

112

**Circular
Técnica**

*Campina Grande, PB
Setembro, 2007*

Autores

Rosa Maria Mendes Freire
Química, M.Sc da Embrapa Algodão,
Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário,
CEP 58107-720 Campina Grande,
PB, E-mail: rosa@cnpa.embrapa.br

Adeilva Rodrigues Valença
Assistente de Pesquisa A, Embrapa
Algodão. E-mail:
diva@cnpa.embrapa.br

Embrapa

Procedimentos para Análise Química de Sementes

1. Introdução



A análise química de sementes tem grande importância, tendo-se em vista que, esses resultados estão atrelados aos projetos de pesquisa, pois servem de subsídios para possíveis tomadas de decisão, como no melhoramento para direcionar seleção de genótipos promissores além de fornecer resultados a solicitações

externas de produtores da região, alunos de graduação e pós-graduação, bolsistas e comunidade científica, em geral, por meio das parcerias com universidades e outros órgãos de pesquisa.

Neste trabalho, estão abordados os materiais e os métodos utilizados na análise de sementes de oleaginosas, como algodão, amendoim, gergelim e mamona, entre outras, normalmente executados no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas - LSNP, da Embrapa Algodão, em Campina Grande, Paraíba, Brasil. São métodos tradicionais, devidamente avaliados e publicados, que são adotados por apresentarem precisão e exatidão analíticas.

A análise química da semente é o instrumento básico para conhecimento e informação da qualidade, no que se refere à sua composição química.

Portanto, para que os objetivos sejam atendidos, a análise compõe-se de um processo que contempla desde o recebimento da amostra até o resultado final com expedição do seu boletim.

2. Recebimento e Protocolo da Amostra

As amostras são recebidas no setor fiscal onde se preenche formulário de recebimento com todas as referências necessárias, como: interessado, local de origem, data da coleta, análises requisitadas e outras informações ou referências que se fizerem necessárias. Em seguida, são encaminhadas ao laboratório e que, ao chegarem, recebem um número de protocolo e são enviadas para processamento. Na sala de preparação, é realizada a limpeza do material e seleção para posterior moagem e determinações.

3. Determinações

3.1 Umidade

a) Procedimento

Colocar os recipientes metálicos (latinhas de alumínio) abertos na estufa à 105 °C por 24 horas e transferir para um dessecador com tampas, onde permanecerão por 20 a 30 minutos para esfriar. Após esse período, pesar 2 gramas da amostra moída, levando o conjunto, amostra e recipiente, para a estufa sob às mesmas condições de temperatura e tempo. Em seguida, retirar da estufa, tampar as latinhas e transferi-las imediatamente para o dessecador, por 20 a 30 minutos, pesando após esfriar e obtendo-se o peso seco (ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1975).

b) Cálculo

$$\%U = \frac{(P_u - P_s) \times 100}{PA} \quad f_u = \frac{100}{100 - \%U}$$

Em que:

P_u = Peso úmido (amostra úmida + peso da lata)

P_s = Peso seco (amostra seca + peso da lata)

PA = Peso da amostra, em grama

F_u = fator de umidade em base seca. Este fator é usado nos cálculos de todos os resultados seguintes, para expressá-los em relação à percentagem de matéria seca (ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1975).

3.2 Cinzas

a) Procedimento

Colocar os cadinhos na mufla a 600 °C por 30 minutos e, após esse tempo, transferir os cadinhos para um dessecador, por 30 minutos, para esfriar e, posteriormente pesar, obtendo-se a tara. Pesar 2 g da amostra moída e levar os cadinhos para a chapa elétrica para fazer uma pré-queima, retirando apenas quando cessar a fumaça, para facilitar a combustão na mufla. Dando prosseguimento, levar os cadinhos para a mufla, até atingir 600 °C,

prolongando-se por mais 2 horas, após as quais, retirá-los e transferi-los para um dessecador, por 30 minutos, para esfriar e proceder a pesagem. O cálculo será feito, utilizando-se a seguinte fórmula (ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1975).

b) Cálculo

$$\%Cz = \frac{(P_{cz} - P_{cad}) \times 100}{PA}$$

Em que:

P_{cz} = Peso do cadinho + cinza

P_{cad} = Peso do cadinho

PA = Peso da amostra, em grama

3.3 Extrato Etéreo ou Teor de Óleo

a) Procedimento

O teor de óleo pode ser determinado via extração por solvente, denominado extrato etéreo de acordo com a Association Official Analytical Chemists (1995) ou apenas por leitura no equipamento de Ressonância Magnética Nuclear - RMN (OXFORD, 1995; OXFORD, 2007).

Inicialmente, por extração no soxhlet, preparar todo o material a ser usado, colocando-se os balões a 105 °C, por 2 horas, na estufa e 30 minutos no dessecador, para esfriar e pesar, obtendo-se o peso das taras (peso dos balões secos). Preparar os cartuchos com papel Germitest; neles, pesar 20 g da amostra moída e cobri-la com algodão, para evitar perda de material na extração. Colocar os cartuchos no extrator de soxhlet, adicionar 150 mL de solvente ao mesmo, que depende da semente (ver anexos). Ligar a água e o aquecimento e, quando começar a ebulição, marcar o tempo, que depende do material. Ao terminar a extração, recuperar parte do solvente no próprio extrator, desligar o aquecimento, retirar os balões e levá-los ao banho-maria para evaporar todo o solvente remanescente. Após essa fase, levar os balões à estufa por 2 horas, depois ao dessecador por 30 minutos, para esfriar, pesá-los e proceder os cálculos de acordo com a fórmula abaixo (ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1995).

b) Cálculo

$$\% \text{Oleo} = \frac{[(Ps - Pb) - Pbr]}{PA} \times 100$$

Em que:

Ps = Peso óleo + balão

Pb = Peso do balão

Pbr = Peso do branco

PA = Peso da amostra, em gramas

4. Preparo de Soluções**4.1 Nitrogênio, fósforo e potássio - NPK**

- Sulfato de Cobre 5 %

Pesar 50 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), dissolver em 400 mL de água deionizada, transferir para um balão volumétrico de 1L e aferir (MORITA; ASSUMPCÃO, 1990).

- Hidróxido de Sódio 10 %

Pesar 100 g de hidróxido de sódio (NaOH), dissolver em 500 mL de água deionizada e transferir para um balão volumétrico de 1L, aferir quando estiver frio (MORITA; ASSUMPCÃO, 1990).

- Silicato de Sódio 20 %

Transferir 200 mL de silicato de sódio (SiO_3 em NaOH) para um balão volumétrico de 1 L e aferir (MORITA; ASSUMPCÃO, 1990)

- Reativo de Nessler

Pesar 45,5 g de iodeto de mercúrio II (HgI_2), adicionar 200 mL de água deionizada, quebrar os grãos formados com uma espátula de aço ou um bastão de vidro, adicionar 34,9 g de iodeto de potássio (KI), agitar até a completa dissolução dos reagentes. Adicionar 112 g de hidróxido de potássio (KOH), transferir para um balão volumétrico de 1L, adicionar água até $\frac{3}{4}$ do balão, deixar agitando por aproximadamente 4 horas. Completar o volume. Guardar em um frasco escuro (MALAVOLTA, 1989).

- Solução de Molibdato de Amônio concentrada

Pesar 2 g de subcarbonato de bismuto. Transferir para um balão volumétrico de 1L contendo aproximadamente 250 mL de água deionizada. Juntar, rapidamente, 150 mL de ácido sulfúrico concentrado p.a. (H_2SO_4) e deixar esfriar (MALAVOLTA, 1989).

Pesar 20 g de molibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e dissolver em 200 mL de água. Transferir essa solução para o balão de 1L. Agitar, completar o volume com água deionizada e estocar (MALAVOLTA, 1989).

- Solução de Molibdato de Amônio diluída

Transferir 300 mL da solução concentrada para um balão volumétrico de 1L, completar o volume. Homogeneizar. Guardar em frasco escuro (MALAVOLTA, 1989).

- Solução Padrão de Nitrogênio - 1 000 ppm

Dissolver 4,7138 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ em 1 000 mL de água deionizada. (MALAVOLTA, 1989).

- Solução Padrão de Fósforo - 1 000 ppm

Transferir 4,3928 g de KH_2PO_4 p.a para um balão volumétrico de 1L, adicionar 3 mL de H_2SO_4 concentrado, completar o volume com água deionizada, homogeneizar (MALAVOLTA, 1989).

- Solução Padrão de Potássio - 1 000 ppm

Dissolver 1,9067 g de KCl em 1 000 mL de água deionizada (MALAVOLTA, 1989).

4.2 Digestão Sulfúrica**a) Procedimento**

Pesar 0,1g da amostra e colocar em um tubo de ensaio grande (2,5 cm de diâmetro e 25 cm de altura), devidamente etiquetado e numerado. Colocar cerca de 50 mg (uma pequena porção) de sulfato de sódio, adicionar 0,5 mL de sulfato de cobre a 5 % e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Fazer uma prova em branco, colocando todos os reagentes exceto a amostra. Iniciar a digestão,

fazendo uma pré-digestão, por cerca de 12 horas, a frio. Aquecer em bloco digestor até a temperatura de 350 °C, aumentando gradativamente a temperatura. Retirar do bloco digestor quando toda matéria orgânica estiver destruída, identificando-se pela cor clara esverdeada. Deixar esfriar e transferir, quantitativamente, todo o material para um balão volumétrico de 100 mL, lavando bem o tubo de ensaio com água deionizada até ficar limpo, aferir o balão quando estiver frio. Este é o extrato 1 (NOGUEIRA; SOUZA, 2005).

4.2.1 Nitrogênio

a) Preparo da curva padrão

Numerar 6 balões volumétricos de 50 mL e adicionar um pouco de água deionizada, conforme Tabela 1.

a) Preparo das amostras para dosagem

Colocar 1 mL do extrato 1 em um balão volumétrico de 50 mL, adicionar um pouco de água, 1 mL de hidróxido de sódio a 10 %, 1 mL de silicato de sódio a 20 %, 2 mL do reativo de Nessler e completar o volume para 50 mL. Deixar em repouso por 30 minutos e, em seguida, fazer a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm. (LE POIDEVIN; ROBINSON, 1964)

4.2.1.1 Proteína

O teor de proteína é feito pelo método semi-micro Kjeldahl com adaptação para nitrogênio (N), por espectrometria UV-Vis, segundo o método descrito

em Le Poidevin e Robinson (1964). Para a obtenção da proteína bruta, multiplica-se o resultado do N pelo fator de transformação 6,25.

4.2.2 Fósforo

a) Preparo da curva padrão

Retirar uma alíquota de 5 mL das soluções de 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 ppm de P e adicionar em seus respectivos erlenmeyers numerados. Adicionar em cada erlenmeyer 10 mL de solução ácida de molibdato de amônio e cerca de 50 mg (uma pequena porção) de ácido ascórbico, agitar e deixar em repouso por 30 minutos.

b) Preparo das amostras para dosagem

Pipetar 5 mL do extrato 1 e transferir para um copo descartável de 50 mL, adicionar 10 mL de molibdato de amônio diluído, cerca de 50 mg de ácido ascórbico. Agitar e deixar em repouso por 30 minutos e, após esse tempo, fazer a leitura em espectrofotômetro com o comprimento de onda de 660 nm.

7.2.3 Potássio

Inicialmente, calibrar o equipamento fotômetro de chama com solução padrão de 20 ppm de K.

Levar o extrato 1 diretamente para o fotômetro de chama e proceder-se a leitura. Caso não seja possível efetuar a leitura, fazer as diluições necessárias.

Tabela 1. Dados para a plotação de uma curva padrão para determinar ppm de N

Balão N (ppm)	mL da sol. de N a 10 ppm	Hidróxido de sódio 10 %	Silicato de Sódio 20 %	Reativo de Nessler
0	0	1	1	2
0,2	1	1	1	2
0,4	2	1	1	2
0,6	3	1	1	2
0,8	4	1	1	2
1,0	5	1	1	2

8. Referências Bibliográficas

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association Official Analytical Chemists**. 12. ed. Washington, 1975. 1094 p.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17. ed., Arlington, 1995. 1141 p.

LE POIDEVIN, N.; ROBINSON, L. A. Métodos de diagnóstico foliar utilizados nas plantações do grupo booker na Guiana Inglesa: amostragem e técnica de análise. **Fertilité**, Paris, n.21, p.3-11, 1964.

MALAVOLTA, E. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. Piracicaba:

Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989. 20 p.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação**. 2.ed. São Paulo: Edgard Bücher, 1990. 627 p.

NOGUEIRA, A. R. de A.; SOUZA, G. B. de. **Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Paulo: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313 p.

OXFORD instrumentos. Oxford 4000: instructions manual. England, 1995, paginação irregular.

OXFORD instrumentos. Oxford MQA700: manual de operações, São Paulo, 2007. 46p.

A n e x o s

Equipamentos

• Comuns:

- Moinho de hélice
- Balança analítica digital com precisão de quatro casas decimais
- Balança analítica digital com precisão de 2 casas decimais
- Estufa de secagem e esterilização
- Agitador magnético

• Específicos para:

- Extração de óleo
 - Extrator de óleos soxhlet
 - Banho Maria
 - Ressonância Magnética Nuclear-RMN
- Cinzas
 - Chapa Elétrica
 - Forno Mufla
- Nitrogênio, fósforo e potássio
 - Capela de exaustão de gases
 - Bloco digestor micro para proteínas
 - Espectrofotômetro UV-VIS
 - Fotômetro de Chama

Vidrarias e Acessórios

- Comuns:

- Espátula inox
- Luva para alta temperatura
- Pinça metálica
- Bandeja de alumínio
- Dessecador

Específicos para:

- Umidade:

- Latinhas com tampa de alumínio

- Cinzas

- Cadinho de porcelana para fusão de 25 mL

- Extração de Óleo

- Proveta de vidro de 250 mL com bico vertedor
- Béquer de vidro de 100 mL
- Papel Germitest
- Algodão

- Nitrogênio, fósforo e potássio

- Tubo de ensaio longo (diâmetro 2,5 cm - altura 25 cm)
- Balão volumétrico de 1000 mL
- Balão volumétrico de 100 mL
- Balão volumétrico de 50 mL
- Pipeta automática com capacidade de 1 mL
- Pipeta automática com capacidade de 5 mL
- Dispensador
- Béquer de 1000 mL
- Béquer de 250 mL
- Proveta com bico vertedor de 500 mL
- Vidro de relógio
- Copo descartável de 50 mL
- Pisseta de plástico
- Papel higiênico extra macio
- Funil de vidro

Reagentes

- Extração de Óleo

1. Solvente p.a. (tipo depende da semente)

- Hexano p.a. (mamona)

- Éter de petróleo p.a. (amendoim, algodão, gergelim)

- Nitrogênio, fósforo e potássio

1. Sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4)
2. Sulfato de Cobre penta hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$)
3. Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
4. Sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)
5. Hidróxido de Sódio (NaOH)
6. Silicato de sódio em solução
7. Iodeto de Mercúrio II (HgI_2)
8. Iodeto de potássio (KI)
9. Hidróxido de potássio (KOH)
10. Subcarbonato de bismuto
11. Molibdato de amônio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
12. Cloreto de Potássio (KCl)
13. Fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4)

**Circular
Técnica, 112**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Algodão
Rua Osvaldo Cruz, 1143 Centenário, CP 174
58107-720 Campina Grande, PB
Fone: (83) 3315 4300 Fax: (83) 3315 4367
e-mail: sac@cnpa.embrapa.br

1ª Edição
Tiragem: 500

**Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento**

**Comitê de
Publicações**

Presidente: Nair Helena Castro Arriel
Secretária Executiva: Nivia M.S. Gomes
Membros: Demóstenes Marcos Pedroza de Azevêdo
Everaldo Paulo de Medeiros
Fábio Aquino de Albuquerque
Francisco das Chagas Vidal Neto
João Luiz da Silva Filho
José Wellington dos Santos
Luiz Paulo de Carvalho
Nelson Dias Suassuna

Expedientes: Supervisor Editorial: Nivia M.S. Gomes
Revisão de Texto: Nisia Luciano Leão
Tratamento das ilustrações: Geraldo F. de S. Filho
Editoração Eletrônica: Geraldo F. de S. Filho