 mg L^{-1} de L-Cysteina, 500 mg L^{-1} de Na_2SO_4 e 1000 mg L^{-1} de L-Cysteina e Na_2SO_4 . As soluções foram colocadas em cápsula de porcelana sobre a mistura $\text{NaHCO}_3/\text{Ag}_2\text{O}$. Após homogeneização das amostras e dos brancos foi realizada a combustão a 550 e 650 °C em mufla por 5 e 8 horas, ocorrendo a oxidação S-Orgânico, presente no solo, à forma de S-Sulfato (S-SO_4^{2-}).

Ao final do tempo estabelecido e após o resfriamento das amostras à temperatura ambiente foi efetuada a solubilização do sulfato com 30 mL de solução de CaCl_2 0,15% (m/v) e 1,0 g de carvão ativado. A utilização do carvão ativado tem como finalidade remover possíveis resíduos de coloração proveniente dos solos. Esse procedimento foi realizado com agitação por 15 minutos a 200 rpm. Ao final do período de agitação foi adicionado mais 20 mL de solução de CaCl_2 e procedida a filtração do extrato com filtro de éster de celulose de $45 \cdot 10^{-3}$ m de diâmetro e malha $0,45 \cdot 10^{-6}$ m.

Após a filtração foi realizada a quantificação do S-SO_4^{2-} , utilizando-se de uma alíquota de 10 mL a qual se adicionou 1 mL de solução $6,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl contendo 20 mg L^{-1} de S.

Em detecção por turbidimetria é necessária uma determinada quantidade de sulfato para iniciar o processo de nucleação. A solução de enxofre adicionada à amostra foi um recurso utilizado para melhorar a sensibilidade analítica.

Após 30 segundos foi acrescentado 0,50 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e posteriormente a solução foi transferida para a cubeta do espectrofotômetro onde realizou-se a leitura em 420 nm, em um tempo máximo de 8 minutos após a adição de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Com a leitura da turbidez do filtrado e com emprego da curva analítica, foi possível determinar a concentração de S-SO_4^{2-} , correspondente ao enxofre total presente nas amostras de solo (Raij et al., 2001).

3.3.2.1.2.2. Mistura oxidante de NaHCO_3 e CuO

O S-Orgânico presente nas amostras de solo foi oxidado a S-Sulfato por combustão térmica na presença dos reagentes NaHCO_3 e CuO . Inicialmente foi

proposto a avaliação da influência da razão entre o S na amostra e a mistura oxidante na relação em massa de 1 : 1000 (S: NaHCO₃ + CuO). A razão em massa entre os reagentes foi de 10/1 e 10/2 (NaHCO₃/CuO). A influência da temperatura (550 e 650 °C) foi avaliada na oxidação da amostra.

Para verificar a eficiência da oxidação alcalina, por via seca, foram preparadas soluções contendo 500 mg L⁻¹ de L-Cisteína, 500 mg L⁻¹ de Na₂SO₄ e 1000 mg L⁻¹ de L-Cisteína e Na₂SO₄. As soluções foram colocadas em cápsula de porcelana sobre a mistura NaHCO₃/CuO.

Em cápsulas de porcelana de 11 cm de diâmetro foi adicionado e homogeneizada a amostra de solo (5,0 g) e a mistura de NaHCO₃/CuO na proporção de 2,0/0,2 e 2,0/0,4 g. A obtenção da curva analítica de 2,5, 5, 10, 15 e 20 mg L⁻¹ de S-SO₄⁻² foi realizada conforme descrito no item 3.3.2.1.2.1.

Após homogeneização das amostras e dos brancos foi realizada a combustão por 8 horas em mufla. A solubilização e a determinação do sulfato das amostras foram procedidas conforme descrito no item 3.3.2.1.2.1.

3.3.2.1.2.3. Mistura Eschika (Na₂HCO₃, MgO e K₂CO₃)

O S-Orgânico presente nas amostras de solo foi oxidado a S-Sulfato por combustão utilizando mistura Eschika. Foi realizada a avaliação da influência da razão da massa de amostra de solo e a massa de mistura Eschika (1:1, 1:2 e 1:4) (Mott et al., 1953).

Em cápsulas de porcelana de 11 cm de diâmetro foi adicionado e homogeneizada 5 g de amostra de solo, contendo aproximadamente 600 a 900 µg de S, e 10 g de mistura Eschika, relação 1:2. Para a obtenção da curva analítica de

5, 10, 15 e 20 mg L⁻¹ de S-SO₄⁻² realizou-se a queima da mistura Eschika (branco).

Após homogeneização das amostras e dos brancos foi realizada a combustão a 800 °C em mufla por 1 hora, ocorrendo a oxidação S-Orgânico, presente no solo, à forma de S-Sulfato.

Após a queima foi efetuada a solubilização e a determinação do sulfato das amostras conforme descrito no item 3.3.2.1.2.1.

3.3.2.2. Determinação de S-Sulfato disponível

A quantificação do sulfato disponível do solo (fração FIII) foi realizada utilizando como extrator solução 0,5 mol L⁻¹ de NH₄OAc em 0,25 mol L⁻¹ de HAc e solução 0,5 mol L⁻¹ (pH 8,5) de NaHCO₃ (Vitti, 1989; Kilmer et al, 1960).

Em um frasco de vidro foi pesado 10 g de amostra de solo adicionando 25 mL de solução extratora e 0,25 g de carvão ativado. Posteriormente com auxílio de mesa agitadora o frasco contendo a amostra foi agitado por 40 minutos à 200 rpm, ocorrendo a extração do S-Sulfato disponível do solo. A solução extratora foi utilizado para a obtenção da curva analítica 5, 10, 15 e 20 mg L⁻¹ de S-SO₄⁻².

O extrato foi filtrado utilizando filtro qualitativo de filtragem lenta de 18,5 cm de diâmetro, e a quantificação do S-SO₄⁻² por turbidimetria, conforme descrito no item 3.3.2.1.2.1.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.4.1. Determinação de S-Total em amostras de solo

A dificuldade em se estabelecer o método mais adequado de oxidação de S-Orgânico à S-Sulfato, objetivando a determinação de S-Total, em amostras de solo, esta relacionada principalmente com a variabilidade dos resultados analíticos em função dos métodos utilizados.

A comparação entre os métodos propostos e o método de digestão ácida, via úmida, foi realizada com auxílio da análise de variância ao nível de 5 %, teste Tukey.

3.4.1.1. Digestão nítrica em sistema fechado

Os resultados de S-Total nas amostras dos solos (mg Kg^{-1} de S) empregando a digestão nítrica em sistema fechado, com bombas de Teflon em forno de microondas, podem ser observados na Tabela 9. Essas análises foram realizadas em quadruplicada no Laboratório de Química Analítica no CENA/USP.

Os dados apresentados na Tabela 9 foram utilizados como referência, com o objetivo de avaliar a eficiência da etapa de oxidação S-Orgânico à S-Sulfato para os diferentes métodos propostos no trabalho.

Tabela 9. Determinação S-Total por digestão nítrica em sistema fechado (n=4).

Solos	Concentração mg Kg ⁻¹ de S
LVe	322,0±6,6
NQo	79,2±8,2
NVe	198,9±7,9
LVEd	192,2±2,9
AVAd	155,8±6,7
AVEd	164,1±2,6

Onde: LVe = LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico; NQo = NEOSSOLO QUARTZARÊNICO Órtico; NVe = NITOSSOLO VERMELHO Eutroférico; LVEd = LATOSSOLO VERMELHO ESCURO Distrófico; AVAd = ARGISSOLO VERMELHO AMARELO Distrófico; AVEd = ARGISSOLO VERMELHO ESCURO Distrófico.

3.4.1.2. Mistura oxidante de NaHCO₃ e Ag₂O

Algumas modificações, referentes ao plano inicial, foram necessárias devido as dificuldades no procedimento analítico, principalmente com relação a temperatura de queima. Com a temperatura de 750 e 800°C observou-se a fusão do bicarbonato impossibilitando a utilização da mistura. Desta maneira, optou-se pela avaliação das temperaturas de 550 e 650 °C.

A utilização da solução de S-Inorgânico (Na₂SO₄) teve a finalidade de verificar possíveis perdas no processo (oxidação, extração, filtração e determinação analítica). Para verificar a eficiência da oxidação do S-Orgânico à S-Inorgânico foi utilizada uma solução de L-Cysteina, aminoácido contendo ligação S-C.

A Tabela 10 apresenta as concentrações de enxofre e o rendimento da oxidação alcalina nas soluções de L-Cysteina e Na₂SO₄, após a combustão a 550 °C por 8 horas utilizando 2,0 g de NaHCO₃ e 0,2 g de Ag₂O.

Com a utilização da mistura de L-Cysteina e Na₂SO₄ pode-se verificar que o rendimento do processo de oxidação foi da ordem de 99 ± 2%, com o emprego da mistura de prata. Esses dados mostram uma recuperação quantitativa do enxofre (S) proveniente da mistura utilizada (L Cysteina + Na₂SO₄).

Tabela 10. Concentração de enxofre e rendimento da oxidação alcalina utilizando as misturas de NaHCO₃/Ag₂O (n=5).

Amostras	Concentração mg L ⁻¹ de S-SO ₄	Recuperação de S ⁽¹⁾ %
L-Cysteina	475,6 ± 4,9	95 ± 1
Sulfato de sódio	472,5 ± 9,5	95 ± 2
L-Cysteina + Sulfato de sódio	989,5 ± 16	99 ± 2

(1) Considerando os valores teóricos (500 e 1000 mg L⁻¹ de S-SO₄)

n: número de repetições para cada amostra

Com os resultados satisfatórios apresentados na Tabela 10 foram iniciados os testes com as amostras de solo listados no capítulo 2 (Tabela 2). Na Tabela 11 pode-se observar os dados obtidos de S-Total, nos solos de interesse, utilizando temperatura de oxidação de 550 °C e tempo de reação de 5 e 8 horas.

Tabela 11. Dados S-Total (mg Kg^{-1} de S) por digestão ácida e alcalina, utilizando mistura oxidante de $\text{NaHCO}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$ (2,0/0,2 g) e temperatura de 550 °C (n=4).

Solos	Digestão ácida	Digestão alcalina	
		5 hs	8hs
LVe	322,0±6,6 a	259,1±18,1 b	319,6±15,0 a
NQo	79,2±8,2 a	34,9±5,5 b	67,0±9,4 a
NVe	198,9±7,9 a	198,3±6,4 a	227,2±7,7 a
LVEd	192,2±2,9 a	143,5±5,7 b	191,4±14,6 a
AVAd	155,8±6,7 a	105,1±13,9 b	156,3±2,2 a
AVEd	164,1±2,6 a	137,9±3,3 a	164,6±6,1 a

Médias entre os tratamentos em linhas seguida de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey

Com os resultados da análise estatística (Tabela 11), podemos observar que não há diferença significativamente (confiabilidade de 95%) entre os métodos via úmida (digestão ácida) e via seca (oxidação alcalina) quando utilizou-se temperatura de queima de 550 °C e tempo de 8 horas.

Com relação aos testes onde empregou-se a temperatura de queima de 550°C no tempo de reação de 5 horas os dados da estatística (Tabela 11) indicam que os métodos diferem entre si ao nível de 5%, na maioria (quatro) dos solos avaliados.

Os resultados utilizando a oxidação alcalina com a temperatura de 650 °C e tempo de queima de 8 e 5 horas encontram-se na Tabela 12. Esses resultados foram obtidos utilizando 2,0 g de NaHCO_3 e 0,2 g de Ag_2O .

Tabela 12. Dados S-Total (mg Kg^{-1} de S) por digestão ácida e alcalina, utilizando mistura oxidante de $\text{NaHCO}_3 + \text{Ag}_2\text{O}$ (2,0/0,2 g) a temperatura de 650°C ($n=4$).

Solo	Digestão ácida	Digestão alcalina	Digestão alcalina
		5 hs	8 hs
LVe	322,0±6,6 ab	288,3±6,5 a	358,6±18,3 b
NQo	79,2±8,2 a	38,5±3,4 b	54,8±3,4 c
NVe	198,9±7,9 a	198,0±8,2 a	264,9±19,3 b
LVEd	192,2±2,9 a	116,6±12,6 b	154,9±34,0 a
AVAd	155,8±6,7 a	69,2±5,8 b	141,4±14,9 a
AVEd	164,1±2,6 a	80,7±7,9 b	119,0±18,8 c

Médias entre os tratamentos em linhas seguida de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey

Com os resultados da análise estatística (Tabela 12), podemos observar que o método por digestão ácida (via úmida) difere significativamente (confiabilidade de 95%), para a maioria dos solos, em relação ao método de oxidação alcalina (via seca) com temperatura de queima 650°C e tempo de combustão de 5 horas.

Com o incremento no tempo de reação para 8 horas os dados estatísticos da Tabela 12 ainda indicam que para três solos avaliados ocorre diferença significativa (confiabilidade de 95 %) entre os métodos (via úmida e seca). A temperatura mais elevada (650°C) pode ter favorecido as perdas de enxofre (S), fato observado em quatro dos seis solos avaliados.

Nos testes de oxidação utilizando a mistura de 4,0 g de NaHCO_3 e 0,4 g de Ag_2O (relação 1:2000) com a temperatura de queima de 550°C por 5 e 8 horas não apresentaram resultados satisfatórios pois houve um excesso de carbonato no extrato. Com isso o volume de ácido clorídrico utilizado na turbidimetria não foi

suficiente para a total liberação do carbonato, ocorrendo a formação de carbonato de bário impossibilitando a leitura no espectrofotômetro.

3.4.1.3. Mistura oxidante de NaHCO_3 e CuO

As determinações de S-Total, nas amostras dos diferentes tipos de estrutura de solo, por oxidação via seca, utilizando mistura oxidante contendo 2,0 g de NaHCO_3 e 0,2 g de CuO , razão entre o S na amostra e reagentes de 1:1000, foram realizadas avaliando a temperatura de queima de 550 e 650°C e tempo de oxidação de 8 horas.

Foram realizados os testes para verificar a eficiência da oxidação do S- Orgânico à S-Inorgânico na presença de $\text{NaHCO}_3/\text{CuO}$. Nos testes foram utilizadas soluções de Na_2SO_4 e L-Cysteina.

A Tabela 13 apresenta as concentrações de enxofre e o rendimento da oxidação alcalina nas soluções de L-Cysteina e Na_2SO_4 , após a combustão a 550 °C por 8 horas utilizando 2,0 g de NaHCO_3 e 0,2 g de CuO . Esses dados mostram uma recuperação quantitativamente do enxofre (S) proveniente da mistura utilizada (L-Cysteina + Na_2SO_4).

Tabela 13. Concentração de enxofre e rendimento da oxidação alcalina utilizando as mistura oxidante de $\text{NaHCO}_3 + \text{CuO}$ (n=5).

Amostras	Concentração $\text{mg L}^{-1} \text{ S-SO}_4$	Recuperação ⁽¹⁾ %
L-Cysteina	$460,2 \pm 16,9$	92 ± 3
Sulfato de sódio	$456,4 \pm 13,8$	92 ± 3
L-Cysteina + Sulfato de sódio	$957,7 \pm 42,9$	96 ± 4

(1) Considerando os valores teóricos (500 e $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ S-SO}_4$)

n: número de repetições para cada amostra

Com os resultados satisfatórios apresentados na Tabela 13 foram iniciados os testes com as amostras de solo apresentados no capítulo 2 (Tabela 2). Na Tabela 14 pode-se observar os dados obtidos de S-Total, nos solos de interesse, utilizando temperatura de oxidação de 550 e 650 °C e tempo de reação de 8 horas.

Na Tabela 14 podemos observar que a análise de variância indica diferença significativa somente para dois solos (NQo e NVe), entre o método por digestão ácida e o método de oxidação alcalina ($\text{NaHCO}_3 + \text{CuO}$) com temperatura de queima em 550°C e tempo de combustão de 8 horas. Para os ensaios com temperatura de oxidação de 650°C os métodos diferiram para quatro dos seis solos avaliados.

Tabela 14. Dados S-Total (mg Kg^{-1} de S) por digestão ácida e alcalina utilizando mistura oxidante de $\text{NaHCO}_3 + \text{CuO}$ (2,0/0,2 g), temperatura de 550 e 650 °C e tempo de oxidação de 8 horas (n=4).

Solos	Digestão ácida	Digestão alcalina	
		550 °C	650 °C
LVe	322,0±6,6 ab	295,1±13,1 a	352,0±25,2 b
NQo	79,2±8,2 a	44,7±8,1 b	39,9±5,2 c
NVe	198,9±7,9 a	240,7±9,4 b	235,7±4,1 a
LVEd	192,2±2,9 a	165,0±7,0 a	155,4±4,3 a
AVAd	155,8±6,7 a	130,1±1,3 a	110,3±12,9 b
AVEd	164,1±2,6 a	139,8±3,3 a	131,6±10,7 b

Médias entre os tratamentos em linhas seguida de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey

A partir dos resultados obtidos com a mistura de NaHCO_3 e CuO avalio-se a eficiência do método por via seca alterando a razão em massa entre os reagentes ($\text{NaHCO}_3/\text{CuO}$: 10/2), pois para a maioria dos solos os valores do teor de S foram inferior do método de referência, bem como aqueles obtidos as mesmas condições, 550°C e 8 horas, utilizando Ag_2O (Tabela 11). Esses dados podem indicar deficiência na oxidação, provavelmente com o fornecimento de oxigênio da fonte sólida utilizada (CuO).

Na Tabela 15 podem ser observados os resultados da determinação de S-Total alterando a razão em massa entre os reagentes ($\text{NaHCO}_3/\text{CuO}$:10/2). Os resultados obtidos mostraram que para cinco dos solos houve diferença significativa (teste Tukey a nível de 5%) quando comparado aos valores obtidos com a razão em

massa de 10/1. Os dados de S-Total utilizando o dobro de CuO (10/2) foram inferiores aos obtidos utilizando a razão 10/1.

Tabela 15. Dados de S-Total (mg Kg^{-1} de S) por digestão ácida e alcalina utilizando mistura oxidante de NaHCO_3 + CuO (razão 10/1 e 10/2), com temperatura de 550°C e tempo de 8 horas ($n=4$).

Solos	Digestão ácida	NaHCO ₃ /CuO	NaHCO ₃ /CuO
		2,0/0,2 g	2,0/0,4 g
LVe	322,0±6,6 ab	314,3±13,1 a	295,6±33,0 b
NQo	79,2±8,2 a	51,89±8,1 b	42,6±4,7 c
NVe	198,9±7,9 a	247,9±9,4 b	228,3±10,6 a
LVEd	192,2±2,9 a	172,21±7,0 a	161,9±8,6 b
AVAd	155,8±6,7 a	137,3±1,3 b	134,3±7,2 b
AVEd	164,1±2,6 a	147,04±3,3 a	134,8±3,7 b

Médias entre os tratamentos em linhas seguida de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey

3.4.1.4. Mistura Eschika (Na_2HCO_3 , MgO e K_2CO_3)

Inicialmente foi proposta a avaliação da influência da razão (massa) entre a massa de solo e de mistura Eschika (1/1, 1/2 e 1/4). Os resultados da determinação de S-Total utilizando 5 g de solo e 20 g de mistura Eschika (1/4) não foram satisfatórios, pois o excesso de carbonato no extrato impossibilitou a determinação por turbidimetria.

Os resultados de S-Total, utilizando 5 g de amostra de solo e 5 e 10 g massa de mistura Eschika (1/1 e 1/2), podem ser observados na Tabela 16. Com a

análise de variância apresentada na Tabela 16 pode-se verificar que para 50% dos solos avaliados, os métodos diferem entre si (confiabilidade de 95%).

Tabela 16. Resultados de S-Total (mg Kg^{-1} de S) por oxidação alcalina utilizando mistura Eschika (razão 1/1 e 1/2), com temperatura de 800°C e tempo de 1 hora ($n=4$).

Solos	Digestão ácida	Razão 1/1	Razão 1/2
LVe	322,0±6,6 a	331,2±6,6 a	374,6±19,7 a
NQo	79,2±8,2 a	45,9±1,0 b	45,8±2,6 b
NVe	198,9±7,9 a	264,3±28,8 b	289,7±21,3 b
LVEd	192,2±2,9 a	157,6±14,0 b	200,0±22,9 a
AVAd	155,8±6,7 a	88,6±14,5 b	97,7±14,1 b
AVEd	164,1±2,6 a	117,2±20,3 b	167,2±11,8 a

Médias entre os tratamentos em linhas seguida de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey

Ainda com os dados da Tabela 16 pode-se observar que com a alteração da razão da massa de amostra e de mistura (1/1) a maioria dos solos analisados apresentaram resultados inferiores aos obtidos com a razão 1/2, evidenciando a oxidação incompleta do S-Orgânico a S-Inorgânico.

3.4.2. Determinação de S-Sulfato disponível

A extração da fração do sulfato solúvel, adsorvida e fração orgânica foi avaliada utilizando como extrator solução de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de NH_4Ac em $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ HAc e uma segunda solução contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de NaHCO_3 em pH 8,5.

A utilização do extrator 0,5 mol L⁻¹ de NaHCO₃ em pH 8,5 ficou inviabilizada, pois o extrato apresentou alteração acentuada na cor (amarela) impossibilitando a quantificação pelo método turbidimétrico. A cor amarelada do extrato pode ser da matéria orgânica ou óxidos de ferro.

Os resultados do teor de S-Sulfato disponível de todas as frações do solo utilizando solução de 0,5 mol L⁻¹ de NH₄Ac em 0,25 mol L⁻¹ HAc podem ser observados na Tabela 17. Os dados mostraram que o método apresentou ótima precisão para as seis amostras de solos avaliados.

Tabela 17. Resultados de S-Sulfato disponível, utilizando solução de 0,5 mol L⁻¹ de NH₄Ac em 0,25 mol L⁻¹ HAc (n=4).

Solos	Concentração mg Kg ⁻¹ de S
LVe	62,1±2,5
NQo	4,4±0,3
NVe	14,8±0,6
LVEd	28,7±0,6
AVAd	5,5±0,2
AVEd	10,8±0,6

A utilização de solução de 0,5 mol L⁻¹ de NH₄Ac em 0,25 mol L⁻¹ HAc apresentou vantagens em termos operacionais, permitindo a obtenção de extratos límpidos e de filtragem rápida.

3.5. CONCLUSÃO

Os valores de S-Total nas amostras de solo, em função de alguns parâmetros avaliados, apresentaram variação nos resultados.

A análise estatística indicou que o melhor método objetivando a determinação de S-Total, em amostras de solo, foi a oxidação alcalina empregando mistura de NaHCO_3 e Ag_2O com temperatura de oxidação de $550\text{ }^\circ\text{C}$ e o tempo de 8 horas.

A substituição do Ag_2O por CuO na mistura oxidante não apresentou resultados satisfatórios.

Os testes envolvendo a mistura Eschika, oxidação via seca, apresentaram resultados insatisfatórios.

A solução extratora de $0,5\text{ mol L}^{-1}$ de NH_4Ac em $0,25\text{ mol L}^{-1}$ HAc , mostrou-se adequada na determinação de S-Sulfato disponível.

Capítulo 4

Determinação de enxofre total e sulfato disponível em amostras de solo por turbidimetria, empregando multicomutação e amostragem binária

4.1. INTRODUÇÃO

Os primeiros métodos automatizados para determinação de sulfato eram baseados no princípio da injeção em fluxo segmentado com bolhas de ar (Skeggs, 1957). Em 1975 Ruzicka e Hansen propuseram um conceito alternativo de análise por injeção em fluxo (FIA), envolvendo equipamentos relativamente baratos, de fácil operação e que pode ser definido como um processo de automatização de procedimentos analíticos, no qual a amostra em solução aquosa é introduzida em um fluido transportador que a conduz para o detector. O transportador pode ser uma solução de reagentes ou qualquer outro fluido, desde que tenha propriedades físico-químicas idênticas às da amostra, que não contenha o analito e que seja quimicamente inerte com relação à espécie química de interesse. Esse sistema foi considerado a maior inovação metodológica, caracterizada por sua simplicidade (Valcarcel & Castro, 1987).

Adaptações do método turbidimétrico ao sistema (FIA), em amostras de águas e digeridos de planta, foram realizadas por Krug et al. (1983). Esse sistema possibilitou uma velocidade analítica de 180 determinações por hora e foi considerado um avanço em se tratando de método turbidimétrico.

Os primeiros trabalhos utilizando válvulas solenóides foram realizados por Jones (1991) e Reis et al. (1992). Nesses trabalhos foram utilizadas válvulas de três vias para implementar o processo de multicomutação associado à amostragem binária.

A multicomutação possibilita melhor maleabilidade na manipulação das soluções, permitindo efetuar determinações seqüenciais em amostras, com módulo de análise mais simplificado e com baixo consumo de reagentes.

Um método automatizado de análise de sulfato em digeridos de planta empregando a multicomutação em fluxo com amostragem binária, tem sido citado na literatura (Vieira et al.,1998). Nesse trabalho foi utilizado um conjunto de válvulas solenóides de três vias.

Considerando as facilidades do processo de multicomutação e amostragem binária foi proposto o desenvolvimento de um sistema para determinação de enxofre em extrato de amostras de solo.

4.2. MATERIAL

4.2.1. Equipamentos e acessórios

Os equipamentos listados foram necessários no desenvolvimento do trabalho: Agitador e aquecedor magnético, Marconi, mod 085; Balança eletrônica digital modelo ER-182A, range 0,0001g, marca And; pHmetro modelo Tec 3mp, marca Tecnal.

Sistema de análise em fluxo (FIA) contendo Espectrofotômetro, Femto 600S com cela de fluxo com volume interno de 80 μ L de passo óptico de 10 mm; Bomba peristáltica de 8 canais modelo ISM931, marca Ismatec; válvula solenóide, NResearch; interface de controle (RS 232); micro-computador pentium.

4.2.2. Vidrarias

As principais vidrarias utilizadas foram: balão volumétrico de 0,05; 0,1; 0,2; 1 e 2 litros, proveta graduada de 0,025; 0,05 e 0,1 litros, Becker graduado de diversos volumes, pipetas volumétricas, micro-pipeta 0-300; 200-1000 μ L, kitasato entre outros.

4.2.3. Reagentes

No trabalho foram utilizados os seguintes reagentes: ácido clorídrico, ácido acético, acetato de amônio, cloreto de bário, Tween 80, Hidróxido de sódio, EDTA, sulfato de amônio todos grau analítico.

4.3. PARTE EXPERIMENTAL

4.3.1. Preparo de soluções

As soluções foram preparadas com água desionizada obtida por troca iônica com resistividade de 5-10 m Ω cm⁻¹.

Uma solução estoque de 1000 mg L⁻¹ de SO₄ foi preparada dissolvendo 1,376 g de (NH₄)₂SO₄ 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 estoque de 500 mg L⁻¹ de S foi preparada dissolvendo 1,03 g de (NH₄)₂SO₄ 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 ácido clorídrico 10 mol L⁻¹ foi preparada dissolvendo 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 cloreto de bário 10% contendo 0,1% de Tween 80 foi preparada dissolvendo 10 g de BaCl₂ em aproximadamente 50 mL de água e na seqüência foi adicionado 0,1 ml de Tween 80. Após a dissolução transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água desionizada.

Solução de hidróxido de sódio 0,2 mol L⁻¹ e EDTA a 0,3% foi preparada dissolvendo 2 g de NaOH e 0,75 g de EDTA em aproximadamente 50 mL de água.

Após a dissolução transferiu-se para um balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com água desionizada.

Solução de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada com 10 mL de solução estoque de ácido clorídrico 10 mol 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 sulfato de amônio contendo 100 mg L^{-1} de SO_4 foi preparada com 10 mL de solução estoque de 1000 mg L^{-1} de SO_4 , completando o volume a 100 mL de água desionizada em balão volumétrico.

Solução de acetato de amônio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido acético $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo 39,79 g de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ em aproximadamente 500 mL de água e na seqüência adicionou-se 15 mL de CH_3COOH . Após a dissolução transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água desionizada.

4.3.2. Montagem do sistema de análise em fluxo para determinação de enxofre total e sulfato disponível em amostras de solo por turbidimetria, empregando multicomutação e amostragem binária

A determinação de S-Sulfato (mg Kg^{-1} de S) por método turbidimétrico será realizada utilizando um sistema automatizado de análise em fluxo (FIA) empregando uma bomba peristáltica de 8 canais modelo ISM931 (Ismatec) e detecção espectrofotométrica (FEMTO 600S) com sistema de multicomutação e amostragem binária (Vieira et al., 1998).

O módulo de análise é constituído por um conjunto de 5 válvulas solenóides de três vias, sendo controlado por um microcomputador com programa em QuickBASIC (Reis et al., 1992; Rocha et al., 2002). O esquema do módulo de análise pode ser observado na Figura 2.

O microcomputador é acoplado as unidades que compõem o sistema através de uma interface de controle (RS 232), que ao ser acionada, faz o controle do tempo de acionamento das válvulas, da velocidade da bomba e da aquisição de dados (Reis et al., 1994).

A condição básica para executar o processo da multicomutação é que o módulo de análise tenha válvula para cada solução a ser introduzida no sistema, conforme Figura 2.

O desempenho do sistema depende da estrutura do programa empregado, e este possibilita ao microcomputador assumir o controle das variáveis no processo analítico.

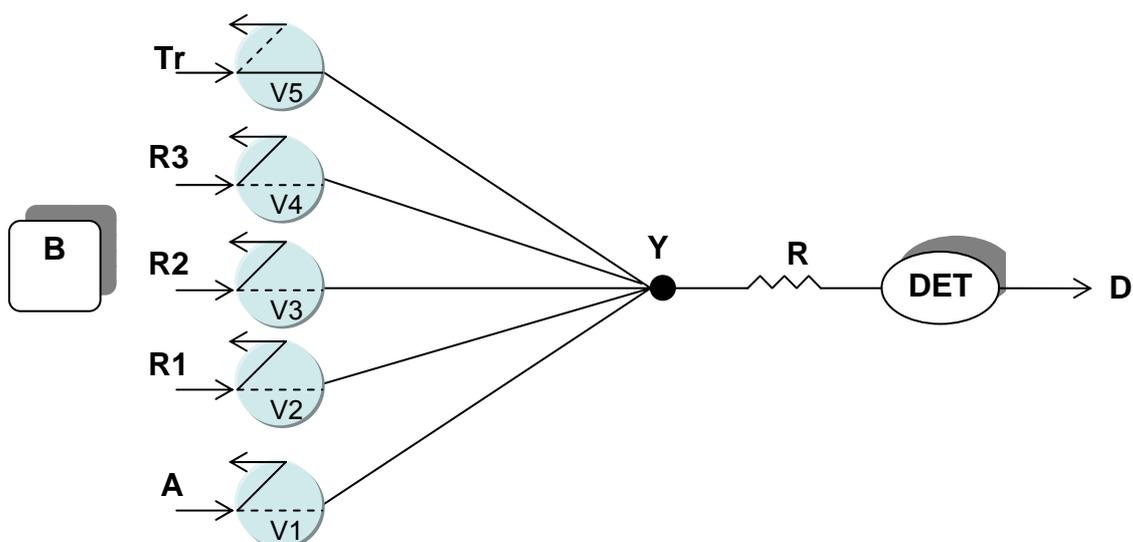


Figura 2. Módulo de análise do sistema em fluxo (FIA).

Onde: A = Amostra; R₁ = solução 100 mg L⁻¹ de SO₄²⁻; R₂ = solução de BaCl₂ 10% (m/v); R₃ = solução de EDTA 0,3% (m/v) em 0,2 mol L⁻¹ de NaOH; Tr = transportador; Y = ponto de convergência; R = bobina de reação de 100 cm em tubo de polietileno (d.i. = 0,8 mm); B = bomba peristáltica; DET = Espectrofotômetro (410 nm); D = descarte; V1, V2, V3, V4 e V5 = Válvulas solenóide de três vias.

As variáveis solicitadas pelo microcomputador no início do processo de análises são: número de alíquotas inseridas pelas válvulas; tempo de acionamento; número de repetições por determinação; tempo de leitura; tempo de limpeza do percurso analítico; tempo de inserção da solução transportadora antes de iniciar nova amostragem.

A inserção da solução transportadora é realizada pela válvula V5, sendo que esta inserção é efetuada com a mesma desligada. Este procedimento é realizado com a finalidade de preservar a vida útil da válvula, pois a solução transportadora é a mais inserida no sistema.

Toda a sistemática do módulo de análise foi realizada de acordo com o diagrama de tempo mostrado na Figura 3. Inicialmente são acionadas as válvulas V1 e V5 onde o fluxo de solução transportadora é interrompido e o fluxo de amostra é inserido no percurso analítico.

Na seqüência são acionadas alternadamente, conforme a Figura 2, as válvulas V5, V3, V1, V2 e V3, inserindo alíquotas da solução de cloreto de bário (R2), amostra (A), sulfato (R1) e cloreto de bário (R2) no ponto de convergência (Y).

Após completar o número de ciclos de amostragem programados todas as válvulas são desligadas e a solução transportadora (Tr) flui novamente transportando a zona de amostragem até a bobina de reação (R) formando a suspensão de sulfato de bário sendo detectada a 410 nm no espectrofotômetro. O percurso analítico da amostra pode ser observado na Figura 2.

Após o registro do sinal, foram acionadas as válvulas V5 e V4 para inserção no percurso analítico de solução de EDTA em meio alcalino, conforme indicado na Figura 3. A inserção desta solução é necessária para remover o precipitado de sulfato de bário que poderá ficar aderido nas paredes internas do percurso analítico e na cela de fluxo.

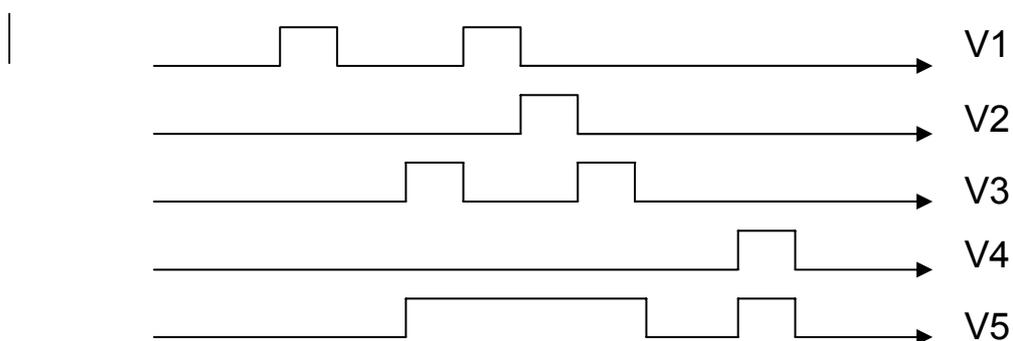


Figura 3. Diagrama de tempo de acionamento das válvulas do módulo de análise.

Onde: V1, V2, V3, V4 e V5 = Válvulas solenóide de três vias.

Inicialmente fixou-se o intervalo de tempo da válvula V1 em 0,4 s e as válvulas V2 e V3 variou-se de 0,1 a 0,3 s. A concentração da solução de cloreto de bário (5 e 10 % m/v) foi avaliada. A influencia da solução transportadora, 0,5 mol L⁻¹ de NH₄OAc em 0,25 mol L⁻¹ de HAc e solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl, no meio reacional, foi outro parâmetro avaliado.

O número de ciclos de amostragem das válvulas V5, V3, V1, V2 e V3 (número de acionamentos seqüenciais de todas as válvulas) variou de 8 e 10 intervalos (ciclos). O tempo de acionamento da válvula V4 para inserção de solução de EDTA em meio alcalino (limpeza) foi de 10 e 15 s.

Para a otimização das condições de análises foram estudados os efeitos das alíquotas das soluções da amostra e dos reagentes. Os estudos foram realizados com o padrão de 2,5 a 20 mg L⁻¹ de enxofre.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.4.1. Otimização do sistema de análise em fluxo para determinação de enxofre total e sulfato disponível em amostras de solo por turbidimetria, empregando multicomutação e amostragem binária

A vazão de bombeamento em todos os experimentos foram de 2,0 mL min⁻¹ e o menor intervalo de bombeamento foi de 0,1 s, que proporcionou a inserção de 3,3 µL. Este volume pode variar com a viscosidade e a densidade da solução inserida no percurso analítico.

Em detecção por turbidimetria é necessária uma determinada quantidade de sulfato para iniciar o processo de nucleação. A solução de sulfato (R1) adicionada à zona da amostra foi um recurso utilizado para melhorar a sensibilidade analítica.

Outro fator importante foi a ordem de inserção das alíquotas dos reagentes e amostra. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se da seguinte seqüência de inserção: solução de bário (R2); amostra (A); solução de sulfato (R1); solução de bário (R2).

Na determinação de S-Sulfato disponível utiliza-se o extrator 0,5 mol L⁻¹ de NH₄Ac em 0,25 mol L⁻¹ HAc e o pH dos extratos apresentavam valores em torno de 5.5. Como a reação de precipitação ocorre em meio ácido, pH em torno de 2, foi necessário uma etapa de correção. Uma alternativa foi a utilização da solução de sulfato (R1) contendo 0,7 mol L⁻¹ de ácido clorídrico.

Na oxidação alcalina (S-Total) o extrato apresentava característica extremamente salina e pH elevado, mas a correção do pH não pode ser realizada no

sistema em fluxo devido a liberação do excesso de CO₂ contida nas amostras. A acidificação do meio foi realizada fora do sistema com a utilização de solução de 10 mol L⁻¹ HCl.

A influência da solução transportadora na determinação de sulfato disponível também foi verificado. Quando da utilização da solução 0,5 mol L⁻¹ de NH₄Ac em 0,25 mol L⁻¹ de HAc verificou-se que houve a necessidade de maior tempo de inserção de solução de limpeza e maior tempo de leitura. Os melhores resultados foram obtidos com a utilização da solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl.

Em sistemas em fluxo ocorre a deposição de precipitado nas paredes da bobina de reação e na cela de fluxo, sendo necessário a adição de um fluxo de EDTA em meio alcalino para dissolver o precipitado. O módulo de análise foi desenvolvido para efetuar estas etapas de forma automática e os melhores resultados foram obtidos com 10 s de acionamento da válvula V4.

Os resultados obtidos apresentaram boa reprodutibilidade, boa estabilidade da linha de base, mas observou-se que entre os sinais analíticos há sempre um registro de sinal espúrio. Este sinal corresponde ao efeito “Schlieren”, gerado na transição da fase ácida para a alcalina e vice-versa (Zagatto et al., 1990).

Para minimizar o efeito Schlieren foram realizados testes de inserção de solução transportadora no percurso analítico após a inserção da solução de limpeza.

Os melhores resultados foram obtidos com o desligamento de todas as válvulas do sistema por 30 s, após a inserção da solução alcalina de EDTA, inserindo no percurso analítico solução transportadora. Este procedimento teve como finalidade separar a zona alcalina (limpeza) da zona de amostragem levemente ácida.

Para a otimização do sistema foram realizados vários testes de tempo de acionamento das válvulas: V1 (amostra); V2 (solução de sulfato); V3 (solução de bário a 5%). Na Tabela 18 pode-se observar os tempos de acionamento para cada uma das válvulas.

Tabela 18. Tempo de acionamento das válvulas solenóides.

Testes	V1 (s)	V2 (s)	V3 (s)
1 °T	0,4	0,1	0,1
2 °T	0,4	0,1	0,2
3 °T	0,4	0,2	0,1
4 °T	0,4	0,2	0,2
5 °T	0,4	0,3	0,1
6 °T	0,4	0,3	0,2
7 °T	0,4	0,3	0,3

Com os resultados obtidos nos testes (Tabela 18) foi possível elaborar a Figura 4. Nesta, pode-se observar que o melhor resultado foi obtido no 4º teste, devido a inclinação da reta. O 6º teste apresentou maior sinal analítico devido ao aumento da adição de sulfato (R1), podendo assim discriminar os sinais de baixa concentração. Neste sentido optou-se por trabalhar com o 6º teste onde utilizou-se 13,2 µL de amostra e 9,9 e 13,2 µL de solução de sulfato (R1) e cloreto de bário 5% (R2) respectivamente.

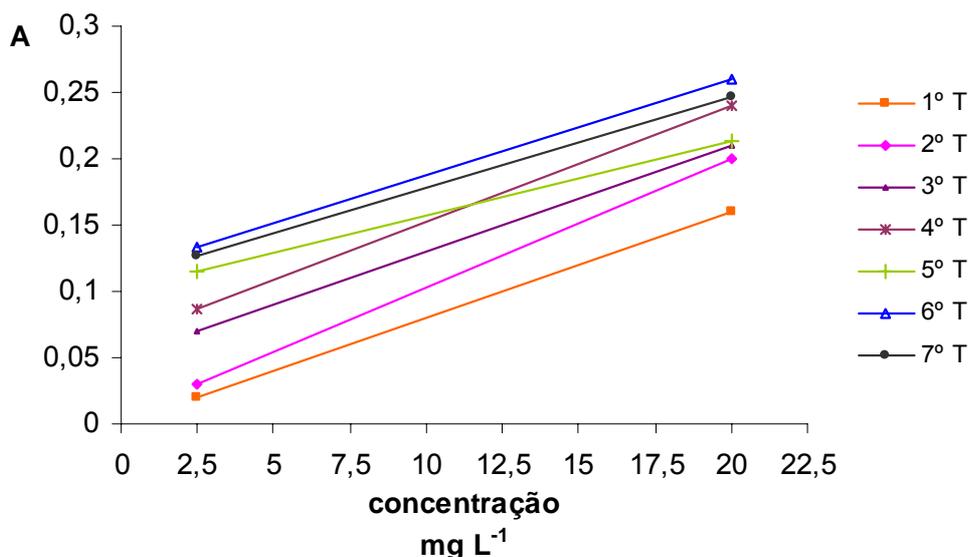


Figura 4. Efeito do tempo de acionamento das válvulas (V1, V2 e V3).

Com os resultados obtidos no 6º teste avaliou-se a influencia do número de ciclos de amostragem das válvulas V3, V1, V2 e V3. Os intervalos avaliados foram de 8 e 10 ciclos. Na figura 5 pode-se verificar a influência de nº de ciclos na inclinação da reta.

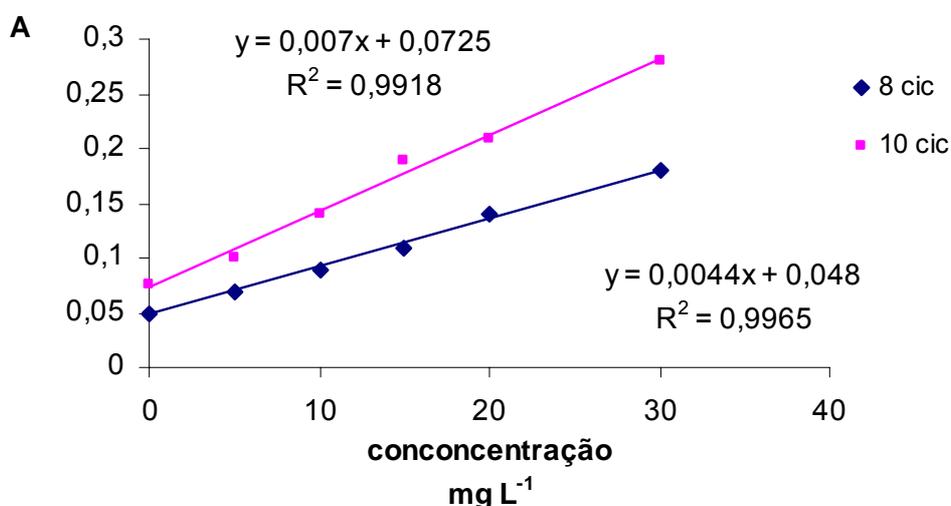


Figura 5. Efeito do número de ciclos de amostragem das válvulas V3, V1, V2 e V3.

Na próxima etapa, avaliou-se a influencia da concentração da solução de cloreto de bário (V3). Esse procedimento teve a finalidade de aumentar a sensibilidade analítica do método proposto. Os testes foram realizados com solução 5 e 10% (m/v) de cloreto de bário e tempo de acionamento de 0,4, 0,3 e 0,2 s para as válvulas V1, V2 e V3 respectivamente.

O efeito da concentração de cloreto de bário no sinal analítico pode ser observado na Figura 6. Nesta, pode-se constatar que o sinal analítico (A) é diretamente proporcional a concentração do cloreto de bário.

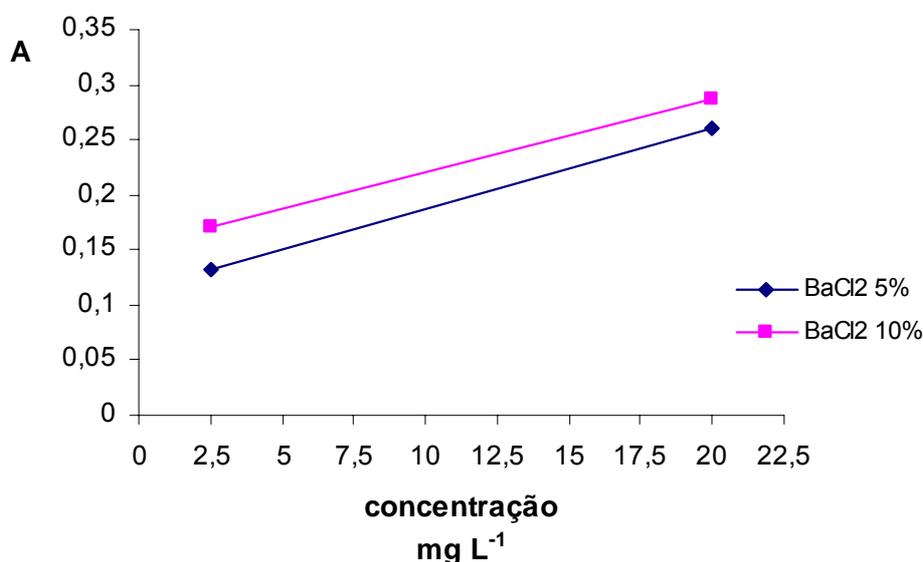


Figura 6. Efeito da concentração de cloreto de bário (V3).

Após a otimização das variáveis do sistema observou-se as seguintes características: resposta linear de 2,5 a 20 mg L⁻¹ de S-SO₄²⁻, (R > 0,998; n = 5); desvio padrão relativo de 0,5% (n = 5); frequência de amostragem de 42 determinações por hora; limite de detecção 2,01 mg L⁻¹ de S-SO₄²⁻.

Os melhores resultados foram obtidos utilizando 10 ciclos, onde utilizou-se 132 µL de amostra e 99 e 132 µL de solução de sulfato (R1) e cloreto de

bário 10% (R2) respectivamente. O volume utilizado de solução alcalina de EDTA (limpeza) foi de 330 µL.

Os resultados obtidos com soluções padrão apresentaram boa precisão e estabilidade ao longo do tempo. Entretanto, sabe-se, que muitas vezes, estas condições não se mantêm quando aplicamos as amostras reais.

Após a otimização das variáveis foi realizada a digestão via seca e extração com acetato de amônio em ácido acético e na seqüência, as determinações de enxofre total e sulfato disponível em amostras de solos, em estudo, foram realizadas.

4.4.2. Determinação de enxofre total e sulfato disponível, em amostras de solo, por turbidimetria, empregando multicomutação e amostragem binária.

Com relação às amostras reais, fazendo-se uso dos seis solos listados na Tabela 2, no capítulo 2, foram realizadas as determinações de S-Total e sulfato disponível. Para tanto, fez-se uso do método convencional (turbidimetria manual) e análise em fluxo (FIA). Na Tabela 19 e 20 pode-se observar os resultados de S-Total e sulfato disponível.

Tabela 19. Dados de S-Total (mg Kg^{-1} de S), para os dois procedimentos analíticos.

Solo	Método manual	Método automatizado (FIA)
LVe	250,1 \pm 1,2 a	257,3 \pm 4,4 a
NQo	28,7 \pm 1,0 a	49,4 \pm 4,4 b
NVe	183,9 \pm 1,0 a	171,5 \pm 6,6 a
LVEd	137,0 \pm 7,6 a	125,3 \pm 8,8 a
AVAd	111,5 \pm 4,0 a	115,4 \pm 8,8 a
AVEd	103,9 \pm 4,8 a	98,9 \pm 4,5 a

Médias entre os tratamentos em linhas seguida de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey

Tabela 20. Dados de sulfato disponível (mg Kg^{-1} de S), para os dois procedimentos analíticos.

Solo	Método manual	Método automatizado (FIA)
LVe	59,2 \pm 2,2 a	54,4 \pm 1,0 a
NQo	4,2 \pm 1,5 a	3,2 \pm 1,0 a
NVe	15,2 \pm 1,8 a	15,1 \pm 1,1 a
LVEd	29,3 \pm 1,7 a	29,4 \pm 1,1 a
AVAd	5,2 \pm 1,0 a	5,6 \pm 1,0 a
AVEd	9,2 \pm 1,6 a	10,3 \pm 1,0 a

Médias entre os tratamentos em linhas seguida de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey

Na tabela 19 pode-se observar que o único tipo de solo que houve diferença significativa foi o solo arenoso (NQo), pois quando utilizado o método manual o padrão $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ não é discriminado influenciando nos solos de menor concentração. No sistema automatizado a sensibilidade é maior podendo realizar a

quantificação das amostras e padrões de menor concentração (limite de detecção de 2,01 mg L⁻¹).

Com relação aos resultados de sulfato disponível os dados da Tabela 20 evidenciam concordância entre os dois procedimentos analíticos avaliados (FIA e convencional).

Com o importante objetivo de validar o método proposto no plano de pesquisa, foram obtidos dois padrões de referência do National Institute of Standards Technology (NIST), Montana Soil (NIST 2710 e NIST 2711). Os padrões apresentam teor de S-Total de 0,240 ± 0,006 e 0,042 ± 0,001 %, respectivamente, para o NIST 2710 e NIST 2711. Porém, é importante destacar que estes padrões correspondem a terra altamente contaminada que foi seca em forno, peneirados, e misturado até alcançar um alto grau de homogeneidade. O certificado de análises do padrão NIST 2710 indica que a mesmo foi coletado no perfil de 0-10 cm de terra de pastagem localizada a 112° de longitude e 46° de latitude ao longo do Riacho Arco de prata no Monte isolado, área de Montana. O riacho periodicamente favorece a deposição de sedimentos com altas concentrações de cobre, manganês e zinco no local de coleta do padrão.

Assim sendo, deve-se considerar que os solos brasileiros, avaliados no presente plano, apresentam características diferentes do padrão, principalmente com relação à constituição e ao processo de intemperismo. Os solos avaliados (Tabela 2) apresentam-se intemperizados, ou seja, sofreram um conjunto de processos devido às ações de agentes atmosféricos e biológicos que geram a destruição física e decomposição química de minerais das rochas (rocha mãe). A Intemperização da rocha de origem é importante como fonte de S em solos jovens e naqueles localizados em áreas remotas e distantes de fontes industriais e

antropogênicas. A principal fonte de S na rocha mãe são os minerais contendo pirita (sulfeto de ferro).

A determinação do S-Total, nos padrões de referência (NIST 2710 e 2711), foi realizada no Laboratório de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), fazendo-se uso da digestão ácida (nítrica), em sistema fechado, com emprego de bombas de Teflon com auxílio de forno de microondas, como descrito no item 3.3.2.1.1.1. As determinações foram realizadas por espectrometria de emissão atômica por plasma induzido (ICP-AES). A determinação de S-Total utilizando a oxidação do S-Orgânico à S-Sulfato pela via seca (alcalino), nas melhores condições experimentais: $\text{NaHCO}_3/\text{Ag}_2\text{O}$: 2,0/0,2 g; Temperatura de 550 °C; tempo de oxidação de 8 horas, estabelecidas no trabalho em apreço, foi realizada na amostra NIST 2710. A determinação via seca no padrão NIST 2711, não foi possível de ser realizada devido a baixa concentração. A Tabela 21 apresenta os resultados obtidos para os padrões NIST para os métodos empregados.

Tabela 21. Dados de teor de S-Total nos padrões NIST, utilizando-se do método por via úmida e seca.

Padrão de referência	Teor S-Total (%)	
	Via seca (alcalina)	Via úmida (HNO_3)
NIST 2710	0,190 ± 0,010	0,250 ± 0,010
NIST 2711	-	0,052 ± 0,009

Com os resultados obtidos pode-se avaliar que o sistema de preparo de amostras de solo, por via úmida, em sistema fechado, pode ser considerado um método eficiente objetivando a determinação de S-Total. Desta forma, o método por via úmida pode ser empregado como procedimento padrão com a finalidade de validação do método por via seca, um dos objetivos do trabalho.

Levando-se em consideração que não foi encontrada diferença significativa (confiabilidade de 95%) entre os métodos por via úmida e via seca, nas determinações de S-Total (resultados apresentados no capítulo 3) nos seis diferentes tipos de solos brasileiros, avaliados no trabalho, pode-se definir que o método proposto (via seca) pode ser recomendado no preparo de amostras de solos objetivando a determinação de S-Total e posterior determinação isotópica de S (% em átomos de ^{34}S).

O valor obtido para S-Total referente ao padrão NIST 2710, utilizando-se do método por via seca, foi cerca de 25% inferior aquele estabelecido para o referido padrão. Entretanto, deve-se considerar as características do solo do padrão NIST 2710, e as justificativas apresentadas anteriormente. Para este tipo de solo (vulcânico e com elevada contaminação) o método por via seca não foi quantitativo, principalmente devido à possível presença de formas quelantes. Porém, é importante reafirmar que para os principais solos avaliados, e de maior interesse agrônômico, o método por via seca (alcalina) foi eficiente e não foi verificada diferença estatística em relação ao método por via úmida (ácida).

4.5. CONCLUSÃO

O sistema de análise em fluxo (FIA) é de fácil operacionalidade e não tem apresentado variação significativa de sensibilidade nem variação da linha de base.

As vantagens da utilização do sistema automatizado (FIA) foram: tempo, consumo de amostra e reagente, boa frequência analítica e menor volume de descarte.

O método de digestão ácida (via úmida) em presença de HNO_3 , sistema fechado em forno de microondas, mostrou-se adequado como referência para digestão via seca.

Os resultados de S-Total e de sulfato disponível mostrou-se concordantes entre os dois procedimentos analíticos avaliados, sistema automatizado e o manual (convencional).

Capítulo 5

Determinação Isotópica de S (% átomos de ^{34}S), em amostras de solo por espectrometria de massas

5.1. INTRODUÇÃO

O advento da espectrometria de massas esta relacionada com a descoberta do isótopo e o grande avanço e o aprimoramento da técnica á tornaram umas das mais versáteis para análise elementar e de medidas isotópicas.

J. J. Thomson em 1910 foi o primeiro cientista a separar os átomos e moléculas de um gás, de acordo com suas massas, usando o hoje conhecido método de Thomson para análise de raios positivos. Em 1919, Aston aperfeiçoou o aparelho de Thomson e produziu um novo tipo de aparelho de raios positivos, no qual se alcançava maior separação de íons de diferentes massas, cada uma, correspondendo a um número definido de íons, com mesma razão carga/massa, e por mostrar um espectro de linhas foi chamado de espectrógrafo de massas (Oldenberg & Holladay, 1961; McDowell, 1963).

A espectrometria de massas é uma poderosa ferramenta que a princípio foi utilizada na determinação de massas atômicas e na atualidade, na busca de informações sobre a estrutura de compostos orgânicos, na análise elementar e na determinação da composição isotópica. Os espectrômetros de massas destinados a determinação da composição isotópica de elementos leves (C, N, S e B), são aqueles denominados de baixa resolução (Mulvaney, 1993).

Para a determinação isotópica de enxofre vários equipamentos podem ser empregados, mas para cada um deles há um preparo de amostras e suas limitações.

O preparo da amostra é relativamente simples quando se utiliza a espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). As principais preocupações quando faz-se uso do ICP-MS, para determinação isotópica de enxofre, é referente ao efeito memória e a discriminação de massa.

Outro problema quando faz-se uso do ICP-MS são as interferências isobáricas, dificultando e em alguns elementos impossibilitando a realização da determinação isotópica.

A determinação isotópica utilizando o espectrômetro de massas ATLAS-MAT modelo CH-4 é realizada em amostras gasosas. A utilização deste equipamento tem como maior vantagem, em se tratando de medidas de m/z , a admissão de amostras puras, livre de contaminantes e de interferências isobáricas, um dos maiores problemas do ICP-MS. Outra vantagem do equipamento é a possibilidade de determinação absoluta, sem emprego de padrão de referência, pois trata-se de um equipamento com fluxo molecular.

A maior dificuldade na utilização desse equipamento é a conversão das amostras, líquidas ou sólidas, em gás. A obtenção do gás normalmente é realizada em linhas de alto vácuo com auxílio de fornos.

O método convencional de determinação isotópica de S (% átomos de ^{34}S), utiliza na etapa de oxidação do S-Orgânico à S-Sulfato, a digestão ácida com uso de ácido nítrico e bromo líquido como catalisador da reação (Krouse & Tabatabai, 1986). Este método é pouco recomendado devido a periculosidade do elemento (Br_2) e a elevada geração resíduos tóxicos.

A ação biológica do bromo é bastante nociva tanto no estado líquido como no gasoso. Como líquido o bromo ataca a pele provocando fortes irritações ou mesmo necroses. A exposição a vapores de bromo causa uma dolorosa irritação dos

olhos bem como a inflamação do sistema respiratório. A concentração máxima permitida, numa exposição de oito horas, é de apenas 1 ppm.

Deve-se destacar que nenhum laboratório do país realiza, atualmente, determinação isotópica de S (% átomos de ^{34}S) em amostras de solo. Pode-se ainda mencionar as dificuldades em estudos envolvendo a utilização do traçador estável ^{34}S devido a falta de compostos enriquecidos, preço do isótopo, e a dificuldade analítica (Krouse et al., 1996; Zhao et al., 2001).

5.1.1. Espectrômetro de massas (IRMS)

O espectrômetro de massas (leitura eletrônica de sinal) é um instrumento que separa íons, positivos ou negativos, produzidos a partir de átomos ou moléculas, quer sejam das mais simples as mais complexas, de acordo com a razão massa/carga (m/q) (Mulvaney, 1993; Robertson, 1954; McDowell, 1963).

Segundo Mulvaney (1993) e Ducatti et al. (1974) o funcionamento de um espectrômetro de massas de setor magnético com ionização por impacto de elétrons (MS ou IRMS) pode ser dividido em cinco etapas: sistema de admissão; fonte de íons; sistema acelerador de íons; analisador magnético e o coletor de íons.

No sistema de admissão as amostras de gás são admitidas e escoam do reservatório para a fonte de íons, através de uma passagem (“leak”). A passagem (“leak”) pode ser de fluxo molecular ou viscoso, sendo constituída por uma placa com fendas muito pequenas (cerca de 0,013-0,050 mm de diâmetro) feitas numa folhas de ouro.

A ionização de moléculas por impacto eletrônico é o método mais comumente usado em IRMS (Isotope Ratio Mass Spectrometry). A fonte de íons

consiste, geralmente, de um filamento de renium, irídio ou tungstênio que aquece quando submetido a uma diferença de potencial passando uma corrente elétrica, emitindo elétrons (emissão termoiônica). O feixe de elétrons bombardeia os átomos ou moléculas das amostras sendo assim ionizadas.

Na seqüência os íons positivos formados na câmara de ionização são dirigidos ao campo eletrostático formado por placas aceleradoras de carga negativa, sendo repelidos da câmara de ionização pela placa positiva conduzidos ao analisador magnético.

O analisador magnético de íons tem por base de funcionamento o princípio da ação da força exercida sobre os íons que penetram no campo magnético H (ângulo de 90°), perpendicular à direção do seu movimento. O raio de curvatura da trajetória descrita pelo feixe de íons no analisador é em função da relação m/q , da sua energia e da intensidade do campo magnético.

O feixe de íons produzido na fonte de íons é separado no analisador magnético em tantos feixes de íons de número de massa A_i , quantos forem as espécies isotópicas da amostra. Os feixes de íons das diferentes espécies isotópicas, após serem discriminados são direcionados para o coletor de íons, um por vez, no caso de um MS com coletor simples, pela variação da indução magnética do eletroímã. A intensidade de corrente gerada em uma resistência R é proporcional à concentração da espécie isotópica. Essa corrente, circulando através de R , produz uma diferença de potencial que após a sua amplificação pode acionar um registrador ou ser digitalizado.

5.1.2. Determinação isotópica de S

A análise por espectrometria de massas das razões isotópicas ou % em átomos (abundância) dos elementos leves, na sua grande maioria, é feita em amostras gasosas devidamente purificadas, e em espectrômetro de massas de baixo ou médio poder de resolução. Para tanto, sistema de preparo das amostras envolve algumas transformações química, sendo necessário à produção desses gases livres de qualquer contaminante atmosférico.

No caso do enxofre obtém-se no espectrômetro de massas o espectro de massas da espécie SO_2^+ e SO^+ . Ambas as espécies mostram-se intensas no espectrômetro de massas, podendo ser utilizadas nas análises de abundância isotópica de S. Nas determinações optou-se pela espécie SO^+ , por apresentar menor combinação de isótopos entre os elementos S e O.

Para a espécie molecular SO podem aparecer correntes iônicas devido aos números de massas 48 ($^{32}\text{S}^{16}\text{O}$); 49 (^{32}S , ^{17}O e $^{33}\text{S}^{16}\text{O}$); 50 ($^{32}\text{S}^{18}\text{O}$; $^{33}\text{S}^{17}\text{O}$ e $^{34}\text{S}^{16}\text{O}$); 51 ($^{33}\text{S}^{18}\text{O}$ e $^{34}\text{S}^{17}\text{O}$); 52 ($^{34}\text{S}^{18}\text{O}$ e $^{36}\text{S}^{16}\text{O}$); 53 ($^{36}\text{S}^{17}\text{O}$) e 54 ($^{36}\text{S}^{18}\text{O}$).

Levando-se em consideração que as concentrações de ^{33}S , ^{36}S , ^{17}O e ^{18}O , são baixas ao nível da abundância natural, ou mesmo, em produtos com baixos enriquecimentos nesses isótopos, as combinações $^{36}\text{S}^{18}\text{O}$; $^{36}\text{S}^{17}\text{O}$; $^{34}\text{S}^{18}\text{O}$; $^{36}\text{S}^{16}\text{O}$; $^{34}\text{S}^{17}\text{O}$; $^{33}\text{S}^{18}\text{O}$; $^{33}\text{S}^{17}\text{O}$; $^{32}\text{S}^{17}\text{O}$, não devem contribuir significativamente nas massas respectivas. Dessa maneira, pode-se restringir o espectro aos números de massa: 48 ($^{32}\text{S}^{16}\text{O}$), 49($^{33}\text{S}^{16}\text{O}$) e 50($^{32}\text{S}^{18}\text{O}$ e $^{34}\text{S}^{16}\text{O}$) nas determinações isotópicas de S de amostras naturais ou com baixos enriquecimentos. Por essas combinações pode-se observar que o isótopo de enxofre de número de massa 34 aparece somente na massa 50 participando também nessa mesma massa o enxofre 32 ($^{32}\text{S}^{18}\text{O}$).

Considerando que em uma determinada amostra ou processo não ocorra o fracionamento dos isótopos pesados de oxigênio (amostras de SO_2 com concentração natural nos isótopos de oxigênio), e que praticamente todo o ^{32}S se encontra na massa 48, pode-se calcular a abundância de ^{34}S de uma determinada amostra pela equação (1), descrita por Bendassolli et al. (1997).

$$\text{Átomos \% } ^{34}\text{S} = \{[I_{50} - (I_{48} \times 0,00204)] / (I_{48} + I_{49} + I_{50})\} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

I_{48} = intensidade do feixe de íons de massa 48 ($^{32}\text{S}^{16}\text{O}$)

I_{49} = intensidade do feixe de íons de massa 49 ($^{33}\text{S}^{16}\text{O}$)

I_{50} = intensidade do feixe de íons de massa 50 ($^{34}\text{S}^{16}\text{O}$ e $^{32}\text{S}^{18}\text{O}$)

$(I_{48} \times 0,00204)$: refere-se a contribuição do isótopo ^{32}S na massa 50 ($^{32}\text{S}^{18}\text{O}$), e o valor 0,00204 representa a fração isotópica natural do isótopo ^{18}O de oxigênio (0,204%).

5.2. MATERIAL

5.2.1. Equipamentos

Os equipamentos listados foram necessários no desenvolvimento do trabalho, estando a maioria deles em funcionamento no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP.

Espectrômetro de massas ATLAS-MAT, modelo CH4 (raio de curvatura do tubo analisador de 120° ; ionização por impacto eletrônico; sistema de admissão com fluxo molecular; coletor de íons simples, tipo copo de Faraday e sistema de análise por varredura de massa).

Linha de vácuo construída em vidro pyrex e quartzo; Bomba mecânica de vácuo modelo 2M8 EDWARDS; bomba difusora de alto-vácuo modelo E050 EDWARDS; medidor de vácuo ativo AGD EDWARDS; Filamento sensor de vácuo Pirani APG-M EDWARDS; medidor de gás Stim Gates EDWARDS. A linha de alto vácuo esta esquematizada na figura 8.

Agitador e aquecedor magnético, Marconi, mod 085; Balança eletrônica digital modelo ER-182A, range 0,0001g, marca And; balança eletrônica digital faixa 28 - 280g, marca TECNAL; Mufla modelo 318-24 com faixa de temperatura de 100 a 1.200°C , marca QUIMIS; estufa ventilada.

5.2.2. Vidrarias

As principais vidrarias utilizadas foram: balão volumétrico de 0,05; 0,1; 0,2; 1 e 2 litros, proveta graduada de 0,025; 0,05 e 0,1 litros, Becker graduado de

diversos volumes, pipetas volumétricas, micro-pipeta 0-300; 200-1000 μL , kitasato, tubo de quartzo entre outros.

5.2.3. Reagentes

No trabalho foram utilizados os seguintes reagentes: ácido clorídrico, cloreto de bário, sulfato de bário, metafosfato de sódio todos grau analítico.

O sulfato de potássio ($\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$) com enriquecimento de $8,18 \pm 0,01$ % em átomos de ^{34}S foi produzido no laboratório de isótopos estáveis do CENA/USP.

5.3. PARTE EXPERIMENTAL

5.3.1. Preparo de soluções

As soluções foram preparadas com água desionizada obtida por troca iônica com resistividade de 5-10 $\text{m}\Omega \text{ cm}^{-1}$.

Solução estoque ácido clorídrico 10 mol L^{-1} foi preparada dissolvendo 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 estoque ácido clorídrico 5 mol L^{-1} foi preparada dissolvendo 414 mL de HCl p.a em aproximadamente 300 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 cloreto de bário 10% foi preparada dissolvendo 10 g de BaCl_2 em aproximadamente 50 mL de água. Após a dissolução transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água desionizada.

5.3.2. Preparo das amostras para determinação isotópica

5.3.2.1. Precipitação do S-Sulfato à $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$

A nomenclatura da marcação isotópica nas etapas de obtenção do $^{34}\text{SO}_4^{-2}$, $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$ e $^{34}\text{SO}_2$ tem a finalidade de em identificar a fonte marcada, quando uso de material marcado com ^{34}S , em cada processo. Contudo, os parâmetros

físico-químicos estabelecidos no trabalho, devem ser mantido quando se empregar os compostos enriquecidos nos isótopos ^{34}S .

Nessa etapa a partir do extrato de S-Total e sulfato disponível, contendo aproximadamente 600 a 900 μg de S (forma de SO_4^{-2}), foi obtido o $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$ utilizando-se de solução de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10% (m/v).

O extrato de S-Total, contendo $^{34}\text{SO}_4^{-2}$, foi acidificado com ácido clorídrico 10,0 mol L^{-1} (pH na faixa de 2,0 a 3,0). Na seqüência a solução foi aquecida à temperatura de 90 $^\circ\text{C}$ e em seguida adicionou-se lentamente, sob agitação, solução de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10% (m/v) previamente aquecida. No processo ocorre a formação do $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$ de acordo com a equação (2).



Onde: (aq) e (s) indicam meio aquoso e sólido respectivamente.

Devido a baixa solubilidade do $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$ ($k_{\text{sp}} = 1,0 \times 10^{-10}$) ocorreu a formação do precipitado no fundo do frasco, que é posteriormente separado da fase solução. O precipitado ($\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$) foi lavado com água desionizada e posteriormente centrifugado por 5 minutos a 2500 rpm, quando retirou-se o sobrenadante. Esse procedimento de lavagem será repetido várias vezes e tem como finalidade à eliminação de impurezas contidas no precipitado. As impurezas podem ser atribuídas ao excesso de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Após a lavagem, o precipitado ($\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$) foi seco em estufa ventilada a 60 $^\circ\text{C}$. Finalmente o $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$ posteriormente foi levado a linha de alto vácuo (combustão a 900 $^\circ\text{C}$) onde ocorreu a formação do gás $^{34}\text{SO}_2$.

5.3.2.2. Obtenção de $^{34}\text{SO}_2$ a partir do $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$

Com a finalidade de verificar a eficiência do método proposto e possíveis interferências decorrentes do processo químico, realizou-se a obtenção do SO_2 a partir de BaSO_4 p.a. (Merck). Todos os testes foram realizados em triplicata.

Uma amostra contendo cerca de 5,0 mg de $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$ proveniente dos extratos de S-Total e S-Sulfato disponível de um determinado solo (aproximadamente 600 a 900 μg de S), juntamente com o metafosfato de sódio (NaPO_3) foi colocado em tubo de quartzo (QT) de aproximadamente 30 cm. A razão entre a massa de sulfato e o reagente (NaPO_3) foi de 1:6 (m/m) (Halas & Wolacewicz, 1981). Essa etapa tem a finalidade de obter o gás $^{34}\text{SO}_2$, a partir do S-Sulfato, para a determinação da abundância isotópica de S (% em átomos de ^{34}S) por espectrometria de massas.

O NaPO_3 foi obtido a partir da queima, em mufla, do $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, por 2 horas à 200 °C. Esta etapa tem a finalidade de remover a água estrutural do composto e eliminar possíveis impurezas orgânica, a equação (3) mostra o processo de obtenção do NaPO_3 .

200°C



Δ

Um anel de 2 g de cobre metálico foi adicionado aproximadamente a 2 cm acima da mistura (amostra/reagentes) com o auxílio de lã de quartzo. A finalidade do cobre metálico é reter os óxidos formados na combustão e converter

possíveis SO_3 em SO_2 , evitando fracionamento isotópico (Yanagisawa & Sakal, 1983; Rafter, 1957).

Na seqüência, o tubo QT foi conectado na linha de alto vácuo, procedendo-se vácuo (10^{-2} mbar), em todo sistema com auxílio de bomba mecânica e difusora (MP e DP). Posteriormente abasteceu-se as armadilhas Tr_1 e Tr_2 com mistura de gelo seco e etanol (-73°C) e nitrogênio líquido (-196°C) respectivamente. As armadilhas Tr_1 e Tr_2 têm a finalidade de reter, respectivamente, vapores de água e SO_2 formado na combustão. A linha de alto vácuo para a obtenção de SO_2 , adaptada de Bailey e Smith (1972), pode ser observado na Figura 7.

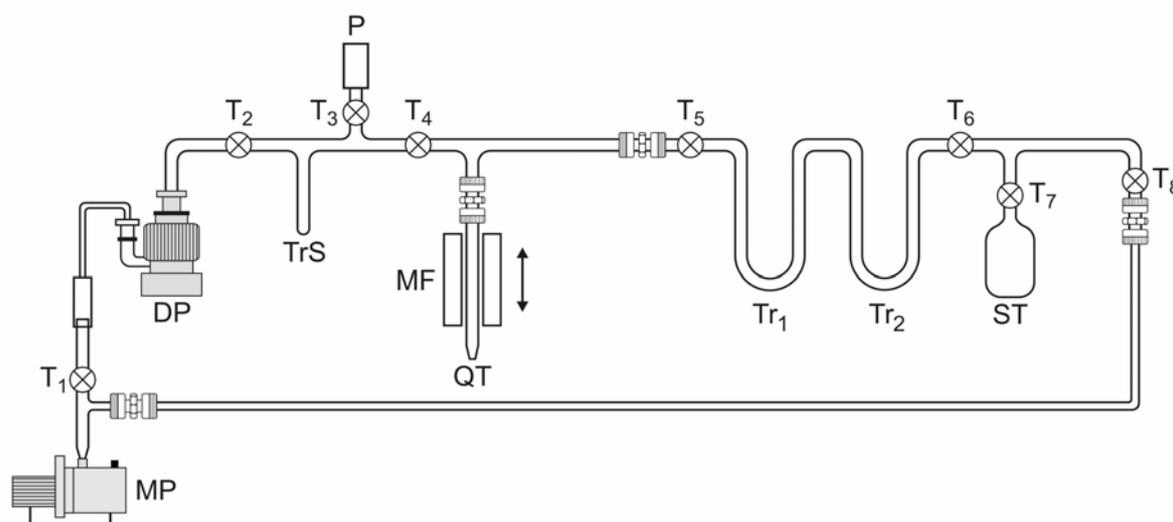


Figura 7. Linha de alto vácuo para produção e purificação do SO_2 .

Onde: QT = tubo de quartzo; MF = forno móvel (900°C); Tr_1 = trap contendo gelo seco e etanol (-73°C); Tr_2 = trap contendo nitrogênio líquido (-196°C); ST: balão de amostra; P = medidor de vácuo Pirani; TrS = trap de segurança contendo nitrogênio líquido (-196°C); DP = bomba difusora (alto vácuo); MP = bomba mecânica; T_1 to T_8 = torneiras contes.

Na próxima etapa o forno MF, aquecido à 900°C , foi deslocado verticalmente até o tubo QT ocorrendo a combustão do $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$, em presença do

NaPO_3 , formando o gás SO_2 (equação 4). A influencia do tempo de queima foi avaliado (4, 5, 6,7 e 10 minutos). Dependendo das condições (pressão parcial de O_2) pode-se produzir o gás SO_3 (equação 5). A formação do SO_3 não é desejável, podendo ocasionar fracionamento isotópico. A equação 6 mostra a conversão do SO_3 à SO_2 com o auxílio do cobre reduzido.

900 °C



Δ



900 °C



Δ

O gás SO_2 , que ficou retido na armadilha Tr2, na seqüência foi transferido para o balão de armazenagem (ST), alternando o N_2 liquido (“trap”) de Tr2 para o balão de armazenagem (ST).

Posteriormente o balão ST, contendo o gás SO_2 , foi transferido da linha de alto vácuo e conectado ao sistema de admissão do espectrômetro de massas e procedida a determinação isotópica do S (% em átomos ^{34}S).

A limpeza do tubo QT foi realizada após a combustão da amostra na linha de alto vácuo. Inicialmente foi retirada a lã de quartzo sobre o anel de cobre

oxidado (CuO) e, posteriormente, o cobre oxidado foi transferido para recipiente de vidro para posterior redução (Cu^0) em linha de vácuo com utilização de hidrogênio (Bendassolli et al., 2002).

Finalmente o tubo QT foi raspado para remover os resíduos da reação e lavado com HCl $5,0 \text{ mol L}^{-1}$ podendo ser reutilizado em outras combustões.

5.3.2. Determinação isotópica de S

Para a realização da determinação isotópica de S nas amostras do gás SO_2 , contidas nos balões de armazenagem, o espectrômetro de massas, funcionou com o sistema de admissão aquecido ($60 \text{ }^\circ\text{C}$), devido a natureza polar das moléculas de SO_2 e SO evitando o efeito memória entre as análises.

No sistema de admissão do espectrômetro de massas foi adaptada uma armadilha criogênica, contendo gelo seco e etanol ($-73 \text{ }^\circ\text{C}$), com a finalidade de reter traços de água contida nas amostras de gás.

A determinação da abundância em % em átomos de ^{34}S , em amostras de SO_2 , foi realizada no espectrômetro de massa ATLAS MAT, modelo CH4 (Bendassolli et al., 1997).

5.3.3. Validação do método de determinação de enxofre total no solo utilizando $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ enriquecido no isótopo ^{34}S

A utilização de material marcado ($\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$), teve como finalidade a validação do método de determinação de S-Total e determinação isotópica de S (% em átomos de ^{34}S) nas amostras de solo.

Essa etapa foi realizada com a utilização do método de diluição isotópica. Esse consiste: Inicialmente na quantificação da abundância isotópica natural (% em átomos de ^{34}S) e a quantificação do S-Total inicial no solo em estudo. Esta quantificação foi realizada utilizando o sistema automatizado (FIA), conforme descrito no capítulo 4.

Posteriormente foi adicionado $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ com abundância de 8,18 % em átomos de ^{34}S a amostra de solo (5 g) e realizou-se a quantificação do enxofre total e a determinação isotópica de S. Desta forma, o S-Total deverá apresentar um valor referente a soma do ST_0 e $^{34}\text{S}_a$.

Com os resultados isotópicos das amostras (Ab_{exp}), após adição do material marcado, pode-se fazer as avaliações do método de preparo (via seca), sugerido no trabalho, utilizando-se do cálculo de diluição isotópica, dada pela equação (7).

$$\text{ST}_0 * \text{Ab}_0 + ^{34}\text{S}_m * \text{Ab}_m = (\text{ST}_0 + ^{34}\text{S}_m) * \text{Ab}_t \quad (7)$$

Onde: ST_0 = enxofre total inicial da amostra ($\mu\text{g Kg}^{-1}$); Ab_0 = Abundância isotópica inicial (% em átomos de ^{34}S); $^{34}\text{S}_m$ = quantidade aplicada do material marcado com ^{34}S ($\mu\text{g S}$); Ab_m = Abundância isotópica do material marcado (% em átomos de ^{34}S); Ab_t = Abundância isotópica teórica (% em átomos de ^{34}S).

A partir dos valores da abundância isotópica (Ab_t e Ab_{exp}) pode-se determinar o erro (E), dada pela equação (8).

$$\text{E} (\%) = (\text{Ab}_{\text{exp}} - \text{Ab}_t / \text{Ab}_t) * 100 \quad (8)$$

Onde: E = erro (%); Ab_{exp} = Abundância isotópica experimental (% em átomos de ^{34}S); Ab_t = Abundância isotópica teórica (% em átomos de ^{34}S).

As amostras de solo utilizadas no experimento de validação do método de determinação de enxofre, utilizando $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ enriquecido no isótopo ^{34}S , foram obtidas nas usinas São Martinho e Santa Adélia. O preparo e as análises química das amostras de solo foram realizadas no Instituto Agronômico de Campinas, conforme descrito no capítulo 2.

5.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.4.1. Obtenção de SO_2 a partir do $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$

Nos testes de combustão o cobre metálico (2 g) utilizado no tubo de quartzo foi adequado no sentido de evitar a passagem de possíveis óxidos (BaO e CaO) para as armadilhas criogênicas, contaminando o sistema de alto vácuo.

Na obtenção do SO_2 , na linha de alto vácuo, avaliou-se o tempo de queima de 4, 5, 6, 7 e 10 minutos. A combustão completa do BaSO_4 ocorreu com 7 minutos, mas por segurança foi adotado o tempo de queima de 10 minutos.

5.4.2. Determinação isotópica do S

A determinação isotópica de S (% em átomos de ^{34}S), foi realizada em triplicata utilizando-se do espectrômetro de massas ATLAS-MAT modelo CH4. Na avaliação dos resultados isotópicos, considerou-se a variação natural de -30 a +30‰ (Krouse e Tabatabai, 1986). Estes valores correspondem à variação de 4,15 a 4,38% em átomos de ^{34}S . Deve-se ainda considerar que a precisão analítica do espectrômetro de massas é da ordem de 1%.

Os resultados da determinação isotópica nas amostras de BaSO_4 (p.a) e do $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ marcado, composto a ser utilizado no experimento de diluição isotópica, podem ser observados na Tabela 22.

Tabela 22. Determinação isotópica de S nas amostras de BaSO_4 (p.a) e $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ marcado.

Amostra	Determinação de ^{34}S % em átomos
BaSO_4 natural ⁽¹⁾	4,23 ± 0,02
$\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ marcado	8,18 ± 0,01

(1) BaSO_4 p.a (Merck)

Esses valores estão dentro da faixa da variação isotópica natural (4,15 a 4,38% em átomos de ^{34}S), evidenciando que o processo de obtenção de SO_2 e determinação isotópica de S no espectrômetro de massa ATLAS-MAT modelo CH4 foi adequado.

Com os resultados obtidos relacionando com de preparo das amostras e determinação isotópica (Tabela 22) iniciou-se o processo de validação do método de determinação de S-Total (via seca) empregando a técnica de diluição isotópica em amostras de solo das usinas São Martinho (Pradópolis-SP) e Santa Adélia (Jaboticabal-SP).

5.4.3. Validação do método de determinação de enxofre total utilizando $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ enriquecido no isótopo ^{34}S

As amostras de solo utilizadas no experimento de diluição isotópica foram obtidas nas usinas São Martinho e Santa Adélia. Os resultados das análises

química das amostras de solo realizadas no Instituto Agronômico de Campinas podem ser observados no capítulo 2, Tabela 6 e 7.

Nos solos em estudo foi realizada a determinação de S-Total inicial utilizando o sistema automatizado (FIA) e na seqüência foi realizada a precipitação à forma de BaSO_4 e procedida a determinação da abundância isotópica natural (% em átomos de ^{34}S), descrito no item 5.3.2. Os resultados das análises podem ser observados na Tabela 23.

Tabela 23. Determinação de S-Total inicial e isotópica de S nas amostras de solo das usinas São Martinho e Santa Adélia.

Solos	ST_0 (*) $\mu\text{g g}^{-1}$	Ab_0 (**) % em átomos de ^{34}S
LVe-USM ⁽¹⁾	252,6±10,7	4,35±0,02
LVd-USA ⁽²⁾	63,9±5,4	4,41±0,01

(1) Usina São Martinho em Pradópolis-SP

(2) Usina Santa Adélia em Jaboticabal-SP

(*) ST_0 = enxofre total inicial

(**) Ab_0 = Abundância isotópica inicial

Após a realização da quantificação inicial foi adicionada em média 313,2 e 356,8 μg de S, proveniente do $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$, enriquecido a 8,18% em átomos de ^{34}S , nas amostras de 5 g de solo das usinas São Martinho e Santa Adélia, respectivamente. Com os dados da Tabela 23 e a equação 7 pode-se encontrar o

valor de Abundância isotópica teórica (Ab_t). Os valores da Abundância isotópica experimental e teórica (calculado) podem ser observados na Tabela 24.

Tabela 24. Determinação isotópica de S experimental e teórica nas amostras de solo das usinas São Martinho e Santa Adélia, após aplicação do $\text{K}_2^{34}\text{SO}_4$ marcado.

Solos	Ab_{exp} (*)	Ab_t (**)
	% em átomos de ^{34}S	% em átomos de ^{34}S
LVe-USM ⁽¹⁾	5,17±0,06	5,11±0,03
Lvd-USA ⁽²⁾	6,45±0,03	6,39±0,01

(1) Usina São Martinho em Pradópolis-SP

(2) Usina Santa Adélia em Jaboticabal-SP

(*) Ab_{exp} = Abundância isotópica experimental

(**) Ab_t = Abundância isotópica teórico

Com os resultados isotópico apresentados na Tabela 24 e a equação 8, pode-se calcular que o erro analítico foi em média 1,1%. O erro foi considerado baixo tendo em vista que o processo envolve varias etapas e dois procedimentos analíticos complexos. Deve-se ainda salientar que a precisão analítica do espectrômetro de massas é da ordem de 1%.

5.5. CONCLUSÃO

A utilização da linha de alto vácuo para a conversão do $\text{Ba}^{34}\text{SO}_4$ em SO_2 , com emprego de NaPO_3 , com combustão à 900 °C mostrou-se adequada aos objetivos do trabalho.

Com os resultados obtidos no experimento de validação (diluição isotópica) pode-se evidenciar que foi adequado o processo de conversão de S- Orgânico à S-Inorgânico utilizando o método de oxidação alcalina, via seca.

A determinação isotópica de S, em amostras de solo, utilizando o espectrômetro de massas ATLAS-MAT modelo CH4 apresentou resultados satisfatórios.

6. CONCLUSÕES GERAIS

Pode-se verificar que os solos apresentam consideráveis variações em relação a vários parâmetros avaliados, o teor da matéria orgânica (M.O) apresentam valores que variam de 10,8 a 31 g dm⁻³ e este é um dos parâmetros importantes com relação as análises de enxofre total.

O método objetivando a determinação de S-Total, em amostras de solo, foi a oxidação alcalina empregando mistura de NaHCO₃ e Ag₂O com temperatura de oxidação de 550 °C e o tempo de reação de 8 horas.

A digestão via úmida (HNO₃) em sistema fechado e decomposição com forno de microondas mostrou-se adequado como referencia para o método de digestão via seca (NaHCO₃/Ag₂O).

Os melhores resultados objetivando a determinação de S-Sulfato disponível foram obtidos utilizando solução extratora de 0,5 mol L⁻¹ de NH₄Ac em 0,25 mol L⁻¹ HAc.

O sistema de análise em fluxo (FIA) é de fácil operacionalidade e não tem apresentado variação significativa de sensibilidade nem variação da linha de base. As vantagens da utilização do sistema foram: tempo, consumo de amostra e reagente, boa freqüência analítica e menor volume de descarte.

A utilização da linha de alto vácuo para a conversão do Ba³⁴SO₄ em SO₂ com emprego de NaPO₃, com combustão à 900 °C, mostrou-se adequada aos objetivos do trabalho.

Com os resultados obtidos no experimento de validação (diluição isotópica) pode-se evidenciar que é adequado o processo de conversão de S- Orgânico à S-Inorgânico utilizando o método de oxidação alcalina, via seca.

A determinação isotópica de S em amostras de solo utilizando o espectrômetro de massas ATLAS-MAT modelo CH4 apresentou resultados satisfatórios.

7. REFERÊNCIAS

- ARORA, B.R.; HUNDAL, H.S; SEKHON, G.S. Utilization of fertilizer sulphur by oat (*Avena sativa* L.) in different soils of Ludhiana. **Journal of Nuclear Agriculture and Biology**. v. 19, n.1, p. 92-96, 1990
- AWONAIKE, K. O.; DANSO, S. K. A.; ZAPATA, F. The use of a double isotope (N-15 and S-34) labeling technique to assess the suitability of various reference crops for estimating nitrogen-fixation in *gliricidia-sepium* and *leucaena-leucocephala*. **Plant and Soil**, v.155-156, p.325-328, 1993.
- BAILEY, S. A; SMITY, I. W. Improved method for the preparation of sulfur dioxide from Barium sulfate for isotope ratio studies. **Analytical Chemistry**. v.44, p. 1542-1543, 1972.
- BANSAL, K.N.; MOTIRAMANI, D.P. Uptake of native and applied sulphur by soybean in vertisols of Madhya Pradesh. **Journal of Nuclear Agriculture and Biology**. v.22, n.1, p. 42-46, 1993.
- BENDASSOLLI, J. A.; TRIVELIN, P. C. O.; CARNEIRO Jr, F. C. Stable Sulfur Isotope Fractionation by Anion Exchange Chromatography. Production of Compounds Enriched in ^{34}S . **J. Braz. Chem. Soc.** v.8, n.1, p13-17, 1997.
- BENDASSOLLI, J.A.; MORTATTI, J.; TRIVELIN, P. C.; IGNOTO, R. F.; BONASSI, J. A.; TAVARES, G. A.. Reciclagem de cobre proveniente de analisador automático de carbono e nitrogênio. **Química nova**, v.25, n.2, p. 312-315, 2002.
- BETTANY, J. R.; STEWART, J. B. W.; HALSTEAD, E. H. Sulfur fractions and carbon, nitrogen and sulfur relationships in grassland, forest and associated transitional soils. **Soil Science Society of American Proceedings**, Madison, 37(6) : 915-8, 1973.

- BIEDERBECK, V. O. Soil organic sulfur and fertility. **Soil organic matter**. cap. 6, p. 273-310, 1978.
- BISSANI, C. A.; TEDESCO, M. J. O enxofre no Solo. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO, 17., Londrina, 1986. BORDERT, C. M.; LANTMANN, A. F.; Londrina: Embrapa/CNPQ; IAPAR SBCS, p.11, 1988.
- DUCATTI, C.; DE-POLLI, E.; TRIVELIN, P.C.O. **Espectrômetro de massa Variant-MAT, CH4**. Piracicaba: CENA/USP, 1974. 23p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistema Brasileiro de Classificação de solos. 412 p, 1999.
- FRENEY, J. R.; Forms and reactions of organic sulfur compounds in soils. In: TABATABAI, M. A. (Ed) **Sulfur in agriculture**. Madison: ASA, 1986. Cap. 6, p.207-232. (agronomy, 27).
- FOX, R. L.; OLSON, R. A.; RHOADES, H. F. Evaluating the sulfur status of soils by plant and soil test. **Soil Science Society of American Proceedings**, 28: 243-246,1964.
- GERMIDA, J.J.; WAINWRIGHT, M.; GUPTA, V.V.S.R. Biochemistry of sulfur cycling in soil. In: STOTZKY, G.; BOLLAG, J.M. (Ed.) **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker. v.7, p.1-53, 1992.
- HALAS, S.; WOLACEWICZ, W.; Direct extraction of sulfur dioxide from sulfates for isotopic analysis. **Analytical Chemistry**. v.53, p. 686-689, 1981.
- HAMILTON, S. D.; CHALK, P. M.; UNDOVICH, M. J.; SMITH, C. J. The measurement of fertilizer-S uptake by plants using radioactive and stable isotopes. **Applied Radiation and Isotopes**, v.42, n.11, p.1099-1101, 1991.

- HOEFT, R. G.; WALSH, L. M.; KEENEY, D. R. Evaluation of various extractants for available soil sulfur. **Soil Science Society of American Proceedings**. v. 37, p. 401-404, 1973.
- JONES, E. A. Spectrophotometric determination of sulfate in sodium hydroxide solutions by flow injection analysis. **Analytica Chimica ACTA**. V.156, 313, 1984.
- KILMER, V. J.; NEARPASS, D. C. The determination of available sulfur in soils. **Soil Science Society of American Proceedings**, 24: 337-340, 1960.
- KROUSE, H. R.; TABATABAI, M. A. Stable sulfur isotopes. In sulfur in agriculture. **American society of agronomy**. Ed. Tabatabai, M.A. p. 169-205, 1986.
- KROUSE, H. R.; BERNHARD M.; SCHOENAU J. J. Applications of stable isotopes techniques to soil sulphur cycling. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S. (Ed.) **Mass spectrometry of soil**. New York: Marcel Dekker, 1996. p.246-285.
- KRUG F. J.; ZAGATTO E. A. G.; REIS B. F.; BAHIA O.; JACINTHO A. O.; JORGENSEN SS. Turbidimetric determination of sulfate in plant digests and natural-waters by flow-injection analysis with alternating streams. **Analytica Chimica ACTA**. V. 145, p. 179-187, 1983.
- LAL, K.; DRAVID, M.S. Sulphur utilization by mustard as influenced by P, S, K_2SiO_3 and FYM in Tupic Ustipsamment. **Journal of Nuclear Agriculture Biology**. v.19, n.1, p.87-91, 1990.
- MALAVOLTA, E.; PAULINO, V. T. Sulphur balance in central and south America. In: **International Conference Sulphur 87**. Houston, Texas, 1987. p. 69-88.
- MALAVOLTA, E. **Gesso agrícola seu uso e adubação e correção do solo**. São Paulo: Ultrafertil, Depto. de Serviço Técnicos Agrônômicos, 1979a. 30p.

- MALAVOLTA, E. Nutrição mineral. In: FERRI, M.G. (Coord.) **Fisiologia vegetal 1**. São Paulo: EPU, 1979b. p.77-97.
- MARTINS, C. R.; ANDRADE, J. B. Química atmosférica do enxofre (IV): Emissões, reações em fase aquosa e impacto ambiental. **Química Nova**, v.25, n.2, p.259-272, 2002.
- MAYNARD, D. G.; STEWART, J. W. B.; BETTANY J. R. Sulfur cycling in grassland and parkland soils. **Biogeochemistry**, v.1, p.97-111, 1984.
- MÁXIMO, E.; ROSSETE, A. L. R. M.; OLIVEIRA, C. R.; TRIVELIN, P. C. O.; BENDASSOLLI, J. A. Methodology for obtaining $^{15}\text{(NH}_4\text{)}^{34}\text{SO}_4$ and $\text{H}_2^{34}\text{SO}_4$ from $^{15}\text{(NH}_4\text{)}^{34}\text{SO}_4$ and $\text{Na}_2^{34}\text{SO}_4$ by ion exchange chromatography. in: **International symposium on the synthesis and applications of isotopes and isotopically labeled compounds**, 17., Dresden, 2000. p.44.
- MCDOWELL, C. A. **Mass spectrometry**. New York: McGraw-Hill, 1963. 639p.
- MULVANEY, R. L. Mass spectrometry. In: KNOWLES, R.; BLACKBURN, T.H. (Ed.) **Nitrogen isotope techniques**. San Diego: Academic Press, 1993. p.11-57.
- NEPTUNE, A. M. L.; TABATABAI, M. A.; HANWAY, J. J. Sulfur fractions and carbon-nitrogen-phosphorous-sulfur relationships in some Brazilian and Iowa soils. **Soil Science Society of America Proceedings**, v.39, n.1, p.51-55, 1975.
- MOTT, R. A.; & WILKINSON, H. C. The use of Eschika method for determination of high sulfur contents. **Journal applied chemical**. V. 3, p. 218-223, 1953.
- OLDENBERG, O.; HOLLADAY, W.G. **Introduction to atomic and nuclear physics**. New York: McGraw Hill, 1961.
- PAGE, A. L. **Methods of Soil Analysis**, Chemical and Microbiological Properties. 2^o Edition, Madison. p 501-538, 1982.

- PATNAIK', M. C.; SANTHE, A. Influence of N, P, CaSO₄ on utilization of sulphur by rice in red sandy loam soil. **Journal of Nuclear Agriculture and Biology**. v. 22. n.2, p.75-79, 1993.
- RAFTER, T. A. The preparation of sulfur dioxide for mass spectrometer examination. **Journal of science and Technology**. v.38, p.849-857, 1957.
- RAIJ, BERNARDO V. Gesso Agrícola na melhoria do ambiente radicular no subsolo. São Paulo, ed. **Anda**, 1988.
- RAIJ, V. B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. **Instituto Agrônômico**. p 251-261, 2001.
- REIS, B. F.; GINE, M. F.; KRUG, F. J.; BERGAMIN, F. H. Multipurpose flow injection system. Part 1. Programming dilution and standard additions for plant digest analysis by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. v. 7, 865, 1992.
- REIS, B. F.; GINE, M. F.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, J. L. F. C. E LAPA, R. A.. Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. **Analytica Chimica ACTA**. V. 293, p. 129, 1994.
- REISENAUER, H. M.; WASH, L. M.; HOEFT, R. G. Testing soils for sulfur, boron, molybdenum, and chlorine. In : WALSH, L. M. & BEATON, J. D. Soil testing and plant analysis. **Soil Science Society of American**, Madison, p. 173-200, 1973.
- ROBERTSON, A. J. B. **Mass spectrometry**. New York: John Willey & Sons, 1954. 129p.

- ROCHA F. R. P.; REIS B. F.; ZAGATTO E. A. G.; LIMA J. L. F. C.; LAPA R. A. S.; SANTOS J. L. M. Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends. **Analytica Chimica ACTA**. V. 468, p. 119-131. 2002
- ROSSETE, A. L. R. M. Produção de gesso ($\text{Ca}^{34}\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), marcado no ^{34}S . Piracicaba, 2002. 73p. Dissertação (mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.
- RUZICKA, J. e HANSEN, E.H. Flow injection analysis. Part 1. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica ACTA**. V.78, p.145-157,1975
- SHARMA, V. K.; KAMATH, M. B. Effect of sulphur, phosphorus and calcium on sulphur utilization by mustard (*Brassica juncea* L.) and Pea (*Pisum sativum* L.). **Journal of Nuclear Agriculture and Biology**. V. 20, n.2, p. 123-127, 1991.
- STARKEY, R. A. Relations of microorganisms to transformations of sulfur in soil. **Soil Science**. 70, p. 55-65, 1950.
- STEINBERGS, A.; ISMAA, O.; FRENEY, J. R.; BARROW, N. J. Determination of total sulfur in soil and plant material. **Analytica Chimica ACTA**. v. 27, p. 158-167, 1962.
- SKEGGS, L. T., An automatic method for colorimetric analysis. *Am. J. Clin. Pathol.* v. 28, p. 311, 1957
- TABATABAI, M. A. & BREMNER, J. M. An alkaline oxidation method for determination of total sulfur in soil. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.** v. 34, p. 62-65,1970.
- TRIVELIN, P. C. O; BENDASSOLLI, J. A.; MURAOKA, T.; CARNEIRO JR, F. Sulfur utilization by rice and crotalaria juncea from sulfate- ^{34}S applied to the soil. **Scientia agricola**, v.59, n.1, 2002.

- VALCARCEL, M. e CASTRO, M. D. L.; **Flow Injection Analysis, Principles and Applications**. Ellis Horwood Limited, 40-52,1987.
- VIEIRA J. A.,; REIS B. F; KRONKA E. A. M.; PAIM A. P. S.; GINE M. F. Multicommutation in flow analysis. Part 6. Binary sampling for wide concentration range turbidimetric determination of sulphate in plant digests. **Analytica Chimica ACTA**, v. 366 (1-3), p. 251-255, 1998.
- VITTI, G. C. Avaliação e interpretação do enxofre no solo e na planta. Jaboticabal: FUNEP, p.37, 1989.
- VITTI, G. C. O enxofre na agricultura: situação, perspectivas e sugestões. In: SEMINÁRIO FÓSFORO, CÁLCIO, MAGNÉSIO, ENXOFRE E MICRONUTRIENTES, São Paulo, 1984. **Situação atual e perspectivas na agricultura: anais**. São Paulo: MANAH, p.98-110, 1986.
- WEAST, R. C. **Handbook of chemistry and physics**. 66. Ed. Cleveland: Chemical Rubber, p. B-237, 1985.
- WILLARD, H. H.; MERRITT JUNIOR, L. L.; DEAN, J. A. **Instrumental methods of analysis**. New York: Van Nostrand, 1974. p.455-495: Mass spectrometry.
- WILLIAMS, C. H.; & STEINBERGS, A. Soil sulfur fractions as chemical indices of available sulfur in some Australian soil. **Aust. j. Agriculture Res.**, 10:340-352,1959.
- YANAGISAWA, F.; SAKAL, H. Thermal decomposition of barium sulfate-vanadium pentoxide-silica glass mixtures for preparation of sulfur dioxide in sulfur isotope ratio measurements. **Analytical Chemistry**. v.55, p. 985-987, 1983.
- ZAGATTO, E. A. G.; ARRUDA, M. A. Z.; JACINTO, A. O.; MATTOS, I. L. Compensation of the Schlieren Effect in flow-injection analysis by sing dual wavelenght spectrophotometry. **Analytica Chimica ACTA**. v. 234, p. 153-160, 1990.

ZHAO, F. J.; VERKAMPEN, K. C. J.; BIRDSEY, M.; BLAKE-KALFF, M. M. A.; MCGRATH, S. P. Use of the enriched stable isotope ^{34}S to study sulfur uptake and distribution in wheat. **Journal of plant nutrition**. v. 24 (10), 1551-1560, 2001.