

DETERMINAÇÃO DE SILÍCIO EM MATERIAL VEGETAL, PELO MÉTODO COLORIMÉTRICO DO "AZUL-DE-MOLIBDÊNIO" (1). PEDRO ROBERTO FURLANI e JOSÉ ROMANO GALLO (2). Embora o silício seja encontrado em todas as plantas em quantidades variáveis, sua essencialidade ainda não foi demonstrada, mesmo com a utilização de refinadas técnicas de cultivo por hidroponia. Entretanto, as pesquisas efetuadas por diversos autores mostram que para as gramíneas, particularmente cana-de-açúcar e arroz, o silício exerce alguns efeitos benéficos, entre os quais incluem-se a influência na arquitetura da planta, o impedimento à toxidez devida ao excesso de manganês, e aumento à resistência das plantas às pragas e moléstias. Uma revisão da literatura sobre esse assunto foi feita por Gallo e outros (3).

O método colorimétrico baseado na formação do complexo molibdo-silícico reduzido ou "azul-de-molibdênio", tem sido o mais utilizado para determinação de silício em plantas. Porém, o sucesso da aplicação desse método está condicionado à dissolução da sílica presente nos materiais vege-

tais. Dentre as diversas técnicas existentes, destacam-se as baseadas na fusão da amostra com substâncias alcalinas, como carbonato de sódio (4) e hidróxido de sódio (5, 6) e as baseadas na fluorização, em presença de excesso de ácido bórico (7).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar a determinação de silício em materiais vegetais, para se estabelecer um procedimento simples de elevado rendimento analítico.

Material e métodos: O material vegetal constituiu-se de dez amostras de diferentes plantas citadas no quadro 3, e todas as determinações foram feitas com três repetições.

Foram utilizados as seguintes soluções e reativos: NaOH a 40%, NaOH a 10%, H₂SO₄ 5N, ácido ascórbico a 2%, ácido oxálico a 10%, e molibdato de amônio a 5%. Para este último, dissolveram-se 12,5 g do sal em água destilada a 80°C, esfriou-se e completou-se o volume a 250 ml com água destilada. Em seguida, transferiu-se a solução obtida para frasco de plástico.

(1) Pesquisa realizada com o auxílio do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico. Fundepro-42. Trabalho apresentado na XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada no Rio de Janeiro — RJ, de 8 a 14 de julho de 1973. Recebido para publicação em 7 de maio de 1977.

(2) Com bolsas de suplementação do C.N.Pq.

(3) GALLO, J. R.; FURLANI, P. R.; BATAGLIA, O. C. & HIROCE, R. Teores de silício em gramíneas cultivadas e forrageiras. *Ci. e Cult.* 26(4):286-292, 1974.

(4) DABIN, B.; BRION PELLOUX, J. C.; RIVOALEN, J. & F. ROBIN. Determination of silica in soil extracts. *Cah. Orston, Pedol.* 6(2):225-233, 1968.

(5) FOX, R. L.; SILVA, J. A.; PLUCKNETT, D. L. & TERANISHI, D. Y. Soluble and total silicon in sugar cane. *Plant and Soil* 30:81-92, 1969.

(6) KILMER, V. J. Silicon. In: Black, C. A., Ed. *Methods of soil analysis*. Agronomy 9:959-962, 1965.

(7) GLORIA, N. A. & RODELLA, A. A. Determinação colorimétrica do silício em vegetais. *An. Esc. Agric. Queiroz* 28:83-99, 1971.

Solução-padrão — “estoque” de silício contendo 100 microgramas de Si por mililitro — Transferiram-se 0,1070 g de SiO_2 p.a. para cadinho de níquel, adicionaram-se 2 ml de solução de NaOH a 40%, levou-se à mufla e deixou-se fundir à temperatura de 400-450°C, durante 30 minutos. Em seguida, o resíduo foi dissolvido em água destilada e a solução obtida foi transferida quantitativamente para balão volumétrico de 500 ml e após completar o volume com água destilada, transferiu-se esta solução para frasco de plástico.

Por diluição da solução-padrão “estoque” foi preparada uma solução-padrão “de uso”, contendo 5 microgramas de Si por mililitro.

Procedimento: Foram transferidos 100 mg de amostra seca e moída para cadinho de níquel e incinerados a 450-500°C, durante 30 minutos. Deixou-se esfriar e adicionou-se às cinzas obtidas 1 ml de solução de hidróxido de sódio a 10%. Levou-se à mufla e deixou-se aquecer a 400-450°C, durante 20 minutos. Em seguida, o resíduo esfriado foi dissolvido com 10 ml de água destilada. Transferiu-se uma alíquota de 2 ml para balão volumétrico de 100 ml e completou-se o volume com água destilada. Após a homogeneização, transferiram-se 10 ml para balão volumétrico de 50 ml, adicionaram-se água destilada até um volume de 25 ml, 1 ml de solução de ácido sulfúrico 5 N, 2 ml de solução de molibdato de amônio e deixou-se em repouso por 5 minutos. Em seguida, foram adicionados pela ordem e seguidos de

agitação, os seguintes reativos: 1 ml de solução de ácido oxálico, 3 ml de solução de ácido sulfúrico e 1 ml de solução de ácido ascórbico. Após completar o volume com água destilada, homogeneizou-se e decorridos 15 minutos após a adição do último reativo, procedeu-se à leitura no colorímetro Klett-Summerson, usando filtro n.º 66, contra prova em branco. A concentração de silício na amostra foi avaliada através de uma curva-padrão previamente determinada com as concentrações de silício variáveis de 0 a 1 micrograma por mililitro.

Resultados e discussão: O composto “azul-de-molibdênio” resulta da redução do ácido molibdo-silícico obtido pela condensação, em meio ácido, dos ânions silicato e molibdato. Portanto, o método em questão consta de dois procedimentos distintos: formação do complexo molibdo-silícico (coloração amarela) e da redução deste composto para o “azul-de-molibdênio”.

a) Estabilidade do composto “azul-de-molibdênio” — Os resultados iniciais revelaram a existência de uma variação bastante grande nas absorbâncias em função do tempo decorrido após a adição do redutor (ácido ascórbico), inclusive nas soluções isentas de silício, sugerindo uma possível solubilização da sílica contida nas paredes dos balões de vidro (7). Entretanto, verificou-se que o problema persistia mesmo com a utilização de recipientes de plástico em substituição aos balões de vidro.

De acordo com Hargis (8, 9), a instabilidade do composto azul está diretamente relacionada com as condições de acidez do meio, para a redução do ácido sílico-molibdico.

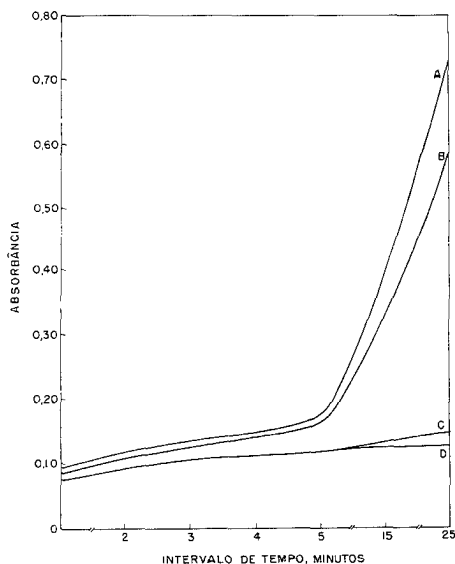


Figura 1. - Efeito da concentração de ácido sulfúrico na variação da absorvância do complexo sílico-molibdico em função do tempo de repouso após a adição do último reativo. As curvas A, B e C correspondem respectivamente a 5, 10 e 15 miliequivalentes de H_2SO_4 por 50 ml, e a curva D, a 20 e 25 miliequivalentes de H_2SO_4 por 50 ml.

Assim, os resultados obtidos evidenciaram que 15 meq. de H_2SO_4 são suficientes para ocasionar a estabilização da coloração do composto "azul-de-molibdênio", conforme se verifica pela figura 1.

b) Efeito da acidez e da quantidade de reativo na formação do ácido sílico-molibdico. Segundo Hargis (8), o ácido sílico-molibdico apresenta duas formas isômeras *alfa* e *beta*, presentes quando a relação entre o número de moles de ácido com o de molibdato é menor que 1,5 e igual ou maior que 2,0, respectivamente. Considerando que o isômero *beta*, quando formado, se converte espontaneamente para a forma estável *alfa*, a acidez do meio e a quantidade de reativo devem ser adequadas para não comprometer a eficiência do método, uma vez que o isômero *beta* possui maior absorvância molar que o isômero *alfa*.

Os dados obtidos segundo o procedimento adotado e a partir de quantidades variáveis de silício (quadro 1) mostram que 5 meq. de H_2SO_4 e 2 ml de solução de molibdato de amônio a 5% asseguram a formação do complexo sílico-molibdico.

Nessas condições de acidez e de quantidade de reativo, 10 minutos são suficientes para a formação completa do composto colorido (figura 2). A queda do valor da absorvância pode ser atribuída à conversão do isômero *beta* para o *alfa* (9).

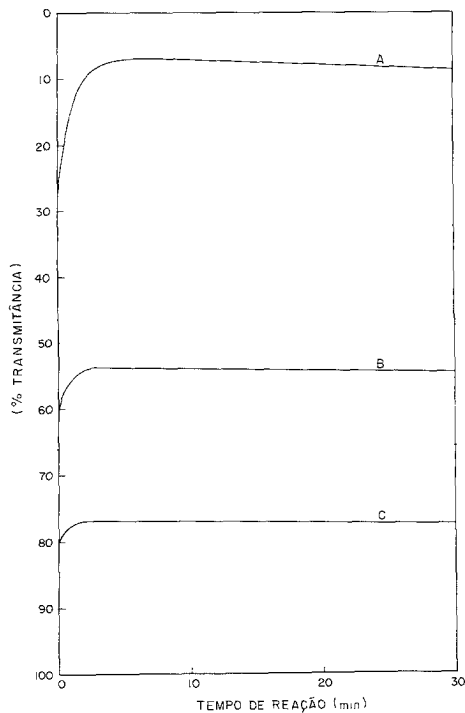
c) Estudo sobre o espectro de absorção do composto colorido

(8) HARGIS, L. G. Spectrophotometric kinetic study of formation of beta-12-molybdosilicic acid. Anal. Chem. 42:1494-1497, 1970.

(9) HARGIS, L. G. Spectrophotometric study of formation and reduction of alpha-12-molybdosilicic acid. Anal. Chem. 42:1497-1500, 1970.

QUADRO 1. — Efeitos da acidez e da quantidade de reativo na formação do complexo sílico-molibdico. Leituras obtidas no colorímetro Klett-Summerson, filtro n.º 66, contra prova em branco

Quantidade de silício	H ₂ SO ₄	Leitura	Molibdato de amônio a 5%	Leitura
µg	meq		ml	
0	0,5	0	0,5	0
20	0,5	70	0,5	20
40	0,5	134	0,5	67
0	1,5	0	1,0	0
20	1,5	76	1,0	71
40	1,5	146	1,0	125
0	3,0	0	1,5	0
20	3,0	82	1,5	86
40	3,0	165	1,5	170
0	5,0	0	2,0	0
20	5,0	84	2,0	88
40	5,0	165	2,0	170
0	7,5	0	3,0	0
20	7,5	32	3,0	85
40	7,5	67	3,0	172
0	—	—	4,0	0
20	—	—	4,0	87
40	—	—	4,0	170



— Examinando os dados da figura 3, verifica-se que o máximo de absorção situa-se num comprimento de onda de 800 nm. Embora este seja o comprimento de onda mais sensível, só pode ser empregado mediante a utilização de espectrofotômetros especiais. Constata-se também que o ponto de inflexão da curva ocorre ao redor de 660 nm. Por isso, para uso em colorímetros, pode ser indicado o filtro n.º 66. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por outros autores (5, 7).

d) Interferentes — Dos elementos contidos em cinzas de material vegetal, somente o fósfo-

Figura 2. - Variação da transmittância do complexo sílico-molibdico em função do tempo de repouso após a adição do reativo molibdato de amônio. As curvas A, B e C correspondem às concentrações de 800, 400 e 200 microgramas de Si/50 ml.

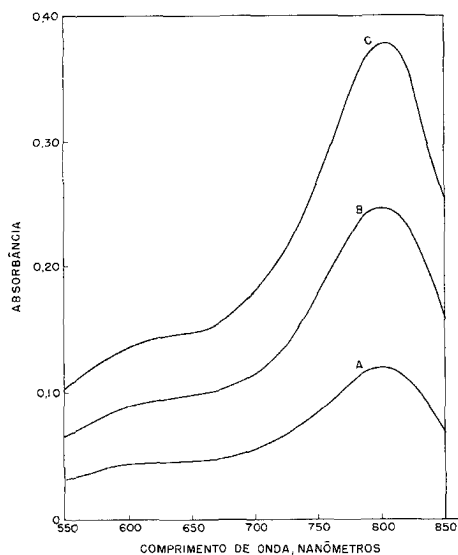


Figura 3. - Espectros de absorção do complexo silício-molibdênio. As curvas A, B e C foram obtidas com 10, 20 e 30 microgramas de silício/50 ml, respectivamente.

ro tem sido considerado interferente na determinação do silício pelo método colorimétrico do "azul-de-molibdênio".

Dentre os complexantes recomendados para a sua eliminação, citam-se os ácidos tartárico ⁽¹⁰⁾ e oxálico ⁽⁴⁾.

Utilizando ácido oxálico a 10%, verifica-se que 1 ml dessa solução é suficiente para a completa eliminação da interferência devida até 200 microgramas de fósforo, na solução de análise, conforme o quadro 2.

e) Estudo da precisão e da exatidão do método na análise de material vegetal — O estudo da

precisão foi feito determinando-se o teor de silício em diversos materiais vegetais, com três repetições, e analisando-se os dados obtidos através dos coeficientes de variação e dos erros padrões das médias.

Pelo exame dos erros padrões das médias e dos coeficientes de variação apresentados no quadro 3, e considerando que o coeficiente de variação médio para os dez vegetais estudados foi de 3,98%, pode-se afirmar que o método tem aceitável precisão na determinação do Si em materiais vegetais.

A exatidão do método foi avaliada através de um ensaio de recuperação, utilizando-se as mesmas amostras de materiais vegetais do estudo da precisão. Prepararam-se novos extratos aos quais foram acrescentadas quantidades conhecidas de Si e em seguida procedeu-se à aplicação do método. Os dados obtidos, com três repetições, bem como os cálculos relativos à quantidade de silício recuperada, encontram-se no quadro 3.

Portanto, em vista destes dados encontrados, pode-se considerar que o método também apresenta exatidão, quando aplicado na determinação de silício em plantas.

Conclusões: Os resultados obtidos indicaram que:

a) Para a formação e a redução do composto silício-molibdênio são necessários 5 meq. e 20 meq. de H₂SO₄, respectivamente.

⁽¹⁰⁾ MYSUMI, S. & TARUTANI, T. Colorimetric determination of silica in the presence of large amounts of phosphate by using reagents for decomposition of molybdophosphoric acid. *Bunsoki Kagaku* 10:113-117, 1961.

QUADRO 2. — Efeito da interferência do fósforo na determinação do silício pelo método do “azul-de-molibdênio” e sua eliminação pelo ácido oxálico. Leituras obtidas no colorímetro Klett-Summerson, filtro n.º 66, contra prova em branco

Quantidade de silício/50 ml	Quantidade de fósforo/50 ml†	Solução de ácido oxálico	
		0 ml	1 ml
μg	μg	Leituras	
0	0	0	0
0	50	75	0
0	100	150	0
0	200	305	0
25	0	105	104
25	50	162	105
25	100	236	105
25	200	395	104
50	0	212	214
50	50	246	213
50	100	325	212
50	200	470	215

QUADRO 3. — Precisão da determinação e recuperação de silício adicionado a extratos vegetais. Quantidade adicionada em cada amostra 10,0 μg , exceto para arroz, em cuja amostra foram adicionados 20,0 μg de silício

Material	Concentrações médias de silício	C.V.	Silício determinado		Recuperação
			Na amostra	Na amostra + adição	
	%	%	μg	μg	%
Milho IAC-9 (folhas normais)	0,85 \pm 0,02	2,35	17,0	27,3	101,1
Milho IAC-40 (folhas erectas)	1,24 \pm 0,06	4,84	24,7	35,3	101,7
Sorgo (folhas)	1,42 \pm 0,05	3,52	28,5	38,2	99,2
Cana (folhas)	0,96 \pm 0,01	1,04	19,3	28,4	96,9
Citros (folhas)	0,40 \pm 0,01	2,50	7,9	17,6	98,3
Capim (parte aérea)	2,21 \pm 0,03	1,36	44,1	52,6	97,2
Arroz (parte aérea)	1,44 \pm 0,07	4,86	28,8	49,2	100,8
Amendoim (folhas)	0,38 \pm 0,03	7,89	7,5	17,3	98,9
Bambu (folhas)	2,03 \pm 0,03	1,48	40,6	51,0	100,8
Eucalipto (folhas)	0,30 \pm 0,03	10,00	6,0	16,1	100,6

b) O uso de 1 ml de solução de ácido oxálico a 10% é suficiente para a eliminação de até 100 microgramas de P em 50 ml de solução.

c) Tanto o processo de solubilização do silício mediante fusão

com NaOH, quanto o método de análise "de per si", mostram-se eficientes, podendo ser utilizados para a análise em série, nos laboratórios de análises de plantas.
SEÇÃO DE QUÍMICA ANALÍTICA, INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO DE S. PAULO.

DETERMINATION OF SILICON IN PLANTS BY THE MOLIBDENUM-BLUE
COLORIMETRIC METHOD

SUMMARY

Some aspects of the molybdenum-blue method of silicon determination in plants were studied. It was verified that the formation of the beta-isomer of the silicomolibdic acid, whose molar absorptivity is higher, depends on the solution acidity and the amount of reagent added. This isomer was obtained by adding 5 meq of H_2SO_4 and 2 ml of a 5% ammonium molybdate solution in a 50 ml calibrated flask. After reduction, the molybdenum-blue formed was stabilized by adding 15 meq of H_2SO_4 more. The procedure also involves adding 1 ml of 10% oxalic acid solution, in order to eliminate phosphorus interference. The silicon solubilization, from 100 mg of dry material, was obtained by melting the ashes in nickel dishes with sodium hydroxide. This procedure proved suitable and accurate in the analysis of silicon in plants.