

Ácido ascórbico como agente redutor para determinação de fósforo por colorimetria

Ascorbic acid as a reducing agent for phosphorus analysis by colorimetry

Lenio da Silva Santos^I Leandro Souza da Silva^{II} Gustavo Griebeler^{III}

- NOTA -

RESUMO

Em muitos laboratórios de análises de solos, o ácido 1-Amino-2-naftol-4-sulfônico (ANS) é usado como agente redutor para determinação do P por espectrometria de UV/Visível. Porém, devido aos riscos à saúde dos laboratoristas, uma alternativa é o uso do ácido ascórbico (AA). Entretanto, modificações no protocolo de análise podem induzir a variações nos resultados, havendo a necessidade de padronizá-las e calibrá-las. O objetivo do trabalho foi avaliar o ANS e AA nos extratos de Mehlich-1 e 3 nos intervalos de 15, 30, 45, 60 e 120min de reação. Não houve diferença na concentração de P determinado com ambos redutores quando comparados dentro de cada extrator. O ácido ascórbico pode substituir a solução ANS para determinação de P e o intervalo de tempo de reação sugerido para a quantificação colorimétrica é de 30 a 60min, para ambos redutores.

Palavras-chave: análise de solo, determinação de P, Mehlich-1, Mehlich-3.

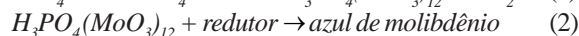
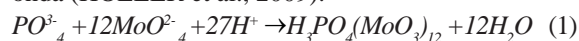
ABSTRACT

In soil laboratory testing, the acid 1-amino-2-naphthol-4-sulfonic (ANS) is used as reducing agent to determine P by UV/Visible spectrometry. However, there are risks to laboratory technician healthy and an alternative is the use of ascorbic acid (AA). But, changes in the analytical protocol may induce variations in results, been necessary to standardize and calibrate. The objective of this study was to evaluate the ANS and AA in extracts of Mehlich-1 and 3 in ranges 15, 30, 45, 60 and 120min of reaction. There was no difference in P concentration determined by both reducers when compared within each extractor. Ascorbic acid can substitute the ANS solution for P determination and the suggested reaction interval for colorimetric quantification is between 30 and 60min for both substances.

Key words: soil test, reducing agents, Mehlich-1, Mehlich- 3.

A análise química do solo tem sido um instrumento usado como base para avaliar a fertilidade dos solos e, conseqüentemente, para as recomendações de adubação e calagem. Os laboratórios de rotina de análises de solo no Brasil utilizam basicamente dois métodos para determinar o P disponível no solo, a resina trocadora de anions (RTA) e o extrator Mehlich-1 (M1) (SILVA & RAIJ, 1999). Com o uso da técnica de ICP –OES (inductively couple plasma - optical emission spectrometry) e extratores multielementares, por exemplo, Mehlich-3 (M3), há uma maior eficiência dos laboratórios (BORTOLON et al., 2011),

A quantificação do P dos extratos do M1 e M3 tem sua base na reação entre os íons ortofosfato (PO_4^{3-}) com o molibdato (MoO_4^{2-}) em meio fortemente ácido, formando o heteropoliácido 12-molibdofosfórico (equação 1), o qual é reduzido à azul de molibdênio (equação 2), cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de íons fosfato presentes na amostra (MASINI, 2008), sendo quantificado por espectrofotometria de ultravioleta/visível (UV/VIS) em determinado comprimento de onda (HOLLER et al., 2009).



O método M1, adaptado por TEDESCO et al. (1995), usa como solução redutora uma

^IPrograma de Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

^{II}Departamento de Solos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: leandrosolos@ufsm.br. Autor para correspondência.

^{III}Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

mistura de ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfônico ($C_{10}H_9NO_4S$), metabissulfito de sódio ($Na_2S_2O_5$) e sulfito de sódio (Na_2SO_3), denominada de solução ANS ou PC. Entretanto, essa solução apresenta alguns inconvenientes, como custos dos reagentes, riscos à saúde dos laboratoristas e contaminação ambiental, o que induziu alguns laboratórios a adotar como alternativa a solução de ácido ascórbico 20% (m/v). Embora o ácido ascórbico venha sendo usado como agente redutor na análise de P para outros métodos (HARRIS et al., 2005; HUANG & ZHANG, 2008), a velocidade da reação de redução pode ser influenciada, assim como a estabilidade da cor (MASINI, 2008). Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar os resultados obtidos pela solução ANS e ácido ascórbico a 20% (m/v), utilizados na quantificação de P extraídos de amostras de solo pelos extratores Mehlich-1 e Mehlich-3, considerando os procedimentos usados na Rede Oficial de Laboratórios de Análises de Solos do RS e SC (ROLAS-RS/SC).

O estudo foi conduzido nos laboratórios da Universidade Federal de Santa Maria/UFSM e da Universidade Regional Integrada – URI, Campus de Frederico Westphalen. Foram selecionadas 12 amostras de solo da camada superficial (0-20cm) nas regiões geomorfológicas do Planalto e da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul e no Oeste de Santa Catarina, com diferentes teores de argila, devido a sua influência sobre a capacidade de extração do extrator Mehlich-1 (TEDESCO et al., 1995), e com diferentes níveis de P disponível no solo (Tabela 1). O P das amostras de solo foi extraído pela solução de Mehlich-1 (M1), conforme TEDESCO et al. (1995), e pela solução Mehlich-3 (M3), conforme SCHLINDWEIN (2003) e BORTOLON et al. (2011). Como agentes redutores, foram utilizadas a solução ANS (TEDESCO et al., 1995) e uma solução aquosa e ácido ascórbico (AA) 20% (m/v). Todas as soluções foram preparadas com água deionizada. A influência do tempo da reação de redução do complexo fosfomolibdico pelo agente redutor foi testada após adição de todas as soluções em intervalos de tempo de 15, 30, 45, 60, e 120 min. Os tratamentos foram dispostos num delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial $2 \times 2 \times 5 \times 12$ (métodos x redutores x tempos x solos), com quatro repetições. Foi realizada a análise de variância ($P < 0,05$) e, quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) para os fatores qualitativos e, para o fator quantitativo, foi feita análise de regressão ($P < 0,05$), excluindo-se o solo NI4/A pelo valor ser muito acima do nível Alto (Tabela 1).

Não houve efeito significativo do fator agente redutor utilizado tanto isolado como em combinação com os demais fatores avaliados, com uma média geral de 23,3 e 23,5mg dm^{-3} de P nos solos para as análises utilizando o ANS e AA, respectivamente. Os valores de P quantificados com o uso do redutor ANS correlacionaram significativamente com os do redutor AA, tanto para os extratos do M1 e do M3, com coeficientes de correlação entre o teor de P determinado com ANS e AA nos extratos de M1 e M3 de, respectivamente, 0,99 e 0,97 (Figura 1). Assim, em virtude do alto grau de associação e significância entre os agentes redutores, o AA pode ser usado para determinação do P disponível em amostras de solo em substituição ao redutor ANS pelos laboratórios de análises de solo, tanto nos extratos do M1 quanto do M3.

Os fatores métodos x tempo x solos apresentaram interação significativa ($P < 0,05$). Porém, o fator solo pode ser desconsiderado em função de pertencerem a classes de solos distintas e terem sido coletados em locais em diferentes condições de uso, o que naturalmente condiciona o teor de P variado nas amostras, sendo, portanto, independente dos métodos de extração e da fonte de variabilidade.

Em relação aos métodos, foram encontradas diferenças entre M1 e M3 para alguns solos e em alguns tempos de reação, considerando a média dos valores obtidos com os dois agentes redutores (Tabela 1). Neste caso, percebe-se que as diferenças ocorreram para os solos de textura mais arenosa e com o M3 extraindo maiores valores que o M1. O maior teor de P extraído pelo método M3 foi observado em outro estudo (BORTOLON et al., 2011) e isso é, em parte, atribuído às características químicas desse método, que extrai preferencialmente o P ligado ao Fe e ao Al, e parte do P ligado ao Ca.

Quanto ao efeito do tempo da reação de redução do complexo fosfomolibdico pelo agente redutor, quando significativo, os valores das médias dos dois agentes redutores para os métodos M1 e M3 em função do solo foram relacionados com os tempos de reação e obtidos ajustes de regressão (Tabela 1). Assim, pressupõe-se que os extratos do M1 e M3 de amostras de solos podem sofrer aumento nos valores de P com o tempo da reação, provavelmente devido à ocorrência de diferentes formas de P nas partículas coloidais das argilas presentes nos extratos (SOARES et al., 2012). Essas formas não são quantificadas inicialmente, mas com o decorrer do tempo, em função do excesso do íon

Tabela 1 - Valores das médias dos dois agentes redutores comparando os métodos em função do solo e do tempo de reação.

Tempo de Reação	Método	-----Solo-----											
		LCm	LFWc	LCI	LBVm	NFWc	NFWm	PSMI	CBGm	All	NIm	PSMI	PSMI
		1/A	1/B	1/A	1/B	2/MB	2/MB	3/A	3/M	3/M	4/MA	3/M	2/A
Min		-----P, mg dm ⁻³ -----											
15	M1	9,9	2,2	9,1	2,7	1,7	2,7	21,1 ⁽²⁾	11,8b	9,8	131,0b ⁽⁴⁾	8,9	10,1
	M3	9,9	2,1	9,1	2,8	1,6	2,4	24,3 ⁽³⁾	17,6a	11,9	161,4a ⁽⁵⁾	11,4	11,4 ⁽⁶⁾
30	M1	10,4	2,5	9,7	2,6	2,0	2,8	27,7 ⁽²⁾	12,5b	10,4	132,2b ⁽⁴⁾	8,9b	10,2b
	M3	11,0	2,5	9,5	3,1	1,7	2,4	29,8 ⁽³⁾	17,9a	13,1	170,9a ⁽⁵⁾	14,2a	16,3a ⁽⁶⁾
45	M1	10,9	3,4	11,1	3,4	3,6	4,3	29,8b ⁽²⁾	13,7b	11,6	132,8b ⁽⁴⁾	9,3b	11,6b
	M3	11,1	2,5	9,5	3,2	2,0	2,7	42,8a ⁽³⁾	18,3a	13,8	171,6a ⁽⁵⁾	14,8a	16,6a ⁽⁶⁾
60	M1	11,3	3,5	11,0	3,1	3,7	5,1	30,4b ⁽²⁾	13,4b	11,1	138,3b ⁽⁴⁾	10,8b	13,3b
	M3	11,7	2,7	10,0	3,2	2,1	2,7	47,3a ⁽³⁾	19,3a	14,4	175,0a ⁽⁵⁾	16,2a	17,3a ⁽⁶⁾
120	M1	12,1	4,7	11,5	3,7	3,0	4,1	33,6b ⁽²⁾	14,4b	12,3	168,2b ⁽⁴⁾	13,2	11,3b
	M3	12,6	3,1	10,6	4,0	2,4	3,1	51,6a ⁽³⁾	21,8a	15,6	214,2a ⁽⁵⁾	17,0	19,3a ⁽⁶⁾
Legenda		Classe de solo			Local de coleta		Uso do solo	Classe textural ⁽⁴⁾		Níveis de suficiência P			
LCm 1/A		Latossolo			Condor		mato	1		Alto			
LCI 1/A		Latossolo			Condor		lavoura	1		Alto			
LFWc 1/B		Latossolo			Frederico Westp.		campo	1		Baixo			
LBVm 1/B		Latossolo			B. V. das Missões		mato	1		Baixo			
NFWm 2/MB		Neossolo			Frederico West.		mato	2		Muito baixo			
NFWc 2/MB		Neossolo			Frederico West.		campo	2		Muito Baixo			
PSMI 2/A		Planossolo			Santa Maria		lavoura	2		Alto			
PSMI 3/A		Planossolo			Santa Maria		lavoura	3		Alto			
PSMI 3/M		Planossolo			Santa Maria		lavoura	3		Médio			
All 3/M		Argissolo			Itaara		lavoura	3		Médio			
CBGm 3/M		Cambissolo			Bento Gonçalves		mato	3		Médio			
NIm 4/MA		Neossolo			Itapiranga		mato	4		Muito Alto			

⁽¹⁾ Classificação dos solos quanto às classes texturais 1, 2, 3 e 4 correspondentes a teores de argila $\geq 600\text{g dm}^{-3}$, 410 a 600g dm^{-3} , 210 a 400g dm^{-3} e $<200\text{g dm}^{-3}$, respectivamente. As letras correspondem aos níveis de suficiência de P muito alto (MA), alto (A), médio (M), baixo (B) e muito baixo (MB), de acordo com a CQFS-RS/SC (2004); Médias seguidas de letras na coluna e dentro de cada tempo diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As regressões significativas para o tempo de reação em cada solo e método foram:

$$^{(2)} y = 17,424 + 0,3408x - 0,0017x^2 \quad R^2 = 0,94$$

$$^{(3)} y = 10,840 + 0,8702x - 0,0044x^2 \quad R^2 = 0,97$$

$$^{(4)} y = 131,94 - 0,1122x + 0,0035x^2 \quad R^2 = 0,99$$

$$^{(5)} y = 161,94 + 0,0754x + 0,0030x^2 \quad R^2 = 0,98$$

$$^{(6)} y = 9,4431 + 0,2066x - 0,0010x^2 \quad R^2 = 0,88.$$

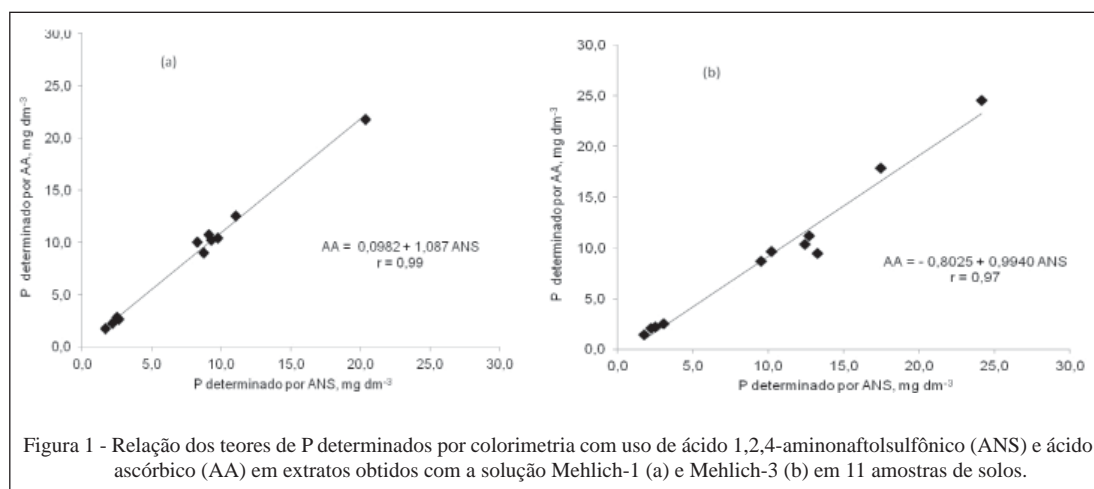
molibdato (MoO_4^{2-}) adicionado na solução, podem reagir e formar mais complexo fosfomolibdico, o qual vem a ser reduzido e quantificado como P extraível. Embora o comportamento matemático seja quadrático, percebe-se que os valores se alteram mais intensamente antes de 30min e após 60min, indicando que, nesse intervalo, devam ser feitas as determinações colorimétricas de P, independente do extrator utilizado.

Com base nesses resultados, conclui-se que o ácido ascórbico pode substituir o ácido 1-2-4 aminonaftolsulfônico para determinação de P no

solo e o intervalo de tempo de reação sugerido para a quantificação colorimétrica é entre 30 a 60min, para ambos redutores.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro e pelas bolsas de Mestrado, Doutorado e Produtividade em Pesquisa dos autores.



REFERÊNCIAS

BORTOLON, L. et al. simultaneous extraction of phosphorus, potassium, calcium and magnesium from soils and potassium recommendations for crops in Southern Brazil. *Pedosphere*, v.21, p.365-372, 2011. Available from: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1002016011601379>>. Accessed: Jan. 17, 2013. doi:10.1016/S1002-0160(11)60137-9.

HARRIS, J.R. et al. Molybdenum blue: binding to collagen fibres and microcrystal formation, *Micron*, v.36, p.387-391, 2005. Available from: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968432805000545>>. Accessed: Jan. 10, 2013. doi: 10.1016/j.micron.2005.03.011.

HOLLER, F.J. et al. **Princípios de análise instrumental**. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1056 p.

HUANG, X.L.; ZHANG, J.Z. Kinetic spectrophotometric determination of submicromolar orthophosphate by molybdate reduction. *Microchemical Journal*, v.89, p.58-71, 2008. Available from: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X07001610>>. Accessed: Jan. 10, 2013. doi:10.1016/j.micron.2007.12.001.

MASINI, J.C. Demonstrando os fundamentos, potencialidades e limitações da análise por injeção sequencial. *Química Nova*,

v.31, p.704-708, 2008. Available from: <<http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2008/vol13n3/39-ED07348.pdf>>. Accessed: Jan. 17, 2013.

SCHLINDWEIN, J.A. **Calibração de métodos de determinação e estimativa de doses de fósforo e potássio em solos sob plantio direto**. 2003. 169f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Curso de Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS.

SILVA, F.C. da; RAIJ, B. van. Disponibilidade de fósforo em solos avaliada por diferentes extratores. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.34, p.267-288, 1999. Available from: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/pab/v34n2/8737.pdf>>. Accessed: Jan. 12, 2013.

SOARES, R. et al. Comparação de métodos convencional e alternativo para determinação de sódio, potássio e fósforo em extratos de solos obtidos com solução de mehlich-1. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.36, p.105-111, 2012. Available from: <www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832012000100012&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Jan. 10, 2013. doi:10.1590/S0100-06832012000100012.

TEDESCO, M.J. et al. **Análises de solos, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5).