

REVISTA DE AGRICULTURA

DIRETORES

Prof. N. Athanassof
Prof. Octavio Domingues
Prof. S. T. Piza Junior
Prof. Carlos T. Mendes
Prof. Ph W. C. Vasconcellos

Publicação bi-mensal de ensinamento teórico e prático

Vol. 24

SETEMBRO-OUTUBRO 1949

N. 9 - 10

Sulfatos e Sulfatação em terra roxa

(Nota preliminar)

EURÍPEDES MALAVOLTA

Assistente de Química Agrícola da Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz"

I

INTRODUÇÃO

O enxofre é, na expressão de Alway (1), um elemento menosprezado nas pesquisas agronômicas. Entretanto, Bertrand citado por Demolon (6), em conclusão aos seus trabalhos sobre a distribuição do S na terra arável e nos vegetais, acha que os "agrônomos deveriam se preocupar com o S como fazem com o N, o P₂O₅ e o K₂O e usá-lo como adubo".

Para justificar a afirmativa de Bertrand, vejamos rapidamente algumas das funções dos compostos de S na nutrição

animal (5) : os aminoácidos metionina e cistina são as pedras angulares das proteínas do corpo; a insulina sintetizada no pâncreas é uma proteína rica em cistina; tiosulfatos em adição à dieta de proteína muitas vezes previnem a eczema e a dermatite; os sulfatos principalmente oriundos da oxidação das proteínas desempenham papel muito importante no balanço iônico dos tecidos; a cisteína do glutathione e talvez de outros complexos cisteínicos tem influência acentuada nos processos de oxidação e redução do organismo animal.

Ainda que a proporção de S nas proteínas varie grandemente, sendo baixa na legumina e na zeína e muito alta na queratina dos apêndices epidérmicos como unhas e cabelos, **Sherman** escreve que as proteínas de nossos alimentos habituais, tanto de origem vegetal como animal, contém aproximadamente 1% de S e 16% de N.

O fato de as plantas sintetizarem tantos compostos de S, muitos dos quais essenciais à nutrição animal e vegetal e ao desenvolvimento, além do fato de que em muitos vegetais (principalmente crucíferas) (3,17) a proporção de S ser maior que a de P₂₀₅ coloca o S na mesma linha de importância ocupada pelo N e pelo P₂₀₅, justificando os ensaios preliminares aqui relatados e os outros em andamento até mesmo porque nada de semelhante pudemos encontrar na literatura brasileira.

II

DETERMINAÇÃO DOS SULFATOS EM EXTRATO CLORÍDRICO DE TERRA ROXA

A amostra de terra roxa usada foi colhida em um bosque natural da Fazenda Modelo da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". A análise física (Bouyoucos) revelou o seguinte :

areia total	47,74%
argila	46,26%
lodo	6,00%

O método usado encontra-se parte em **Ravenna** (13), parte em **Hosking** (11) apresentando pequenas modificações por nós introduzidas, seguindo **Hillebrand** (9) e **Treadwell** (16).

Devemos dizer entretanto que ainda não é definitivo.

O método é o seguinte: Toma-se 100 gramas de T.F.S.A. e coloca-se em um balão de 1l., adiciona-se 200cc. de HCl a 10 % e pesa-se. Coloca-se na boca do balão um tubo condensador e leva-se ao banho-Maria durante 3 horas, agitando-se de 15 em 15 minutos. Depois desse tempo retira-se o balão do banho-Maria, deixa-se esfriar, põe-se na balança e completa-se com água destilada ao peso primitivo. Adiciona-se 300cc. de água destilada. Agita-se bem, deixa-se repousar e filtra-se. Do filtrado toma-se 400cc. No fundo de uma cápsula de porcelana coloca-se 10cc. de HN03 conc. (cujo fim é destruir a matéria orgânica) e nesta cápsula vai-se colocando aos poucos, sobre a ácido nítrico, os 400cc. do filtrado para evaporar a seco. Terminada a evaporação seca-se o residuo em estufa a 120° para desidratar a sílica.

O residuo é desfeito com 20cc. de HCl conc.; aquece-se ligeiramente e adiciona-se 150cc. de água. Cobre-se a cápsula com um vidro de relógio e deixa-se digerir durante 10 minutos a uma temperatura próxima do ponto de ebulição. Filtra-se para um balão de 250cc., lava-se duas vezes com água clorídrica até completar o volume do balão. Tem-se assim o extrato clorídrico da terra.

O ferro e outros elementos que são precipitados pelo hidróxido de amônio sem formação de sulfatos básicos, podem ser separados do ion sulfato por dupla precipitação como segue: junta-se amoníaco concentrado até não haver mais formação de precipitado. Filtra-se e lava-se com água quente, guardando-se o filtrado. O precipitado é a seguir dissolvido em um pequeno excesso de HCl conc. e o seguir repete-se a precipitação e a filtração, juntando-se os dois filtrados em um beaker. Evapora-se o filtrado até 50 cc., acidifica-se ligeiramente com HCl, aquece-se a ebulição por alguns minutos, filtra-se de novo, dilui-se a 250 cc., toma-se um parte alíquota conveniente, aquece-se à ebulição e precipita-se o ion sulfato por um exces-

so de BaC12 N (para cada mg de S03 junta-se 6 cc. de BaC12). Aquece-se o líquido à ebulição durante 5 minutos e deixa-se repousar uma noite. Filtra-se por papel Whatman n. 42 e lava-se o precipitado com água quente até que um test para cloretos revele apenas leve opalescência. Seca-se o papel em estufa a 110° C., coloca-se em cadinho tarado, carboniza-se o popel sem formação de chama; queima-se o carvão mantendo-se o cadinho inclinado afim de facilitar a entrada do ar, assegurando-se boas condições oxidantes e finalmente aquece-se à temperatura de 900° C. aproximadamente até pêso constante.

O enxofre separado por filtração pode ser avaliado como S03 ou como S; no primeiro caso basta multiplicar o pêso do precipitado por 0,343 e no segundo caso, por 0,137.

O resultado médio de 4 determinações foi o seguinte :

BaS04 mg	S03 % T.F.S.A.	S % T.F.S.A.
0.135	0.0591	0.0231

III

DETERMINAÇÃO DO PODER DE SULFATAÇÃO

("SULFOFICATION POWER") EM TERRA RÔXA

Quando as proteínas são decompostas (14) por via bacteriana, o enxofre aparece como H²S e eventualmente como mercaptan. O H²S é então atacado pelas sulfobactérias: é primeiro oxidado a S, depois a sulfato e nesta forma é absorvido pelas plantas entrando para a constituição da molécula protéica; daqui, repete-se o ciclo.

Em certas condições anaeróbicas, os sulfatos em vez de serem absorvidos pelas plantas, são reduzidos a sulfetos; por outro lado o S elementar pode também ser reduzido a H²S.

As bactérias oxidantes são autotróficas, obtendo carbono

do CO_2 do ar e energia à custa de oxidação de substâncias inorgânicas. Se enquadram em três grupos que oxidam respectivamente: —

1. o H_2S a S elementar que se deposita nas células;
2. o H_2S e também tiosulfatos e tetrationsatos, frequentemente depositando S fora das células;
3. o S e tiosulfatos a ácido sulfúrico.

A fisiologia desses microorganismos foi inicialmente estudada em uma clássica investigação de Winogradsky, à qual muito pouca coisa foi acrescentada.

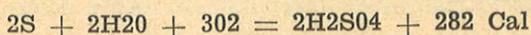
O primeiro grupo ocorre comumente na água e em lugares úmidos. É extraordinariamente interessante: enquadra a maior bactéria conhecida (20-33 μ de largura por 42-86 μ de comprimento); apresenta representantes coloridos e alguns parecem ser capazes de praticar a fotossíntese.

O segundo grupo é largamente distribuído no solo, lugares úmidos e água. Dentre as formas encontradas no solo, o **Thiobacillus denitrificans** é de interesse porque Beijerinck o descreve como traço-de-união entre bactérias oxidantes do S e bactérias denitrificantes, uma vez que essas duas atividades se dão lado a lado.

O terceiro grupo é pequeno, conhecendo-se apenas um representante, o **Thiobacillus Thio-oxidans**, mas é um dos mais notáveis organismos conhecidos devido à sua surpreendente tolerância à acidez; o pH ótimo para os meios de cultura está entre 3 e 4. Oxida o S a H_2SO_4 e continua assim fazendo até pH inferior a 0,6, isto é, mais forte que H_2SO_4 0. 1 N.

Entre nós, Fagundes (8,9) isolou de um solo barrento tratado previamente com S elementar um bacilo com menos de 1 μ de comprimento, o qual se mostrou capaz de oxidar rapidamente S e tiosulfato em condições aeróbicas; desenvolve-se bem em meio líquido ou sólido contendo tiosulfato de sódio como fonte de energia e apresentando reação ácida.

A oxidação do enxofre é um processo aeróbico trazendo energia para os organismos responsáveis :



Tais organismos, como se disse, são autotróficos, não requerendo matéria orgânica para se desenvolver. A transformação do S elementar a SO_4 é facilmente evidenciada como se verifica pelo ensaio seguinte : uma mistura de 100g. de terra roxa fresca colhida na Fazenda Modelo já mencionada e simplesmente peneirada, mais 0,200g. de flor de enxofre foi conservada em incubação, à temperatura ambiente, durante 20 dias, sendo o ótimo de umidade para as bactérias (50% do poder de embebição) refeito todos os dias. Ao lado fez-se o mesmo com terra sem adição de S. O material esteve sempre à luz natural e a temperatura oscilou entre 21 e 33°C.

O ensaio foi feito com quatro repetições. Findo o período de incubação, o material foi pôsto em garrafas de Stohmann de 1l., juntou-se 500cc. de água destilada e agitou-se durante 7 horas em aparelho de Wagner a 50-60rpm. Filtrou-se, transferindo-se do solo para o filtro que foi lavado com água destilada fria até se obter 700cc. de filtrado. A seguir, após redução de volume a 500cc. e fraca acidulação com HCl, precipitou-se os sulfatos à ebulição, com um pequeno excesso de $BaCl_2$ N; após fervura durante 5 minutos, deixou-se em repouso por uma noite. Filtrou-se por um papel de filtro Whatman n. 42, sendo todo o precipitado transferido para o filtro que foi lavado com pequena porção de água clorídrica (1:10). A pesagem do $BaSO_4$ foi feita da maneira usual. Os resultados foram os seguintes (médias) :

	BaSO ₄	S	S correspondente ao S	Idem
	mg	mg	adicion. mg	%
Testemunha	7.9	1	—	—
solo tratado	475.0	67	66	33

O processo descrito é modificação do seguido por **Brown e Johnson** (4), afastando-se bastante, porém, do processo adotado por **Aquino** (2) que nos parece falho.

Em outro ensaio semelhante ao descrito, porções de 100g. de terra roxa frêscia da Fazenda Modelo colhidas às profundidades de 0-15 e 15-30cm. foram colocadas em cristalizadores misturadas com quantidades de 0,150 e 0,200g. de flor de enxofre. A seguir procedeu-se da maneira já descrita. Terminado o período de incubação o material foi transferido para balões de Stohmann de 1 litro aos quais se adicionou 500cc. de água distilada. Seguiu-se agitação no aparelho de Wagner a 50-60 rotações por minuto durante 7 horas, findas as quais a suspensão foi deixada em repouso por uma noite; filtrou-se transferindo-se quantitativamente o solo para o filtro e fez-se a lavagem com água distilada até recolher 700cc. de filtrado. Reduziu-se o volume deste até exatamente 500cc. Os filtrados correspondentes às testemunhas foram centrifugados até se mostrarem incolores e transparentes, sendo daí por diante tratados como os demais. Pipetou-se das várias porções de 500cc. quantidades de 25 e 100cc.; na primeira foi determinado o pH eletrometricamente; na porção de 100cc. foi determinada a acidês titulável com NaOH 0,05 N, servindo a fenoltaleína como indicador: o número de cc. gastos multiplicado por 5 deu a acidês dos 500cc.; finalmente nos 375cc. de filtrado restantes dosou-se os sulfatos por precipitação à temperatura de ebulição com BaCl₂ N; o pêso do precipitado multiplicado por 0,137, deu a quantidade de S correspondente ao pêso de BaSO₄. Os resultados obtidos se acham no quadro seguinte:

Profundi- dade cm	Tratamento g de S	pH	Acidés titulável cc. de NaOH 0,05N	S correspondente ao pêso de BaSO ₄	% de S oxidado
0-15	0.150	6.40	0.60	0.0479	31.33
0-15	0.200	6.10	0.80	0.0533	26.20
0-15	testemunha	6.85	0.40	0.0009	—
15-30	0.150	7.05	0.30	0.0367	21.73
15-30	0.200	6.85	0.60	0.0422	19.05
15-30	testemunha	7.20	0.20	0.0041	—

Examinando o quadro atrás verificamos que :

1. houve sensível diminuição do pH do extrato aquoso correspondente às amostras tratadas com S relativamente aos das testemunhas;
2. a acidés titulável duplicou e mesmo triplicou, embora o seu valor se mantivesse pequeno;
3. a quantidade de S que foi oxidado a SO₄ é considerável; o resultado concorda aproximadamente com o verificado no trabalho anterior; a variação pode ser atribuída a flutuações no número e atividade microbianos nas diferentes épocas em que as amostras foram tiradas; além disso, o local de onde a amostra de terra que serviu para o presente ensaio foi colhida, fica a mais ou menos 10 metros do local anterior;
4. como a amostra foi colhida em um bosquete natural com serrapilheira abundante, era de se esperar que devido à decomposição da matéria orgânica, a camada superficial do terreno se mostrasse mais ácida como ficou evidenciado no quadro atrás.

Surge agora a pergunta : qual o interêsse prático da oxidação biológica do enxofre?

A produção de H_2SO_4 à custa da oxidação biológica do S encontra aplicação na agricultura, como seja no contrôle da sarna da batatinha (7) (*Actinomyces scabies* Gussow). Isto se consegue, mediante ação conjunta de enxofre e calcáreo : o primeiro, oxidado a H_2SO_4 baixa a reação do solo, tornando-o muito ácido para o parasita, enquanto o segundo neutralizando parcialmente a ação do H_2SO_4 previne que o solo se torne impróprio, por uma acidês exagerada, ao desenvolvimento normal da planta.

O H_2SO_4 pode ser usado na solubilização parcial de fosfatos de rocha fazendo-os mais assimiláveis. E' o que foi verificado por LIPMAN e colaboradores (12) através de ensaios, nos quais areia do mar inoculada com infusão de solo barrento e solo de casa de vegetação foram misturados com enxofre e fosfato de rocha finamente pulverizado, fazendo-se análises periódicas para verificação de acidês e de fósforo assimilável. Os resultados experimentais mostraram em todos os casos produção de considerável acidês e aumento acentuado na quantidade de fósforo assimilável. O processo foi mais rápido no caso do solo de casa de vegetação, rico em N e outros elementos nutritivos minerais, bem como em matéria orgânica. A formação de sulfatos crescia com o período de incubação e com condições favoráveis aos organismos. Os dados obtidos indicam que em condições práticas, uma parte de S e duas partes de fosfato de rocha constituem uma combinação satisfatória para a produção de ácido fosfórico assimilável. Também baseado na produção de H_2SO_4 por bactérias, há na literatura um ensaio de RUDOLFFS (14) referente à solubilização do po-

tássio das "greensands", cujos resultados, entretanto, não foram muito satisfatórios.

Vai ser instalado no Laboratório de Química Agrícola um experimento preliminar para verificação da ação do H_2SO_4 produzido biologicamente sobre apatita e leucita; a respeito deste último mineral no que se refere ao ponto de vista em questão, nada encontramos na literatura. Resumidamente o ensaio consiste em misturar 100g. de terra roxa frêscia com 15g. de apatita ou leucita e porções crescentes de 5,10 e 15g. de S com testemunhas sem S, e com S e solo esterilizado. Periodicamente serão feitas análises para verificação de acidês titulável, pH, sulfatos totais e P205 ou K20 assimiláveis. Ensaio semelhante está sendo feito com um composto de terra, farinha de ossos e S.

IV

SUMMARY

The author relates in this paper the preliminary determinations of sulphates in hot hydrochloric soil extract and the sulfonation power by using samples of "terra roxa", a typical soil of São Paulo State, Brazil. The first determination was made by employing the ten per cent hot hydrochloric acid extract from which sulphates were precipitated by 1N $BaCl_2$ at boiling temperature; analyses revealed the average amount of 0.0591 per cent of SO_3 or 0.0231 per cent of S. The sulfonation power of "terra roxa" soil was determined as follows: 0.150 and 0.200 grs. portions of free S were added to 100 grs. quantities of fresh soil collected at the depths of 15

and 30 cms. and the optimum moisture content for micro-organisms (fifty per cent of the amount necessary for complete saturation) adjusted. After incubation for twenty days at room temperature, the moisture remaining constant, sulphates, pH and titrable acidity were determined in aliquots by shaking the soil moistened with 500 mls. of distilled water for 7 hours in the shaking machine and filtering; sulphates were determined by the gravimetric method after precipitation by normal BaCl₂; acidity was estimated by titrating against 0.05N using phenolphthalein as indicator. The following data were obtained: in the sample taken at 15 cms. about 26 to 33 per cent was oxidized; in the deeper sample of "terra roxa" soil a minor amount, i. e, 19,05 per cent of sulphur was transformed to sulphates; in the former sample the pH decreased from 6.85 to 6.10 and in the other one, from 7.20 to 6.85; acidity in the aqueous extracts of the samples increased from 0.40 cc. of 0.05N NaOH to 0.80 and from 0.20 to 0.60 cc. of 0.05N NaOH.

V

LITERATURA CITADA

- 1 — ALWAY, F. J. A nutrient element slighted in agricultural research. Jour. Amer. Soc. Agron. 32 : 913-921. 1940.
- 2 — AQUINO, D. I. e E. P. SOMBITO. Studies in sulfonation in soils. Philippine Agr. 29 : 342-349. 1940; C. A. 35 : 2257.
- 3 — BERTRAND, G. e L. SILBERSTEIN. Teneurs compara-

- tives en soufre et en phosphore de plantes cultivées sur le même sol. Ann. Agron. 2 : 185. 1936.
- 4 — BROWN, P. E. e H. W. JOHNSON. Studies in sulfofication. Soil Sci. 1 : 339. 1916.
 - 5 — CROCKER, W. Sulfur deficiency in soils. Soil Sci 60 : 149-155.
 - 6 — DEMOLON, A. Em Croissance des végétaux, pág. 175, Dunod, Paris, 1934.
 - 7 — EDDINS, A. H. Effect of sulfur and Limestone soil treatment on Potato scab (*Actinomyces scabies* (Thax.) Gussow) in a sandy soil. Am Potato J. 18 : 312-316; C. A. 36 : 863. 1941.
 - 8 — FAGUNDES, A. B. Oxidação biológica do enxofre. Arq Inst. Biol. Veget. 1 : 87-89. 1934.
 - 9 — ————. On the autotrophic nature of a sulfur bacterium. Arq. Inst. Biol. Veget. 2 : 75-79. 1935.
 - 10 — HILLEBRAND, W. F. e G. E. LUNDELL. Em Applied Inorganic Analysis, pp. 573-581, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1929.
 - 11 — HOSKING, J. S. Determination of sulphates in soils extracts. Chem. Eng. Min Rev. 25 : 139-140. 1933.
 - 12 — LIPMAN, J. G. et. al. Sulphur oxidation in soils and its effect on the availability of mineral phosphates. Soil Sci. 2 : 499-538. 1916.
 - 13 — RAVENNA, C. Em Manuale di Analisi Chimica Agraria

- e Bromatologica, pp. 40-41, 3a. ed., Nicolla Zanichelli, Bologna, 1932.
- 14 — RUDOLFS, W. Sulphur oxidation in inoculated and un inoculated greensand mixtures and its relation to the avai lability of Potassium. Soil Sci. 14 : 307-319. 1922.
- 15 — RUSSELL, E. J. Em Soil Conditins and Plant Growth, pp. 400-402, 7a. ed., Longmans, Green and Co., London, 1942.
- 16 — TREADWELL, F. P. Em Química Analítica, vol. 2, pág. 285, Tradução Brasileira, Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 1947.
- 17 — WEIR, W. W. Em Soil Science, pág. 382, J. B. Lippincott Co., Chicago, 1936.
-

PRECEITO DO DIA

— 285 —

IMPORTANCIA DAS FRUTAS

As frutas, em geral, são ricas em celulose, substância que não é digerida como os demais alimentos, mas que aumenta o volume das fezes e obriga o intestino a funcionar. De modo geral, as frutas contêm celulose, mas esta existe em grande abundância na laranja, tangerina e lima.

Livre-se da prisão de ventre, comendo frutas, diariamente, no intervalo das refeições e durante as mesmas : — SNES.

Em 12-10-49