

CIRCULAR TÉCNICA

80

São Carlos, SP  
Outubro, 2018

## Determinação de nitrato e amônio por sistema de análise em fluxo em amostras de lixiviado de solo

Cibeli Lira Costa  
Carlos Eduardo Mendes Braz  
Marcos Y. Kamogawa  
Alberto C. de Campos Bernardi  
Gilberto Batista de Souza  
Ana Rita de Araujo Nogueira



## Resumo

Um sistema em fluxo para a determinação de espécies inorgânicas de nitrogênio (amônio e nitrato) em amostras de lixiviado de solo foi desenvolvido para aumentar a eficiência da análise, mantendo sua robustez e sensibilidade. O método baseia-se na transformação dos compostos nitrogenados em amônia, sua difusão é feita por uma membrana hidrofóbica permeável a gás e posterior reação com o indicador ácido-base púrpura de bromocresol. Após se difundir pela membrana e causar mudança de cor na solução indicadora, a amônia é quantificada por espectrofotometria ( $\lambda = 590$  nm). Parâmetros de validação, tais como precisão (repetibilidade e precisão intermediária) e exatidão, foram considerados. A exatidão foi determinada na comparação com valores obtidos por cromatografia iônica, em que foi obtida correlação  $> 99\%$  (teste  $t$ ); a precisão intermediária e a repetibilidade foram determinadas a partir da medida de soluções de concentrações conhecidas de nitrogênio total, e foram obtidos coeficientes de variação entre 2,5% e 11%. Os parâmetros envolvidos na reação, como pH, temperatura e ordem de adição e concentração dos reagentes, foram controlados pelo método proposto, que apresenta baixo custo operacional e baixa produção de resíduos químicos.

## Introdução

A determinação das formas inorgânicas de nitrogênio é realizada em estudos de ampla abrangência e em diferentes tipos de amostras, incluindo alimentos, solo, águas e efluentes. Em sua maioria, são amostras complexas que necessitam ser monitoradas pela sua importância e pelos riscos de contaminação. O nitrogênio é essencial na nutrição vegetal e um dos três elementos primários que aparecem em maior porcentagem na composição dos fertilizantes. Ocorre nas rochas, solos e sedimentos em diferentes formas, entre as quais: amônia ( $\text{NH}_3$ ), íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ); ou como nitrogênio ligado quimicamente a moléculas orgânicas ou inorgânicas ( $\text{N}_{\text{ligado}}$ ). Os íons  $\text{NH}_4^+$  nos solos e sedimentos podem estar fracamente adsorvidos na superfície ou na forma iônica quimicamente trocável ( $\text{NH}_4^+_{\text{trocável}}$ ) ou na forma de íons fixos nos espaços interlamelares dos minerais argilosos

( $\text{NH}_4^+$  fixo). As formas envolvidas nos equilíbrios dependem da concentração de nitrogênio total ( $\text{N}_{\text{total}}$ ), da atividade bacteriana, da condição redox e da qualidade da fase aquosa associada (HATTON; PICKERING, 1990). Em geral, nos solos minerais, são observadas três formas principais de N: (a) N orgânico associado às substâncias húmicas presentes no solo; (b) N amoniacal fixado por certos minerais argilosos; e (c) compostos inorgânicos de nitrato e amônio solúveis (BRADY, 1983).

O teor de nitrogênio fornecido pela maioria dos solos é baixo. Entre 95% e 99% do N estão disponíveis na forma orgânica, presentes na matéria orgânica do solo ou nos organismos vivos. Essa forma não está disponível para os vegetais, mas pode ser convertida em formas disponíveis pelo processo de nitrificação. O amônio liga-se ao complexo de troca catiônica, negativamente carregado do solo e se comporta como os outros cátions no solo. O nitrato não se liga ao solo por ser negativamente carregado, mas está presente, dissolvido na solução do solo (BREMNER, 1965).

Uma preocupação de âmbito mundial é a contaminação de recursos hídricos com o nitrato percolado de solos agrícolas. A grande mobilidade do íon  $\text{NO}_3^-$ , aliada à crescente utilização de fertilizantes nitrogenados, gera grande preocupação em diversos locais do planeta, por causa da eutrofização de águas superficiais e da contaminação de águas subterrâneas, que são a principal fonte desse recurso natural para grandes populações (MUCHOVEJ; REHCIGL, 1995).

A poluição das águas e do solo é um dos mais sérios problemas ecológicos decorrentes da atividade humana na atualidade. O uso incorreto dos fertilizantes nitrogenados tem provocado o aumento dos teores de nitrato e nitrito em frutas e alimentos vegetais, além dos problemas relacionados à poluição ambiental. Os nitratos apresentam alta solubilidade em água e são quimicamente não reativos, porém, podem ser facilmente reduzidos *in-vivo* a nitrito e, dessa forma, interferir no transporte de oxigênio no corpo, em função da conversão irreversível da hemoglobina para meta-hemoglobina, o que compromete seriamente a troca de oxigênio feita pela hemoglobina (HONIKEL, 2008). Os nitratos e nitritos coletados de água e alimentos contaminados são considerados carcinógenos humanos plausíveis, principalmente relacionados ao câncer de estômago, que foi relatado como a segunda maior causa de mortalidade por câncer em todo o mundo (CHETTY; PRASAD, 2016; WANG et al., 2017).

Nesse contexto, com o objetivo de minimizar as perdas dos fertilizantes nitrogenados, foram desenvolvidos os fertilizantes encapsulados. A liberação de forma mais lenta e gradual dos nutrientes é uma das intenções dos fabricantes ao utilizarem polímeros porosos degradáveis para encapsular o fertilizante, com vistas a diminuir a perda inicial dos elementos, principais responsáveis pela contaminação do solo, das águas e dos alimentos. No entanto, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), principal órgão responsável pelo registro e fiscalização dos fertilizantes, não possui informações acerca do tipo de liberação, lenta e/ou controlada, dos elementos que compõem essas formulações de fertilizantes. Além disso, há falta de informações científicas sobre a disponibilização, para os vegetais, dos nutrientes presentes nas formulações de fertilizantes aplicados no solo. Por isso, o nitrogênio necessita ser monitorado por ser um elemento primário essencial presente nas formulações dos fertilizantes encapsulados frequentemente em elevadas concentrações.

## Métodos de determinação nitrogênio

A determinação do nitrogênio em laboratórios com rotina de análise de amostras de águas naturais, de extratos de solo e de alimentos é realizada pelo método Kjeldahl, proposto em 1883, utilizado para a determinação de  $N_{\text{Total}}$  em diferentes materiais (YASUHARA; NOKIHARA, 2001). O método Kjeldahl baseia-se na conversão do N a íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) por digestão da amostra com ácido sulfúrico, concentrado na presença de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (para elevar o ponto de ebulição do ácido), com catalisadores (ex.  $\text{CuSO}_4$ ) que aceleram a oxidação da matéria orgânica. A mistura é alcalinizada com NaOH aquoso, e o  $\text{NH}_4^+$  é reduzido a  $\text{NH}_3$ , que é destilado por arraste a vapor, complexado em solução de ácido bórico com indicador de pH misto e titulado com solução padronizada de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ou HCl (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1989).

Para a determinação das frações  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  presentes nas amostras, adiciona-se liga de Devarda (reagente que contém cobre, alumínio e zinco, na proporção de 50:45:5). A oxidação da liga de Devarda em meio ácido provoca a redução do  $\text{NO}_3^-$  e do  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NH}_4^+$  (AOAC, 2010), que, por sua vez, é determinado sob condições alcalinas, seguindo o procedimento já mencionado (Kjeldhal). Esse procedimento foi proposto há mais de 130 anos e

continua a ser utilizado em um grande número de laboratórios por ser seletivo, robusto e de baixo custo quando comparado a outras metodologias. Porém, apresenta como desvantagem o alto volume de reagente utilizado, além do emprego de ácido sulfúrico e de hidróxido de sódio em altas concentrações, o que torna o procedimento de elevada periculosidade.

O procedimento mais específico e sensível para determinação da concentração de nitrogênio em fluidos biológicos, águas naturais e domésticas e extratos de solo, baseia-se na utilização de um agente oxidante como o hipoclorito, para a formação de uma intensa coloração, proveniente do complexo azul de indofenol que surge entre o íon amônio e os compostos fenólicos. O mecanismo de reação é complexo e a sensibilidade da reação depende do pH, da temperatura e da ordem de adição, além da concentração dos reagentes.

Esse método foi primeiramente publicado por Berthelot (KEMPERS; KOK, 1989; MOORCROFT; DAVIS; COMPTON, 2001) e posteriormente adaptado para sistemas de análise em fluxo. Os sistemas desenvolvidos possibilitam a determinação de diferentes espécies inorgânicas de nitrogênio, e apresentam elevadas sensibilidade e frequência analítica, além da redução dos resíduos gerados. Em função das características intrínsecas desses sistemas, parâmetros envolvidos na reação, tais como o pH, temperatura, ordem de adição e concentração dos reagentes e velocidade de reação, são controlados (NOGUEIRA; SOUZA; BATISTA, 1996; LEMOS; NOGUEIRA; SOUZA, 2002; WANG et al., 2017). No entanto, o método utiliza reagente com compostos fenólicos, que necessitam ser tratados antes do descarte, em função de sua toxicidade.

Dessa forma, como forma de evitar os inconvenientes citados, foi proposto um método para a determinação de amônio e nitrato em amostras de fertilizantes encapsulados por sistema em fluxo, empregando a reação da amônia com o indicador de pH púrpura de bromocresol.

## Material e métodos

### Material

O seguinte material foi empregado para a construção do sistema em fluxo:

- Tubos de polipropileno (0,9 mm d.i.) para o transporte das soluções.
- Câmara de difusão gasosa, com 7 cm de diâmetro e 2,9 cm de largura.
- Membrana de filtro de PTFE (Metricell®) de 47 mm de diâmetro e poro de 0,2 µm.
- Coluna redutora de zinco metálico: construída com o uso de um tubo Tygon® (2 mm d.i.) de 9 cm, preenchido com zinco metálico (20 mesh, Ecibra) e lã de vidro nas extremidades.
- Injetor comutador de acrílico do tipo 1:3 (KRUG; BERGAMIN; ZAGATTO, 1986).
- Bobina de mistura de 250 µL.
- Confluências tipo y, construídas em polipropileno, para inserção de soluções.

### Equipamentos

- Espectrofotômetro VIS (FEMTO, modelo 432) com célula de fluxo com caminho óptico de 1,0 cm.
- Bomba peristáltica com oito canais (ISMATEC, Alemanha);
- Cromatógrafo iônico (detector 944 Professional, Metrohm, Suíça) com coluna tipo Metrosep A (250/4.0) leitura em 210 nm.

### Reagentes e soluções

Para o desenvolvimento do procedimento, foram utilizados reagentes de grau analítico. Todas as soluções foram preparadas com o uso de água deionizada (com resistividade = 18,2 MΩ cm) obtida a partir do sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA).

- Nitrato de amônio P.A. ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , Vetec).
- Zinco metálico granulado P.A. (20 “mesh”) (Ecibra).
- Ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA).
- Solução de hidróxido de sódio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Solução de hidróxido de sódio  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Solução de hidróxido de sódio  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  em meio 0,1 % de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético).
- Solução de ácido clorídrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Solução estoque de púrpura de bromocresol ( $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$ , Synth): dissolver 1 g do indicador púrpura bromocresol em 5 mL de NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e completar o volume para 250 mL com água.
- Solução de trabalho de púrpura de bromocresol: retirar uma alíquota de 5 mL da solução estoque de púrpura de bromocresol e adicionar água até o volume de 1 L. Ajustar o pH para 6,0 com solução  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH ou com HCl.

## Procedimento experimental

O sistema em fluxo desenvolvido baseia-se na difusão da amônia fluindo em uma solução alcalina, através de uma membrana hidrofóbica permeável a gás. A amônia que passa pela membrana é então dissolvida em um fluxo que contém a solução com indicador ácido-base, púrpura de bromocresol (BCP), o que causa mudança de cor na solução indicadora, e a amônia é quantificada por espectrofotometria. A determinação do nitrato foi feita de maneira indireta, depois que a solução básica foi passada por coluna redutora de zinco metálico e que o nitrogênio total foi quantificado. O indicador ácido-base BCP foi escolhido por ser quimicamente mais estável e mais resistente à oxidação que outros indicadores.

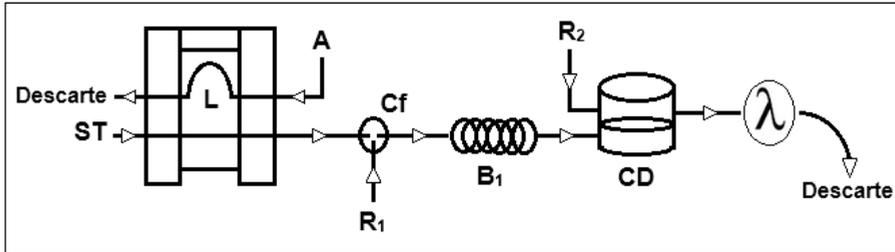
## Determinação de nitrogênio na forma de amônio (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

O sistema por injeção em fluxo utilizado está apresentado na Figura 1. A amostra e a curva de calibração (**A**) eram aspiradas para preenchimento da alça de amostragem (**L**: 32 µL, tubo com comprimento de 50 cm e diâmetro interno de 0,9 mm) e, em seguida, inserida no fluxo transportador (**ST**, água na vazão 3,4 mL min<sup>-1</sup>). A solução recebia por confluência (**Cf**) o reagente (**R<sub>1</sub>**: NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup>) e era posteriormente direcionada à bobina de mistura (**B<sub>1</sub>**: 64 µL, tubo com comprimento de 100 cm e diâmetro interno de 0,9 mm). O pH final dessa solução deve ser suficientemente alto para converter todo íon amônio presente em gás amônia, segundo a equação 1:

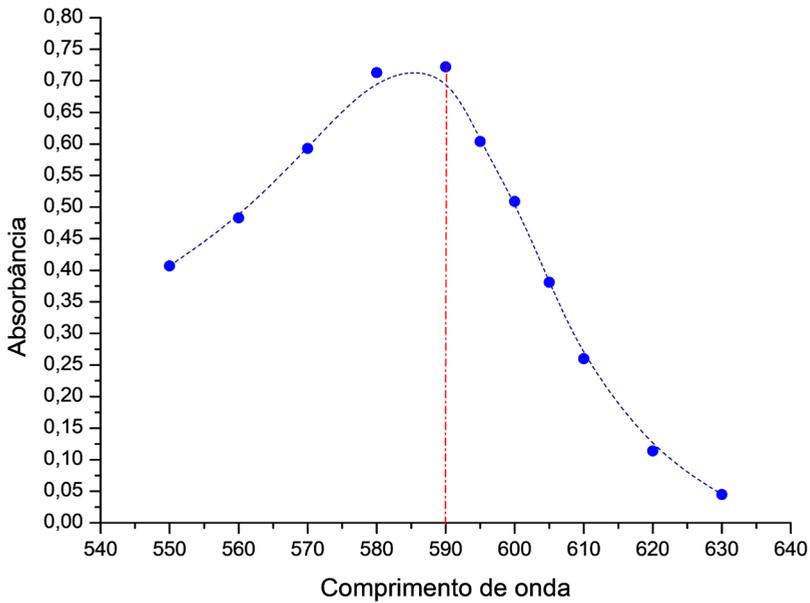


A solução com o gás amônia era, então, direcionada à câmara de difusão gasosa (**CD**) com membrana seletiva para a difusão de gases. O gás amônia difundido era coletado pela solução indicadora BCP a pH 6 (**R<sub>2</sub>**, 3,4 mL min<sup>-1</sup>) e direcionado ao detector (**λ**).

Para definição do comprimento de onda inicial, foi feita uma varredura na faixa de 550 a 630 nm. A partir dos resultados obtidos (Figura 2), o comprimento de onda 590 nm foi definido e utilizado nos estudos posteriores. A estabilidade do corante também foi avaliada. Os resultados indicaram alterações significativas ( $p \leq 0,05$ ) na coloração e no pH da solução, mesmo armazenada em frasco fechado e protegido da luz. Dessa forma, é recomendado o preparo da solução indicadora BCP no dia da análise ou o ajuste do pH (6,0).



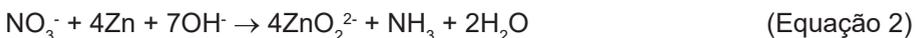
**Figura 1.** Diagrama de fluxos para a determinação de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). **A:** amostra; **L:** alça de amostragem; **R<sub>1</sub>:** solução de NaOH; **R<sub>2</sub>:** indicador BCP; **ST:** solução transportadora, água; **Cf:** confluência; **B<sub>1</sub>:** bobina de mistura; **CD:** câmara de difusão; **λ:** detector.



**Figura 2.** Comportamento do sistema em fluxo proposto na faixa do visível (550 – 630 nm). Dados obtidos com o sistema descrito na Figura 1.

## Determinação de nitrogênio nas formas de nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

Para a determinação dos teores de nitrato, foi adicionada ao sistema uma coluna preenchida com zinco metálico, para a redução do nitrato a NH<sub>3(g)</sub>, de acordo com a reação da equação 2 (CARLSON, 1986).



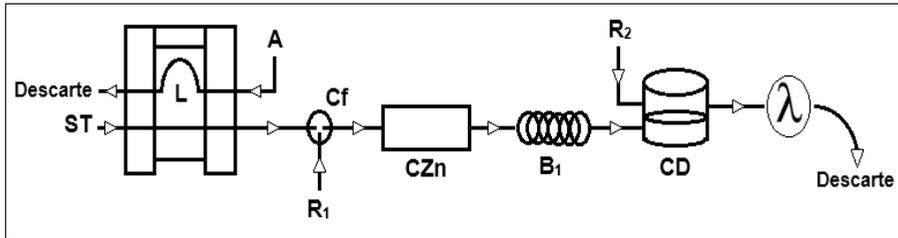
Dessa forma, era determinado o teor total de nitrato + amônio, sendo que o teor de nitrato era obtido por diferença entre o N<sub>TOTAL</sub> e o N-NH<sub>4</sub> (Tabela 1).

As amostras avaliadas no presente estudo foram provenientes de experimento que utilizou o fertilizante nitrato de amônio.

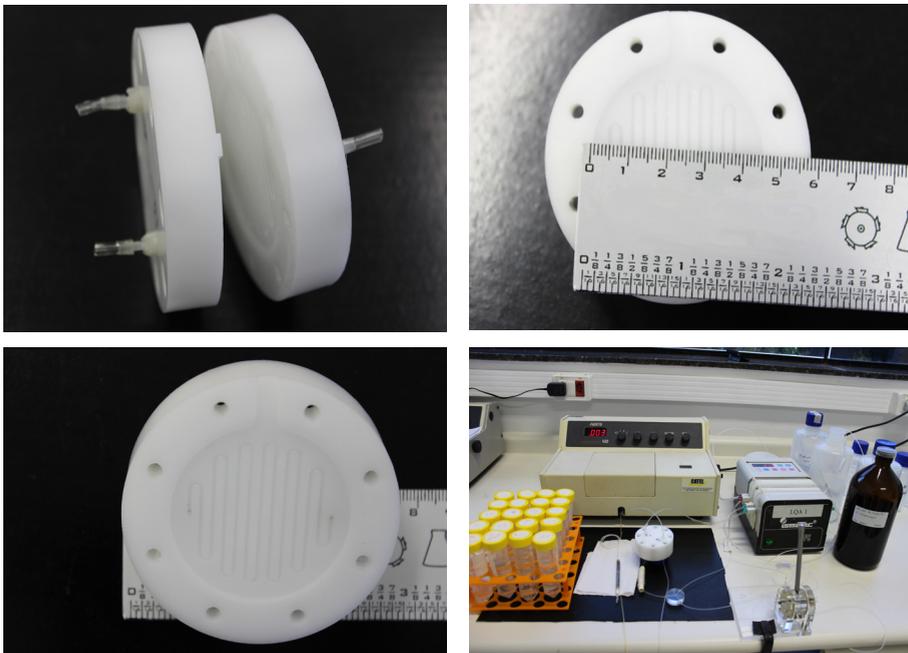
**Tabela 1.** Resumo das determinações de nitrogênio.

Método empregado	Forma determinada	Cálculo
Sem coluna de zinco	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-
Com coluna de zinco	N <sub>Total</sub>	-
Com coluna de zinco	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N <sub>Total</sub> – N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>

As amostras e a curva de calibração (**A**) eram aspiradas até preencher toda a alça de amostragem (**L**: 32 µL, tubo com comprimento de 50 cm e diâmetro interno de 0,9 mm) do injetor/comutador e, em seguida, inseridas no fluxo transportador (**ST**, água na vazão 3,4 mL min<sup>-1</sup>). A solução recebia, por confluência (**Cf**), o reagente (**R<sub>2</sub>**: NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> em meio 0,1 % de EDTA, 3,4 mL min<sup>-1</sup>), e era direcionada para a coluna de zinco (**CZn**), onde o nitrato era reduzido e, em seguida, direcionado à bobina de mistura (**B<sub>1</sub>**: 64 µL, tubo com comprimento de 100 cm e diâmetro interno de 0,9 mm), para melhor homogeneização. A continuidade desse método de determinação da NH<sub>3(g)</sub> segue como na descrição apresentada para a determinação do N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. O diagrama de fluxos é apresentado na Figura 3. Detalhes da montagem do sistema são apresentados na Figura 4.



**Figura 3.** Diagrama de fluxos para a determinação de N total e N – NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: **A**: amostra; **L**: alça de amostragem; **R<sub>1</sub>**: solução de NaOH; **R<sub>2</sub>**: indicador BCP; **ST**: solução transportadora, água; **Cf**: confluência; **CZn**: coluna de zinco metálico; **B<sub>1</sub>**: bobina de mistura; **CD**: câmara de difusão; **λ**: detector.



Fotos: Gilberto Batista de Souza

**Figura 4.** Detalhes da montagem da câmara de fluxo: a) visão lateral; b) e c) visão interna; d) sistema em fluxo com a coluna de zinco.

## Amostras

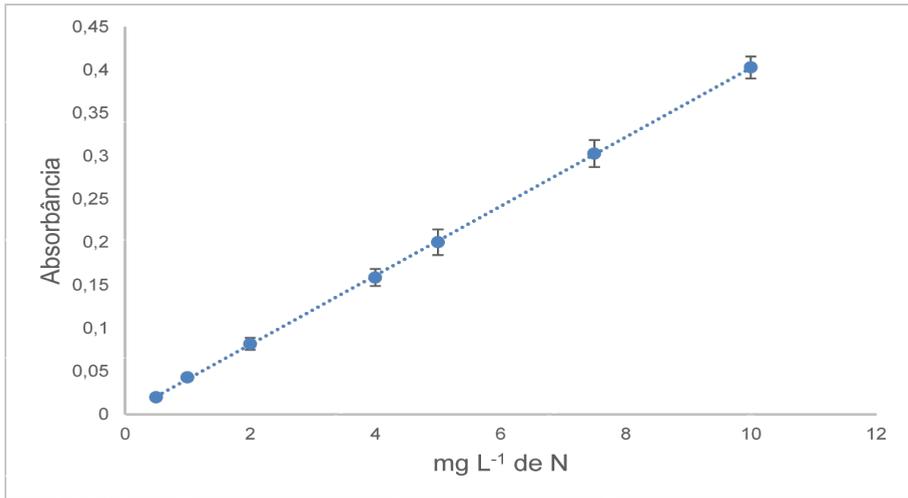
O sistema de análise em fluxo foi utilizado na determinação de  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{N-NO}_3^-$  em amostras de lixiviados de solo adubados com fertilizantes encapsulados NPK 15-09-12 e NPK 14-14-14, ou seja, formulações nutricionais compostas por vários minerais e os macronutrientes primários nitrogênio, fósforo e potássio, cujas quantidades estão expressas do nome dos produtos pelos valores em porcentagem, sempre na mesma ordem (nitrogênio, fósforo e potássio). Os nutrientes que compõem essas formulações são liberados de forma gradual, o que potencializa sua disponibilidade para a planta se comparados aos fertilizantes convencionais (TRENKEL, 2010).

Para essas amostras, foram monitorados apenas o nitrogênio total, o nitrogênio amoniacal e o nitrato, porque a fonte de N nos fertilizantes é geralmente o nitrato de amônio e o fosfato monoamônico. A amostra de solo que não recebeu adubação foi utilizada como controle (branco do método). O solo utilizado no experimento, latossolo distrófico vermelho amarelo, possui as seguintes características físicas e químicas:  $\text{pH}_{\text{água}} = 5,0$ ;  $\text{pH}_{\text{CaCl}_2} = 4,4$ ; matéria orgânica =  $14 \text{ g dm}^{-3}$ ; carbono total =  $8 \text{ g dm}^{-3}$ ;  $\text{P}_{\text{resina}} = 3 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{K}_{\text{resina}} = 0,2 \text{ mmolc dm}^{-3}$ ;  $\text{Ca} = 3 \text{ mmolc dm}^{-3}$ ;  $\text{Mg} = 1 \text{ mmolc dm}^{-3}$ ;  $\text{H+Al} = 32 \text{ mmolc dm}^{-3}$ ;  $\text{Al}^{3+} = 2 \text{ mmolc dm}^{-3}$ ; capacidade de troca catiônica =  $36 \text{ mmolc dm}^{-3}$ ;  $\text{B} = 0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{Cu} = 0,7 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{Fe} = 12 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{Mn} = 0,9 \text{ mg dm}^{-3}$ ;  $\text{Zn} = 0,1 \text{ mg dm}^{-3}$ ; textura: média argilosa.

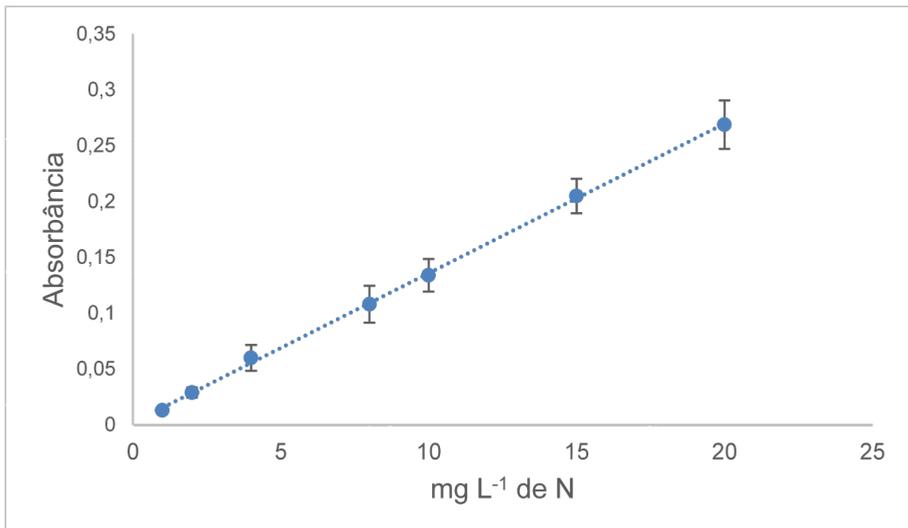
Os fertilizantes encapsulados e a mistura empregada para comparação possuem quantidades conhecidas de nitrato de amônio. Amostras obtidas em coletas periódicas em casa de vegetação, com a adição de água aos vasos com o solo caracterizado previamente, foram filtradas e diluídas (10 vezes) com água deionizada.

Soluções de concentrações conhecidas foram preparadas com nitrato de amônio e água deionizada, já que as amostras foram obtidas a partir da lixiviação com adição de água. Foram obtidas duas curvas de calibração características, uma para nitrogênio amoniacal e outra para nitrogênio total (em  $\text{mg L}^{-1}$  de N).

As curvas analíticas de calibração são apresentadas nas Figuras 5 e 6, indicando sensibilidade e linearidade satisfatórias para o propósito de uso do método.



**Figura 5.** Curva analítica obtida para nitrogênio amoniacal. ( $y = 0,0402x + 0,0007$ ;  $R^2 = 0,9999$ ).



**Figura 6.** Curva analítica obtida para nitrogênio total ( $y = 0,0134x + 0,0021$ ;  $R^2 = 0,9993$ ).

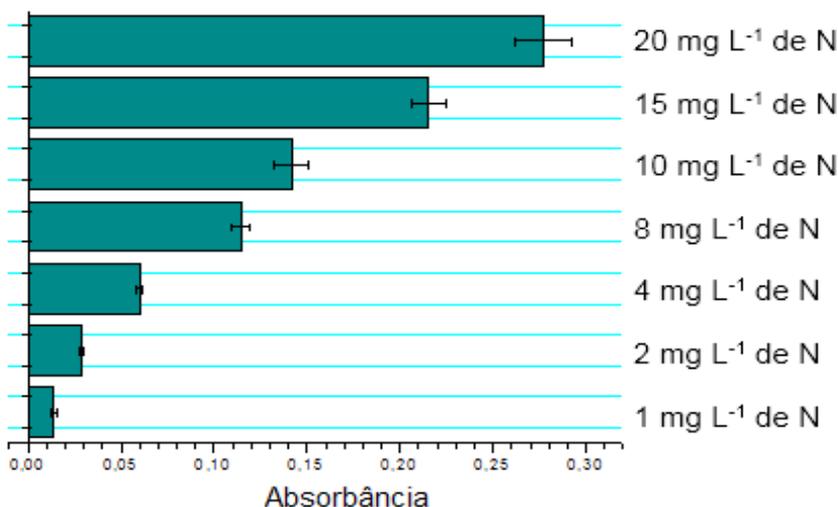
Os limites de detecção e quantificação obtidos pelo método são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), em mg L<sup>-1</sup> de N total e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, obtidos com a configuração proposta.

	LOD	LOQ
N total	0,123	0,411
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,042	0,142

Esse método pode ainda ser avaliado quanto à sua precisão instrumental. Para isso, foi medida a absorbância de nitrogênio total nas soluções de concentrações conhecidas com dez repetições independentes (n = 10) para obter o desvio padrão e assim avaliar a concordância nos valores adquiridos para as mesmas soluções em pequenos intervalos de tempo.

A Figura 7 mostra os desvios obtidos na avaliação da precisão quanto à repetibilidade das medições de nitrogênio total nas soluções de concentrações conhecidas.



**Figura 7.** Desvios padrão obtidos na determinação de N total em soluções de concentrações conhecidas (n=10).

Para a avaliação da repetibilidade ( $r$ ) e reprodutibilidade ( $R$ - precisão intermediária) do método, soluções analíticas em três níveis de concentração de  $N-NH_4^+$  (A, B e C) foram analisadas pelo sistema proposto, com sete réplicas para cada concentração. Análises realizadas no mesmo dia, sob condições de repetibilidade, e as realizadas no dia seguinte (tempo como variável), foram consideradas para o cálculo da precisão intermediária. As figuras de mérito obtidas são apresentadas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Figuras de mérito do método proposto para a determinação de  $N-NH_4^+$  ( $n=10$ ).

Amostra	$\bar{X}$	$s_r$	$r$	$RSD_r$	$s_R$	$R$	$RSD_R$ %	HorRat
		mg/L		%	mg/L			
A	0,50	0,022	0,06	4,4	0,087	0,24	17,4	0,98
B	1,89	0,021	0,06	1,1	0,123	0,35	6,5	0,45
C	7,90	0,055	0,15	0,7	0,276	0,77	3,5	0,30

$\bar{X}$  = média

$s_r$  = desvio padrão de repetibilidade

$r$  = repetibilidade\* ( $r = 2,8 \times s_r$ ):

\*O limite de repetibilidade ( $r$ ) é calculado conforme a equação 3:

$$r = t_{(n-1;1-\sigma)} \sqrt{2} \times s_r \tag{Equação 3}$$

O fator  $\sqrt{2}$  reflete a diferença entre duas medições,  $t$  é o valor da abscissa da distribuição  $t$  (*Student*) bilateral para determinado número de graus de liberdade (relacionados à estimativa do  $s_r$ ) e o nível de confiança. Para graus de liberdade relativamente altos,  $t$  é aproximadamente igual a 2 para 95,35% de confiança; assim, o limite de repetibilidade é frequentemente aproximado como:

$$r = 2,8 \times s_r \text{ (MAGNUSSON; ÖRNEMARK, 2014).}$$

$RSD_r$  = desvio padrão relativo de repetibilidade

$s_R^{**}$  = desvio padrão de reprodutibilidade

R = reprodutibilidade ( $R = 2,8 \times s_R$ )

\*\*Calculado de maneira similar ao limite de repetibilidade (r), substituindo  $s_r$  por  $s_R$ .

$RSD_R$  = desvio padrão relativo de reprodutibilidade

HorRat (**HOR**witz**RAT**io) = razão entre  $RSD_R$  calculado e  $RSD_H$  calculado a partir da equação de Horwitz (INMETRO, 2016; AOAC, 2011).

### Cálculo do valor de Horwitz:

$$RSD_H = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (\text{Equação 4})$$

Se  $0,5 \leq \text{HORRAT} \leq 2$ , os valores da reprodutibilidade dos métodos podem ser considerados satisfatórios (INMETRO, 2016).

Algumas amostras utilizadas para quantificar o  $\text{N-NH}_4$  e o  $\text{N-NO}_3$ , por meio do método proposto, foram analisadas também por cromatografia iônica, no comprimento de onda para nitrato em 210 nm ( $R^2 = 0,9963$ ;  $n=3$ ) e os resultados obtidos entre os dois procedimentos não apresentaram diferença estatisticamente significativa ao nível de 95% (teste  $t$  pareado) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Fração de massa de  $\text{N-NO}_3^-$  (em  $\text{mg L}^{-1}$ ) nas amostras de lixiviado de solo em água. Comparação entre a média dos resultados obtidos por cromatografia iônica (IC) e pelo método proposto, análise em fluxo (FI).

Amostra	FI <sup>a</sup>	IC
1	3,8 ± 0,3	4,2 ± 0,2
2	5,3 ± 0,1	5,1 ± 0,3
3	6,5 ± 0,2	6,8 ± 0,2
4	6,6 ± 0,3	6,3 ± 0,1
5	1,6 ± 0,2	1,8 ± 0,3

<sup>a</sup>Média ± desvio padrão (n = 3).

## Conclusão

O método proposto é simples, com pouco gasto de reagente e os resultados são confiáveis e fornecidos rapidamente, em razão da alta frequência analítica do procedimento em fluxo. Sem a necessidade de periódica manutenção e de atualizações tecnológicas, esse método de determinação de formas inorgânicas de nitrogênio pode ser utilizado rotineiramente em laboratórios que visam à economia e à praticidade com a segurança dos resultados.

## Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official method 892.01 Nitrogen (Ammoniacal and Nitrate) in fertilizers: Devarda Method. First Action 1892, Final Action 2010. [Rockville]: AOAC, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official method 2011.04 protein in raw and processed meats. Automated dye-binding method. First Action. 2011. [Rockville]: AOAC, 2011.

BRADY, N. C. **Natureza e propriedade dos solos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1983.

BREMNER, J. M. Total nitrogen. In: BLACK, C. A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Part 2: chemical and microbial properties. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p.1049-1178. (Agronomy, 9).

CARLSON, R. M. Continuous flow reduction of nitrate to ammonia with granular zinc. **Analytical Chemistry**, n.58, p.1590-1591, 1986.

CHETTY, A. A.; PRASAD, S. Flow injection analysis of nitrate and nitrite in commercial baby foods. **Food Chemistry**, v.197, p.503-508, 2016.

HATTON, D.; PICKERING, W. F. Modified procedure for the determination of exchangeable ions in lake sediments. **Chemical Speciation and Bioavailability**, v.2, n.4, p.139-147, 1990.

HONIKEL, K. O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**, v.78, p.68-76, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA (INMETRO). **Orientação sobre validação de métodos analíticos**: documento de caráter orientativo: DOQ-CGCRE-008: revisão 05, agosto 2016. 31 p. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8\\_05.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf)>. Acesso em: 16 jul. 2018.

KEMPERS, A. J.; KOK, C. J. Re-examination of the determination of ammonium as the indophenol blue complex using salicylate. **Analytical Chemistry**, v.221, p.147-155, 1989.

KRUG, F. J.; BERGAMIN, H.; ZAGATTO, E. A. G. Commutation in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v.179, p.103-118, 1986.

LEMOS, S. G.; NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B. **Determinação de formas inorgânicas de nitrogênio por análise em fluxo**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2002. 21 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 1).

MAGNUSSON, B.; ÖRNEMARK, U. (Eds.) **Eurachem guide: the fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics**. 2 ed. [Torino: INRIM], 2014.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: K&P Potafos, 1989.

MOORCROFT, M. J.; DAVIS, J.; COMPTON, R. G. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. **Talanta**, v.54, p.785-803, 2001.

MUCHOVEJ, R. M.; RECHCIGL, J. E. **Nitrogen fertilizants: soil amendments and environmental quality**. Boca Raton: Lewis, 1995.

NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B.; BATISTA, L. A. R. Determinação espectrofotométrica de nitrogênio em diferidos de plantas em sistema de análise por injeção em fluxo. **Química Nova**, v.19, n.1, p.51-58, 1996.

TRENKEL, M. E. **Slow and controlled release and stabilized fertilizers: an option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture**. Paris: IFA, 2010.

WANG, Q.-H.; YU, L. J.; LIU, Y.; LIN, L.; LU, R. G.; ZHU, J. P.; HE, L.; LU, Z. L. Methods for the detection and determination of nitrite and nitrate: a review. **Talanta**, v.165, p.709-720, 2017.

YASUHARA, T.; NOKIHARA, K. High-throughput analysis of total nitrogen content that replaces the classic Kjeldahl method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.4581-4583, 2001.

Exemplares desta edição  
podem ser adquiridos na:

**Embrapa Pecuária Sudeste**  
Rod. Washington Luiz, km 234, Caixa  
Postal 339  
13560-290, São Carlos, SP  
Fone: (16) 3411-5600  
www.embrapa.br  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição  
1ª edição on-line: 2018



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO

GOVERNO  
FEDERAL

Comitê Local de Publicações  
da Unidade Responsável

Presidente

*Alexandre Berndt*

Secretário-Executivo

*Simone Cristina Méo Niciura*

Membros

*Emília Maria Pulcinelli Camarnado, Mara  
Angélica Pedrochi, Maria Cristina Campanelli  
Brito, Milena Ambrosio Telles, Simone Cristina  
Méo Niciura*

Revisão de texto

*Milena Ambrosio Telles*

Normalização bibliográfica

*Mara Angélica Pedrochi*

Editoração eletrônica

*Maria Cristina Campanelli Brito*

Fotos da capa

*Cibeli Lira Costa*

CGPE: 14804