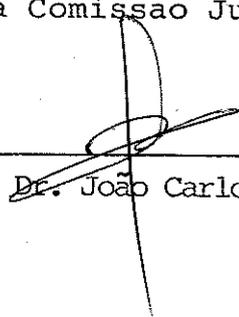


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

"Este exemplar corresponde a redação final da tese defendida por NÍVIA MARIA MELO COELHO e aprovado pela Comissão Julgadora".

Campinas, 28 de novembro de 1991

  
Prof. Dr. João Carlos de Andrade

320 2001/32  
AVALIAÇÃO DO MÉTODO DIFUSÃO-CONDUTIVIDADE NA  
DETERMINAÇÃO DE AMÔNIO E NITRATO EM SOLOS.

Desenvolvimento de um Detetor Condutométrico de  
Volume Variável Aplicado a Trabalhos de Rotina.

NÍVIA MARIA MELO COELHO

TESE DE MESTRADO

ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO CARLOS DE ANDRADE

CAMPINAS - 1991

"Quem deve ser levado em conta não é aquele que censura, que denuncia os tropeços dos fortes ou as limitações dos beneméritos; o valor pertence ao homem que está de fato na arena, cujo rosto está desfigurado pela poeira, pelo suor e pelo sangue; que luta valentemente, que erra, falha e torna a falhar; que conhece os grandes entusiasmos, as grandes dedicações; que se empenha numa causa justa e que quando vence, conhece finalmente a vitória das grandes realizações e, na pior das hipóteses se fracassa, será enquanto se aventura magnificamente, de modo que seu lugar nunca será junto àquelas almas timoratas que não conhecem a vitória nem a derrota".

Theodore Roosevelt

*Aquele que é o princípio e o fim de todas as coisas.*

*A Ele seja toda a minha vida!*

À minha adorável família,

e ao amigo Nivaldo Baccan.

## AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Química - UNICAMP e ao Instituto Agrônomo de Campinas pelas facilidades concedidas para a realização deste trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos;

Ao Prof. Dr. João Carlos de Andrade, pela sua orientação e dedicação durante todo esse trabalho;

Ao Dr. Heitor Cantarella, pela sua sugestão, sem a qual este trabalho não seria possível;

Ao Prof. Dr. Nivaldo Baccan, pelas discussões valiosas;

Aos meus irmãos adotados por mim: Cida, Lorena e Patrício;

Aos amigos: Rosa, Conceição, Sebastião, George, Anderson, Elias, André, Emília, Tereza, Marta, Felling, Solange, Dena, Mônica, Cláudio e Bel;

Aos professores e funcionários do Instituto de Química da UNICAMP que, direta ou indiretamente nos ajudaram no decorrer deste trabalho;

À Sílvia pelo excelente trabalho datilográfico e ao Iveraldo pela gentileza e arte final;

Ao Laurindo pelo trabalho de impressão e montagem fi-

nal desta tese;

Aos membros da Comissão Examinadora deste trabalho, de quem aguardo críticas e sugestões;

Sei que muitas outras pessoas contribuíram para que este trabalho pudesse ser realizado. Perdoem-me se seus nomes não aparecem aqui explicitamente.

*João Carlos, obrigada por tudo*

*o que você representou para mim.*

## ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	xiii
SUMMARY.....	xv
CAPÍTULO I	
Introdução.....	01
CAPÍTULO II	
Revisão Bibliográfica.....	05
II.1. Nitrogênio no Solo.....	05
II.2. Principais Métodos de Determinação de Nitrogênio em Solos.....	10
II.2.1. Métodos clássicos de tratamento de amos- tra e de determinação de nitrogênio to- tal.....	12
II.2.2. Os métodos colorimétricos.....	18
II.2.3. Os métodos eletroquímicos.....	23
II.3. Análise em Fluxo Contínuo.....	27
CAPÍTULO III	
Parte Experimental.....	35
III.1. Detetor Condutométrico de Fluxo.....	35
III.2. Desenvolvimento da Metodologia Analítica.....	39
III.2.1. Instrumentação.....	39
III.2.2. Sistema por injeção em fluxo.....	40
III.2.3. Reagentes e padrões.....	43
III.2.4. Colunas de reação.....	45
III.2.5. Tratamento das amostras.....	46

CAPÍTULO IV

Resultados e Discussões.....	50
IV.1. Variáveis que Afetam a Resposta do Detetor.....	50
IV.2. Metodologia Analítica.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura II.1 - Conjunto de destilação usado para a geração de amônia por arraste de vapor.....	15
Figura II.2 - Esquema de permeação por membrana.....	30
Figura III.1 - Cella de fluxo para medida de condutância...	36
Figura III.2 - Sistema de Análise por Injeção em Fluxo em linha única.....	38
Figura III.3 - Cella de difusão.....	41
Figura III.4 - Sistema de Análise por Injeção em Fluxo para determinação de amônio e nitrato/nitrito.....	42
Figura III.5 - Diagrama representativo para o processamento de amostras.....	48
Figura IV.1 - Curvas de resposta usando soluções padrão de KCl com diferentes condições experimentais.....	52
Figura IV.2 - Curvas de resposta usando sistema A.I.F. em linha única e banho termostaticado em diferentes temperaturas.....	56
Figura IV.3 - Sinais transientes de calibração usando soluções padrão de KCl.....	57

Figura IV.4	- Curvas de calibração para determinação de amônio, para verificar a eficiência dos reagentes alcalinos na reação.....	59
Figura IV.5	- Curvas de calibração para determinação de amônio. Variação observada alterando-se o volume da amostra injetado.....	61
Figura IV.6	- Curvas de calibração para determinação de amônio. Variação observada alterando-se a concentração de ácido clorídrico.....	66
Figura IV.7	- Curvas de calibração para determinação de amônio. Utilização de diferentes concentrações de ácido bórico e água para absorção de amônia.....	67
Figura IV.8	- Efeito do comportamento de diferentes ácidos utilizados para a absorção de amônia..	69
Figura IV.9	- Curvas de calibração para determinação de amônio. Variação da concentração molar do extrator.....	71
Figura IV.10	- Sinais transientes de calibração e determinação de amônio em extratos de solos.....	72
Figura IV.11	- Curva de calibração para determinação de amônio em extratos de solos.....	73

Figura IV.12 - Efeito da concentração de NaOH no processamento da amostra..... 76

Figura IV.13 - Efeito do tempo de aquecimento no processamento da amostra..... 77

Figura IV.14 - Efeito da concentração de EDTA na linha do carregador..... 79

Figura IV.15 - Sinais transientes de calibração e determinação de nitrato em extratos de solos..... 82

Figura IV.16 - Curva de calibração para determinação de nitrato em extratos de solos..... 83

## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela II.1 - Principais métodos de determinação de formas inorgânicas de nitrogênio em extratos de solos.....	11
Tabela II.2 - Método destilação a vapor com MgO e Liga de Devarda.....	17
Tabela II.3 - Condutividade iônica molar limite a 298 K..	26
Tabela III.1 - Condutâncias específicas de soluções de KCl em diferentes temperaturas.....	39
Tabela IV.1 - Efeito do sinal analítico na razão área/distância dos eletrodos.....	51
Tabela IV.2 - Estudo de diferentes tamanhos de coluna de MgO.....	63
Tabela IV.3 - Estimativa do tempo de uso da coluna de MgO	63
Tabela IV.4 - Efeito dos íons $Mg^{2+}$ na reação de redução do nitrato.....	78
Tabela IV.5 - Estudo do efeito de íons amônio na determinação de nitrato.....	80
Tabela IV.6 - Estudo da concentração adequada de NaOH para o sistema A.I.F.....	80
Tabela IV.7 - Resultados comparativos entre os métodos para determinação de amônio e nitrato em extratos de solos.....	85

## RESUMO

Foi desenvolvido um procedimento para a determinação condutométrica individual de amônio e de nitrato usando a técnica de Análise por Injeção em Fluxo (A.I.F.) por difusão gasosa. Este procedimento, que permite a determinação de  $\text{NH}_4^+$  e de  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ , separadamente, emprega sistemas A.I.F. operados em configuração em linha única. Neste método, os íons  $\text{NH}_4^+$  são transformados em amônia por reação com óxido de magnésio a frio, contido em uma pequena coluna de vidro ( $\phi = 2 \text{ mm}$ ;  $C = 5 \text{ cm}$ ). Os íons  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  são determinados após redução para amônia em meio alcalino, usando uma coluna contendo zinco metálico ativado com solução de sulfato de cobre a 5% (m/v). Como os íons  $\text{Mg}^{2+}$  interferem na redução do  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ , deve-se determinar estes íons separadamente do  $\text{NH}_4^+$ , após submeter uma fração do extrato a um tratamento prévio com NaOH para a eliminação dos íons amônio e demais espécies orgânicas nitrogenadas que possam gerar  $\text{NH}_3$  em meio básico.

Sob as condições experimentais de rotina, as curvas de calibração para  $\text{NH}_4^+$  e para  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  são lineares até 7,5 e 5,0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectivamente. O limite de detecção calculado, a partir do desvio padrão do sinal do branco, considerando-se a razão sinal-ruído igual a três, é de 20  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  para  $\text{NH}_4^+$  e de 60  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  para  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ . O método proposto permite uma frequência de análise de aproximadamente 90 determinações por hora, com uma precisão ao redor de 1%, tanto para  $\text{NH}_4^+$  como para  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ .

Este método foi aplicado a amostras de solos, usando-se como extrator uma solução de KCl 1M e os resultados obtidos

foram comparados favoravelmente com aqueles observados pelo método clássico. Observou-se vantagens para o sistema de A.I.F. como menor consumo de reagente, maior velocidade de análise e melhor precisão.

### SUMMARY

A Flow Injection Analysis (F.I.A.) procedure for the conductometric determination of ammonium and nitrate/nitrite by gas diffusion is presented. The flow injection system was operated in the single line configuration, separately, for the determination of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ . In this method,  $\text{NH}_4^+$  is converted into  $\text{NH}_3$  by reaction with magnesium oxide contained in a small column ( $\emptyset = 2 \text{ mm}$ ;  $h = 5 \text{ cm}$ ). Nitrate and nitrite concentrations were determined after reduction to ammonia in an alkaline medium using a column filled with metallic zinc activated with 5% copper sulphate solution. As  $\text{Mg}^{2+}$  ions interfere in the reduction reaction of  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ , it is necessary to determinate  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  separately from ammonium, after submitting a fraction of the extract to a treatment with NaOH for elimination of ammonium ions and organic nitrogen species, prior to the determination step.

Under the experimental conditions, the calibration graphs for  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  are linear up to 7,5 and 5,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectively. The detection limit is 20  $\text{ng mL}^{-1}$  for  $\text{NH}_4^+$  and 60  $\text{ng mL}^{-1}$  for  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ , calculated from three times the standard deviation of the blank signal. The methodology allows a sampling rate of about 90 determinations per hour with a precision of about 1% for  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ .

The method was applied to soil samples, using a 1,0 M potassium chloride solution (extractor), and the results compared favourably with those obtained by the classical procedure. The F.I.A. system showed lower reagent consumption, a higher analytical rate and better precision.

## CAPÍTULO I

### INTRODUÇÃO

A crescente necessidade de análises químicas tem exigido da Química Analítica o desenvolvimento de métodos de análises rápidos, exatos e precisos. Tal exigência torna-se relevante para amostras complexas, ainda mais quando a espécie analítica de interesse se encontra em níveis muito baixos de concentração no material de análise, o que geralmente implica no uso de métodos instrumentais.

Por ser uma matriz bastante complexa, o desenvolvimento de métodos para análises para solos não tem recebido muita atenção por parte dos químicos analíticos. Este é o caso da determinação de nitrogênio em solos. Ainda que vários métodos de análise de nitrogênio em solos já tenham sido propostos, existem grandes controvérsias a respeito da aplicabilidade destes procedimentos. Frequentemente não tem sido possível estabelecer critérios de análise de solo eficientes para nitrogênio.

A determinação de nitrogênio inorgânico em solos é muito difícil, porque as formas químicas presentes se modificam rapidamente, e além disso, o conteúdo deste elemento no material de análise é muito baixo.

Tradicionalmente, o nitrogênio presente na forma inorgânica em extratos de solos tem sido analisado pelo método de destilação a vapor e posterior titulação, desenvolvido por Bremner e colaboradores em 1965<sup>(1, 2)</sup>. Com algumas modificações, este método foi bem aceito pelos agrônomos, e, tem sido bastante utiliza-

do em laboratórios de análise de rotina de nitrogênio em solos. Ainda que o método seja simples e tenha sensibilidade adequada para a maior parte dos trabalhos em solos, existem certos problemas inerentes ao procedimento. A maior desvantagem deste método é que a fase de destilação não pode ser automatizada e a titulação pode induzir a erros relativamente grandes quando procedida do modo convencional.

A necessidade de técnicas rápidas que substituam as operações realizadas manualmente por um analista, proporcionando menor possibilidade de erros durante as análises, tem feito com que os procedimentos clássicos manuais sejam substituídos por métodos automatizados. De fato, o cansaço do analista pode ser responsável por resultados de precisão cada vez pior no decorrer de uma jornada de trabalho.

Sob este aspecto, a técnica de Análise por Injeção em Fluxo Contínuo (A.I.F.), uma metodologia analítica relativamente nova introduzida por Růzicka e Hansen<sup>(3)</sup>, mostrou-se rápida e reprodutível, com baixo custo operacional, além de apresentar precisão e exatidão comparáveis às dos métodos convencionais. A análise química por injeção em fluxo contínuo, pode ser definida como um processo de automatização de procedimentos analíticos, no qual a amostra em solução aquosa é introduzida em um fluido carregador que a transporta em direção ao detector. Durante o transporte a amostra pode receber reagentes, sofrer reações químicas e passar por etapas de separação, concentração. Nos casos mais simples, apenas uma dispersão da amostra, que pode ser resumida como uma diluição ocorre, ao passo que, em sistemas mais complexos, além da dispersão da amostra, interações químicas vão acontecer.

Alguns métodos de Análise por Injeção em Fluxo com diferentes sistemas de detecção foram descritos na literatura para a determinação de nitrogênio inorgânico em solos. A técnica de separação por difusão gasosa pode ser usada com a finalidade de permitir a passagem de gases de uma solução para outra. Já existe um equipamento comercial para a determinação de amônio usando o sistema em fluxo por difusão gasosa, chamado "Ammonia Analyzer" <sup>(4)</sup>. Entretanto, este analisador é muito caro e pode perfeitamente ser substituído por métodos mais simples e acessíveis.

O método de difusão e condutividade (D.C.M.) para determinação de amônio e nitrato/nitrito em extratos de solos tem sido divulgado devido às condições experimentais serem bastante simples <sup>(5,6)</sup>. Vários trabalhos foram realizados com a finalidade de aplicar o método à determinação de baixas concentrações de amônio e de nitrato/nitrito. Pasquini e Faria <sup>(7)</sup> aumentaram a área de permeação da unidade de difusão possibilitando, portanto, maior transferência de gás. Uma alternativa seria otimizar o sistema de detecção. Um detector condutométrico de volume variável é projetado e desenvolvido, cujo princípio está na possibilidade de variação da razão entre a área ativa e a distância dos eletrodos. Uma vez que a condutância de uma solução é diretamente proporcional a esta razão, a sua variação pode implicar no aumento de sensibilidade do método.

O método analítico aqui proposto aplica o mesmo princípio do método de difusão e condutividade, sendo que a transformação do íon amônio em amônia é por meio da reação com óxido de magnésio a frio contido em uma pequena coluna de vidro. Os íons nitrato/nitrito são determinados separadamente, como amônia, após

redução com zinco metálico.

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de instrumentação e metodologia para a determinação de nitrogênio inorgânico em extratos de solos usando a técnica de Análise por Injeção em Fluxo com detecção condutométrica. O método descrito mostrou-se útil para trabalhos de rotina.

## CAPÍTULO II

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## II.1. Nitrogênio no Solo

O solo é constituído por uma fase sólida, uma fase líquida e por uma mistura de gases<sup>(8)</sup>. A participação de cada fase no volume total varia de acordo com as condições climáticas ou as alterações feitas pelo homem. O volume ocupado pelas três fases em um solo considerado ideal é aproximadamente: 50% pela fase sólida, 25% pela solução e 25% pela mistura de gases. A fase sólida é constituída pelas frações mineral e orgânica do solo. Na maioria dos solos, mesmo nos chamados "solos minerais" as partículas minerais estão associadas de alguma maneira à matéria orgânica ou humus.

A matéria orgânica do solo é o resultado de transformações sofridas por restos de microorganismos, de animais e principalmente de plantas. O seu processo de decomposição é de fundamental importância para o desenvolvimento vegetal, pois mediante esse processo ocorre o fornecimento de macro e micronutrientes às plantas.

Dentre os nutrientes mineralizados encontra-se o nitrogênio. O nitrogênio é o nutriente exigido em maior quantidade pelas culturas, sendo essencial para o crescimento das plantas, pois é parte da célula viva. Não seria exagerado afirmar que sua deficiência no solo é o principal fator limitante do crescimento

das plantas<sup>(9)</sup>.

Segundo Hardy et al<sup>(10)</sup>, o aumento da produção de alimentos no mundo, está freqüentemente relacionado à adição de nitrogênio ao solo, através da adubação verde, da fixação biológica e de fertilizantes nitrogenados. O produto principal para a obtenção de fertilizantes nitrogenados é a amônia,  $NH_3$ . A amônia pode ser obtida a partir do nitrogênio do ar e do hidrogênio, submetidos a altas temperaturas e pressões na presença de catalisador. O hidrogênio para a síntese da amônia, vem do gás natural de petróleo, do gás residual das refinarias, da nafta ou mesmo do álcool.

Provavelmente devido aos baixos preços do petróleo e, por conseguinte, dos fertilizantes nitrogenados, os trabalhos sobre nitrogênio do solo não despertavam maiores interesses.

No entanto, com o advento dos conflitos bélicos no Oriente Médio em 1967, a eminência de uma possível escassez de petróleo no ocidente fez com que a partir de 1970 diversos países da Europa e os Estados Unidos intensificassem as pesquisas sobre a avaliação do nitrogênio do solo. Com a alta nos preços do petróleo em 1973 e, conseqüentemente, dos fertilizantes nitrogenados, os trabalhos sobre a dinâmica do nitrogênio no solo tiveram grande impulso. No entanto, este elemento ainda tem recebido pouca atenção nos trabalhos de pesquisa e o conhecimento atual é caracterizado por lacunas sobre os aspectos mais básicos.

O solo contém uma proporção relativamente grande de nitrogênio orgânico e uma pequena proporção de nitrogênio inorgânico. Purvis e Leo<sup>(11)</sup> empregaram pela primeira vez o termo "nitrogênio potencialmente mineralizável" para o nitrogênio facilmente hidrolizável da matéria

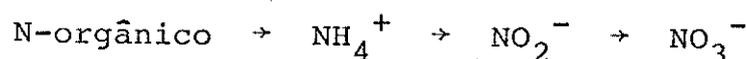
orgânica, incluindo uma pequena fração do  $\text{NH}_4^+$  trocável presente no solo.

Smith et al<sup>(12)</sup> definem "nitrogênio potencialmente mineralizável" como sendo aquela quantidade de nitrogênio orgânico susceptível de mineralização de acordo com uma cinética de primeira ordem (Stanford)<sup>(13)</sup>, enquanto que para Scarsbrook<sup>(14)</sup>, "nitrogênio disponível" é aquele nitrogênio próximo à rizosfera cuja espécie química é facilmente absorvida pelas raízes. Estas formas de nitrogênio são provenientes de diferentes fontes, tais como: fertilizantes nitrogenados, fixação biológica, mineralização da matéria orgânica e resíduos de outras culturas. Parte do nitrogênio orgânico do solo encontra-se em formas facilmente mineralizáveis, especialmente aminoácidos (arginina, cistina, cisteína) e hexosaminas (galactosamina e glucosamina).

A decomposição da matéria orgânica fornece praticamente todo o nitrogênio do solo, mas a maioria dos solos contém pouca matéria orgânica, geralmente 2% ou menos. Esta matéria orgânica do solo contém cerca de 5% de nitrogênio e menos de 2% do nitrogênio total presente são decompostos a cada ano. Conseqüentemente, o processo pelo qual as formas orgânicas são convertidas em formas disponíveis é importante para o crescimento das plantas. Dois processos, denominados de uma forma genérica de "mineralização" e "imobilização", afetam a quantidade de nitrogênio no solo. Pela mineralização a matéria orgânica presente no solo, húmus e especialmente restos orgânicos de origem mais recente, são decompostos com a liberação de gás carbônico, formas minerais de nitrogênio e demais elementos. O nitrogênio também pode ser convertido da forma inorgânica para a forma orgânica, processo o qual é chamado de imobilização. A transformação em depósito orgânico ou inorgânico depen-

de grandemente da relação carbono/nitrogênio dos materiais orgânicos em decomposição. Os materiais com alta relação C/N (maior que 30:1) favorecem a imobilização e os com baixa relação C/N (menor que 20:1) favorecem uma mineralização mais rápida. Quando as relações C/N estão na faixa de 20:1 a 30:1, os dois processos praticamente se igualam. Quando a imobilização do nitrogênio no solo excede a mineralização, pode-se não ter nitrogênio disponível para as culturas em crescimento, a não ser que fertilizantes nitrogenados sejam aplicados ao solo.

Como as formas disponíveis de nitrogênio mais importantes são as formas inorgânicas, o nitrogênio na forma orgânica (N-orgânico) precisa sofrer transformações antes de se tornar disponível. A mineralização do N-orgânico processa-se por diversas etapas e as reações, promovidas por microorganismos, culminam com a formação de nitrato.

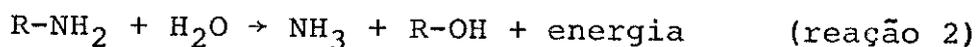


O primeiro passo na decomposição de compostos orgânicos nitrogenados é o processo pelo qual ocorre formação de aminas (aminização) promovido por microorganismos heterotróficos, que necessitam de carbono orgânico como fonte de energia. A reação pode ser representada por:

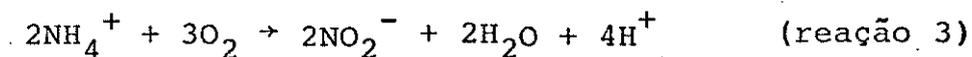


(reação 1)

A reação prossegue resultando a formação de amônia (amonificação), promovida por outros microorganismos heterotróficos:



A amônia formada, em combinação com água, fornece o íon amônio ( $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$ ), que é possível de ser absorvido pelas plantas. Porém, em geral, quase todo o amônio formado é convertido em nitrato, pelas seguintes reações:



O processo é efetuado por bactérias autotróficas, que obtêm energia da oxidação de sais inorgânicos e usam  $\text{CO}_2$  como fonte de carbono. A conversão de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_2^-$  tem a intervenção de bactérias do gênero Nitrosomas, enquanto que a passagem de  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  é promovida por bactérias do gênero Nitrobacter.

A grande dificuldade na avaliação da disponibilidade do nitrogênio está na dinâmica do elemento no solo. A mineralização da matéria orgânica e a imobilização de formas minerais são variáveis, dependendo da disponibilidade de resíduos orgânicos, de fatores climáticos e de condições do próprio solo<sup>(15)</sup>. Conceitualmente, há duas fontes gerais de nitrogênio do solo disponível para as plantas. Embora íons amônio possam ser fornecidos ao solo, muitas vezes a forma mais absorvida pelas plantas é o nitrato, por causa das transformações de um em outro. O íon amônio, sendo um cátion, permanece em forma trocável, adsorvido pelas cargas negativas do solo. Já o nitrato, por ter carga negativa, é repellido pela superfície das partículas do solo, permanecendo em solução, sendo assim muito móvel e susceptível à lixiviação. O nitrito é um ânion, em geral de existência efêmera no solo, pois é rapidamente oxidado a nitrato. Isso é importante, pois o nitrito é tóxico para as plantas e para os animais que delas se alimentam.

A determinação do nitrogênio inorgânico disponível consiste basicamente na determinação das formas minerais de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  trocável (\*). O  $\text{NO}_2^-$  quase nunca está presente em quantidades detectáveis e, portanto, a sua determinação não é importante.

## II.2. Principais Métodos de Determinação de Nitrogênio em Solos

Vários métodos têm sido propostos e descritos na literatura como adequados à determinação quantitativa de nitrogênio em suas diversas formas, diferenciando-se entre si quanto à faixa útil de concentração e quanto à susceptibilidade à interferência de outros elementos presentes no material de análise.

Esta revisão bibliográfica consiste na avaliação dos métodos de determinação de nitrogênio inorgânico em extratos de solos, desde o surgimento dos primeiros métodos em 1965 descritos por Bremner, até os métodos mais atuais. Obviamente este não é um levantamento exaustivo dos métodos de determinação de nitrogênio, mas, com certeza, é o mais importante em relação ao trabalho aqui descrito. Alguns destes métodos são mostrados na Tabela II.1.

Em geral, os métodos utilizados para determinação de formas inorgânicas de nitrogênio em extratos de solos não são mui

---

(\*) A Sociedade Americana de Ciência do Solo<sup>(16)</sup> tem recomendado a definição do termo fixação de amônio como "a adsorção ou absorção de íons amônio por frações inorgânicas ou minerais do solo de maneira que são relativamente insolúveis em água e não trocáveis por métodos comuns de troca catiônica. No entanto, muitos pesquisadores têm definido convenientemente amônio não trocável como o amônio, o qual não é extraído por uma solução de KCl 1M à temperatura ambiente. Desde que esta definição recebeu grande aceitação, é conveniente definir amônio-trocável como o amônio, o qual é extraído por uma solução de KCl 1M à temperatura ambiente.

Tabela II.1. Principais métodos propostos para a determinação de formas inorgânicas de nitrogênio em extratos de solos<sup>(1)</sup>

Método	Concentração do extrato (mg L <sup>-1</sup> )	Interferências	Comentários
<u>Nitrogênio - Amônio</u>			
Azul de Indofenol	0,005 - 20	Cálcio, magnésio	Simples e rápido, interferência eliminada por menor quantidade da alíquota
Nessler	0,1 - 10	Cálcio, magnésio, ferro, enxofre	Amostras devem ser destiladas antes do desenvolvimento da cor
Eletrodo seletivo	0,1 - 1400	Aminas voláteis	Sensível, rápido
Destilação a vapor	0,1 - 1000	Aminas voláteis	Rápido, amplamente usado
Microdifusão com MgO	0,1 - 100	Nenhum	Simples
<u>Nitrogênio - Nitrito</u>			
Absorção direta UV a 355 nm	20 - 2000	Matéria orgânica	Simples, pouco sensível
Método de Griess-Ilosvay	0,01 - 12	Nenhum	Sensível
Destilação a vapor com Liga de Devarda e ácido sulfâmico	0,1 - 10	Solos alcalinos ou extratos	Pouco sensível
<u>Nitrogênio - Nitrato</u>			
Absorção direta UV a 210 nm	0,5 - 10	Nitrito, matéria orgânica, ferro	Simples, pouco sensível, exige pré-tratamento
Ácido fenoldisulfônico	0,1 - 2	Cloreto, matéria orgânica, nitrito	Pouca reprodutibilidade; H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado usado, não recomendado
Brucina	0,1 - 2	Nitrito, agentes oxidantes ou redutores	Pouca reprodutibilidade, brucina carcinogênico
Ácido cromotrópico	0,3 - 8	Matéria orgânica	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentrado usado
Método de Griess-Ilosvay	0,01 - 20	Nenhum	Muito sensível, alguns problemas com a redução
Eletrodo seletivo	2 - 1400	Cloreto, brometo, iodeto, sulfeto	Pouco exato, as amostras devem ser tampoadas
Redução para NH <sub>3</sub> e destilação a vapor	1 - 1000	Aminas, fosfato, nitrito	Medir NH <sub>3</sub> por titulação ou métodos colorimétricos
Microdifusão com Liga de Devarda	0,1 - 10	Nitrito	Pouco sensível, lento

to sensíveis, são sujeitos a interferências de constituintes orgânicos e inorgânicos presentes no solo, podem não ser aplicáveis a extratos coloridos ou túrbidos e, finalmente, consomem bastante tempo de análise.

Como o interesse deste trabalho está direcionado para a determinação de amônio e nitrato em solos, os procedimentos mais adequados e melhores aplicados a este tipo de determinação foram avaliados a seguir.

### II.2.1. Métodos clássicos de tratamento de amostra e de determinação de nitrogênio inorgânico

Existem dois métodos com grande aceitação para a determinação de nitrogênio total a saber: o método de Kjeldahl<sup>(17)</sup>, o qual é essencialmente um procedimento de oxidação por via úmida, e o método de Dumas<sup>(18)</sup>, o qual é fundamentalmente uma técnica de oxidação a seco.

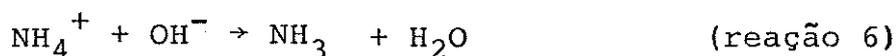
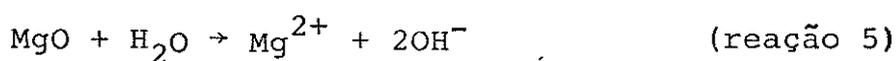
No método de Kjeldahl, o nitrogênio na forma orgânica é convertido a íons amônio por digestão com ácido sulfúrico com uso de catalisadores e determinado como NH<sub>3</sub> após a destilação do digerido em meio básico.

No método clássico de Dumas, a amostra é aquecida com óxido de cobre (cerca 600°C) em uma corrente de CO<sub>2</sub>, e os gases liberados são reduzidos para N<sub>2</sub>. A mistura N<sub>2</sub> - CO<sub>2</sub> é coletada em um aparelho para medida de volume de gases (nitrômetro) contendo álcali que absorve o CO<sub>2</sub> e o volume de N<sub>2</sub> é medido, posteriormente.

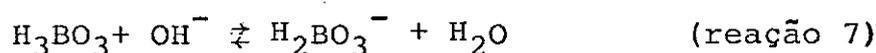
Antes de 1960 existiam boas razões para se questionar a confiabilidade do método de Kjeldahl aplicado à análises de so

lo, dada a falta de conhecimentos a respeito deste elemento no solo. O procedimento de Kjeldahl fornece resultados satisfatórios para a determinação de nitrogênio total na maioria dos compostos nitrogenados conhecidos que ocorrem no solo, mas não fornece resultados exatos para os compostos contendo ligações N-N e N-O. No entanto, como é conhecido, o solo contém quantidades de interesse de nitrogênio inorgânico na forma de  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NO}_2^-$ , os quais contêm ligações N-O, e este nitrogênio não é convertido quantitativamente em  $\text{NH}_3$  pelo procedimento de Kjeldahl empregado para a determinação de nitrogênio total. No entanto, trabalhos realizados por Bremner<sup>(19)</sup> forneceram boas evidências de que o método de Kjeldahl poderia ser usado satisfatoriamente para determinação de nitrogênio total em solos desde que certas precauções fossem observadas.

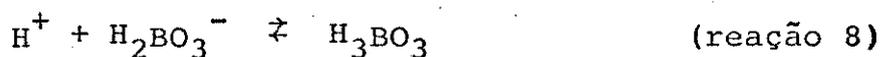
O método de destilação a vapor para determinação de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  descrito por Bremner<sup>(19 - 21)</sup> é muito usado em laboratórios de análises de rotina. Neste método a liberação de  $\text{NH}_3$  na destilação é obtida pela alcalinização do extrato com MgO:



Na destilação, o vapor de água favorece a volatilização da amônia por arraste e agitação. No condensador a reação anterior procede da direita para a esquerda, recolhendo-se então o condensado em solução de ácido bórico-indicador:

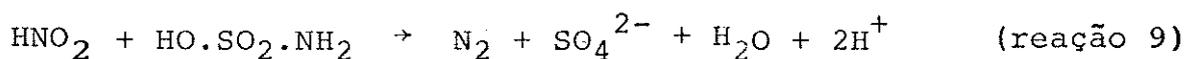


A titulação é feita com ácido sulfúrico diluído:



O indicador misto de verde de bromocresol e vermelho de metila em ácido bórico possibilita a observação da mudança de cor na titulação, que ocorre em intervalo menor do que uma unidade de pH (de 4,8 a 5,6). A Figura II.1 mostra um conjunto de destilação para determinação de amônia por arraste de vapor. Após a transformação do  $\text{NH}_4^+$  em  $\text{NH}_3$  e o seu arraste, adiciona-se ao meio uma certa quantidade da Liga de Devarda (50% Cu, 45% Al e 5% Zn) para reduzir  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NH}_4^+$ , o qual é também transformado em  $\text{NH}_3$  e posteriormente medido por Volumetria Ácido-Base, como descrito acima.

A quantidade de  $\text{NO}_2^-$  pode ser determinada, se necessário. Neste caso, mede-se a quantidade total de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  e, em uma alíquota, elimina-se o  $\text{NO}_2^-$  do extrato com ácido sulfâmico.



Mede-se novamente a quantidade de  $\text{NH}_3$  liberada e, por diferença, calcula-se a quantidade de nitrito presente.

Os procedimentos para a determinação das várias formas químicas de nitrogênio inorgânico pelo método destilação a vapor são esquematizados na Tabela II.2. Algumas vantagens apresentadas por este método são a simplicidade do procedimento e a sua aplicação a extratos coloridos e túrbidos. No entanto, existe a possibilidade de interferência por compostos orgânicos nitrogenados. Estudos do comportamento de glutamina, glucosamina e outros compostos orgânicos sobre condições empregadas na destilação de



amônio com MgO tem mostrado que ocorre interferência quando o tempo de destilação excede a três minutos, de modo que para a de terminação de amônio o problema é resolvido usando-se pequenas quantidades de MgO e um curto período de destilação<sup>(20, 21)</sup>. A possibilidade de interferência no procedimento de análise descrito é maior para a determinação de  $N\text{-NO}_3^-$  e  $N\text{-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ , porque o tempo mínimo de destilação com óxido de magnésio é cerca de sete minutos e fosfato<sup>(22)</sup>, magnésio<sup>(23, 24)</sup>, silicato e carbonato<sup>(25, 26)</sup> interferem na redução do nitrato a amônio pela Li ga de Devarda.

Estes procedimentos foram reavaliados<sup>(27)</sup> e dois procedimentos de destilação a vapor para determinação de  $\text{NH}_4^+$ -troçável,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  foram descritos. Eles são idênticos àqueles desenvolvidos por Bremner e Keeney<sup>(20, 21)</sup> e Keeney e Bremner<sup>(27)</sup>. Em um dos procedimentos a amostra de solo é agitada com KCl 2M durante uma hora, e o extrato resultante deste tratamento é analisado por destilação a vapor. No outro, a amostra de solo é tratada com KCl 2M e analisada diretamente pelo mesmo método.

O procedimento direto com MgO - Liga de Devarda é simples e rápido, e seu desenvolvimento elimina o problema da hidrólise da uréia porventura presente e a decomposição do nitrito associado com o procedimento de extração. No entanto, a possibilidade de int erferên cia é mais importante neste procedimento do que aqueles que envolvem extração. Robinson<sup>(28)</sup> e Sahrawat e Ponnamparuma<sup>(29)</sup> indicaram que a destilação direta fornece significativamente maiores valores para  $N\text{-NH}_4^+$  troçável em solos orgânicos do que o procedimento de extração-destilação convencional.

A fase crítica do método de Kjeldahl para a determinação de nitrogênio inorgânico é a titulação, a qual pode induzir a erros relativamente grandes. O ponto final da titulação, obti-

Tabela II.2. Procedimentos de destilação a vapor com MgO e Liga de Devarda

Forma de nitrogênio	Procedimentos
$\text{NH}_4^+$	Destilação a vapor com MgO
$\text{NO}_3^-$	Destilação a vapor com MgO e Liga de Devarda depois de destruir $\text{NO}_2^-$ com ácido sulfâmico e remover $\text{NH}_4^+$ pela destilação com MgO
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$	Destilação com MgO e Liga de Devarda depois de destruir $\text{NO}_2^-$ com ácido sulfâmico
$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$	Destilação com MgO e Liga de Devarda depois de remover $\text{NH}_4^+$ pela destilação com MgO
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$	Destilação com MgO e Liga de Devarda

do quando o destilado é coletado em solução de ácido bórico-indicador e titulado com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (ou  $\text{HCl}$ ) padronizado, depende da pureza do ácido bórico, da força da solução de ácido bórico e do indicador. Dióxido de carbono<sup>(25)</sup> despreendido durante a destilação direta de extratos de solos com MgO interfere na determinação de  $\text{NH}_4^+$ . Quando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ou  $\text{HCl}$  é usado para coletar amônia, recomenda-se aquecer o destilado por alguns minutos para remover o  $\text{CO}_2$  dissolvido na solução, depois da destilação com MgO. Este procedimento não é conveniente se ácido bórico for usado para coletar a amônia liberada no processo de destilação porque perde-se a amônia por volatilização durante o aquecimento do destilado<sup>(30, 31)</sup>.

Siemer<sup>(32)</sup> propôs o uso de ácido bórico sólido como absorvente de amônia na determinação de nitrogênio. O ácido bórico é subseqüentemente dissolvido em água e a determinação final do íon amônio é feita por titulação acidimétrica, medida de condutância e medida espectrofotométrica depois da adição do reagente de Nessler.

Poucas modificações foram introduzidas no método de destilação-titulação desde o seu aparecimento até hoje, mas, de acordo com os procedimentos descritos, os parâmetros apresentados devem ser considerados no que diz respeito a avaliação do método destilação-titulação aplicado à determinação de nitrogênio inorgânico em extratos de solos.

### II.2.2. Os métodos colorimétricos

Um grande número de métodos colorimétricos para determinação de amônio e nitrato são descritos na literatura, mas relativamente pouco desses métodos foram avaliados para aplicação em extratos de solos, embora a precisão dos métodos colorimétricos seja muito maior do que a do procedimento de titulação.

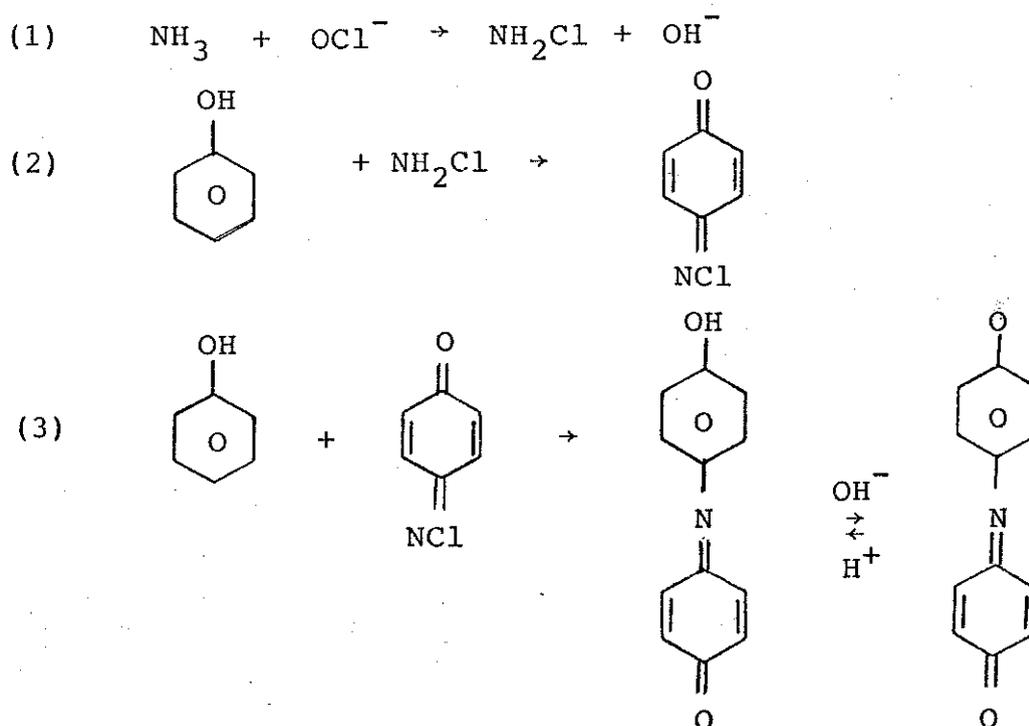
O conteúdo de amônio nos extratos de solos é determinado por um procedimento que envolve duas etapas: a destilação, já discutida anteriormente, e o desenvolvimento de cor, geralmente pelo método de Nessler ou pelo método de Berthelot (azul de indofenol).

O método de Nessler é rápido e de operação simples, mas esta técnica apresenta várias desvantagens. O método tem pouca reprodutibilidade e não é sensível para baixas concentrações de

amônio. O reagente de Nessler reage somente com amônia (não interage com aminas orgânicas e outros compostos nitrogenados como aminoácidos), mas não é estável e não deve ser estocado por longo tempo. Os fatores que influenciam a reação entre amônia e o reagente de Nessler foram estudados por Thompson e Morrison<sup>(33)</sup>. Eles mostraram que o período de reação, a quantidade de reagente, a temperatura da reação durante o desenvolvimento da cor, a presença de outros cátions e ânions, e o pH da reação são fatores críticos para o procedimento.

A introdução do método do azul de indofenol para medidas colorimétricas de amônio em solos na década de 70 fez com que este método fosse adotado em 1982 pela Sociedade Americana de Agronomia e pela Sociedade Americana de Ciência do Solo. A reação baseia-se na formação do complexo (azul de indofenol) entre amônia e fenol na presença de agentes oxidantes como o hipoclorito de sódio<sup>(34)</sup>.

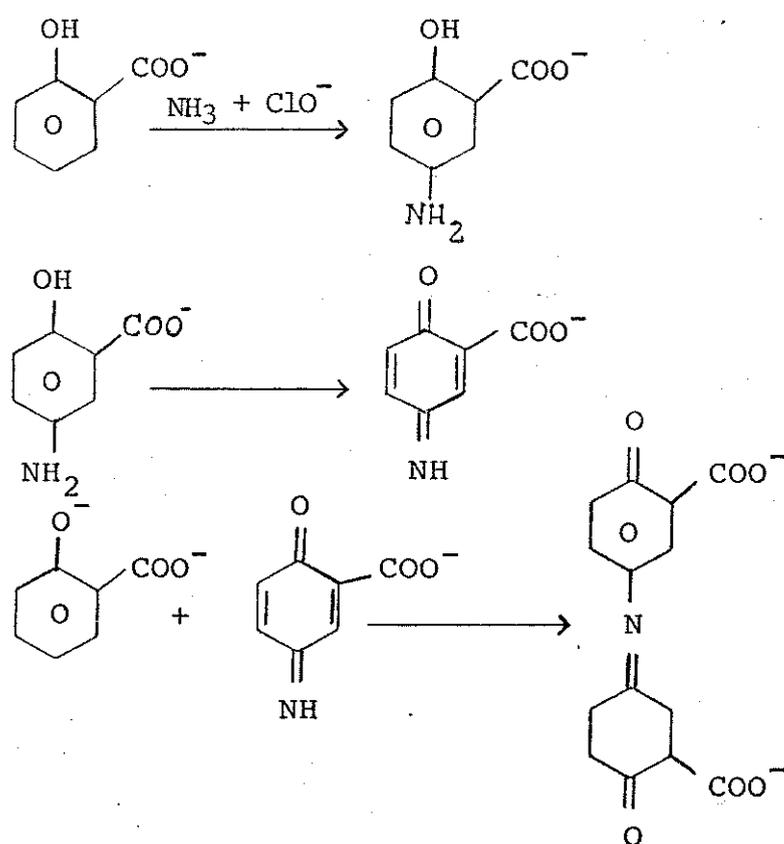
Esta reação é empregada na determinação de amônio devido a alta seletividade. O mecanismo da reação é complexo e ainda não foi completamente esclarecido. Bolleter et al<sup>(35)</sup> sugeriram a seguinte seqüência de reações quando se utiliza hipoclorito de sódio como oxidante.



A presença de nitrosopentacianoferrato (III) de sódio (nitroprussiato de sódio) catalisa a reação de formação de indofenol. Além de aumentar a velocidade de desenvolvimento da cor, a presença do nitroprussiato estabiliza a cor formada e torna a reação menos sensível a variações de pH.

O método clássico de Nessler e o mais moderno método de indofenol são usados para determinação espectrofotométrica de microquantidades de nitrogênio. No entanto, ambos os métodos não são suficientemente sensíveis para a determinação direta do conteúdo de íons amônio em solos.

Milham e Pym (36) utilizaram o método que substitui o fenol do método de Berthelot pelo ácido salicílico. Este método baseia-se na reação de formação do complexo verde quando amônia e salicilato reagem na presença de hipoclorito de sódio e nitroprussiato de sódio. Qui et al (37) utilizaram o salicilato para determinação de íons amônio em solos e concluíram que a sensibilidade do método é três vezes maior que ambos os métodos descritos anteriormente. Eles sugeriram a seguinte seqüência para as reações:



A escolha do método para a determinação de nitrato e nitrito depende da faixa de concentração, e, principalmente da especificidade da técnica. Dois problemas estão associados com a determinação colorimétrica das formas inorgânicas de nitrogênio no solo. Primeiro, os constituintes do solo, como matéria orgânica, cloreto e ferro(III) presentes nos extratos de solos, interferem durante o desenvolvimento da cor em muitos métodos propostos. Além disso, a presença de nitrito em extratos de solos interfere na determinação de nitrato na maioria dos procedimentos colorimétricos. O segundo problema é referente ao procedimento de extração para a determinação de nitrato e nitrito que pode não ser aplicável para a determinação de amônio. Nestes casos, se nitrogênio inorgânico tiver que ser determinado, então duas extrações separadas devem ser realizadas para cada amostra de solo.

Douglas e Bremner<sup>(38)</sup> desenvolveram um procedimento para extração e determinação colorimétrica de uréia em solos e determinaram  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  no mesmo extrato pelo método de destilação a vapor. Porém, estes procedimentos são bastante demorados e não são facilmente automatizados.

Os métodos comumente usados para a determinação de  $\text{NO}_3^-$  têm como princípio a redução do  $\text{NO}_3^-$  para  $\text{NH}_3$  seguida pela destilação ou microdifusão de Conway<sup>(39)</sup>, ou a redução para  $\text{NO}_2^-$  e sua determinação pelo método de Griess-Ilosway<sup>(39)</sup>, por espectrofotometria na região do ultravioleta<sup>(40)</sup>, ou por medidas colorimétricas de produtos de nitração formados pelo  $\text{NO}_3^-$  com ácido fenoldissulfônico<sup>(41)</sup>. Alguns métodos colorimétricos utilizam como reagente, a brucina<sup>(42)</sup>, o ácido cromotrópico<sup>(43)</sup> e o 2,4-xilenol<sup>(44)</sup> para formar produtos de nitração. No método de redução do  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_3$  pela liga de Devarda, o  $\text{NO}_2^-$  é também reduzido a

$\text{NH}_3$ . Outros problemas incluem a interferência de aminas, fosfatos e silicatos. O método de Griess-Ilosway apresenta excelente reprodutibilidade, é relativamente simples e as interferências por compostos constituintes nos extratos de solos são mínimas. A desvantagem deste método está na pequena faixa útil de concentração.

West e Lyles<sup>(45)</sup> desenvolveram o método CTA (ácido cromotrófico) para a análise de água. Eles concluíram que o método sofria a interferência de  $\text{NO}_2^-$  e de  $\text{Fe(III)}$ .

West e Ramachandran<sup>(46)</sup> modificaram o método adicionando o sulfeto de sódio para eliminar possíveis agentes oxidantes e converter a uréia e o  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{N}_2$ .

Haby<sup>(47)</sup> utilizou o procedimento do método CTA para análise de extratos de solos e verificou que os resultados obtidos pelo método CTA apresentaram boa concordância com os resultados do método PDSA (ácido fenoldissulfônico).

A forte banda de absorção do íon  $\text{NO}_3^-$  em 203 nm<sup>(48)</sup> tem sido usada para a determinação de  $\text{NO}_3^-$  em amostras de águas naturais<sup>(49)</sup> e em soluções de solos<sup>(50)</sup>. Em determinações de  $\text{NO}_3^-$  em amostras de solos por espectrofotometria UV existe a interferência de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e da matéria orgânica, que absorvem na mesma região de comprimento de onda de absorção do íon  $\text{NO}_3^-$ . Norman e Stucki<sup>(50)</sup> descreveram um método usando espectrofotometria UV para determinação de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  em extratos de solos contendo quantidades diferentes de matéria orgânica e outras espécies que possam interferir na determinação de  $\text{NO}_3^-$ . O método indicado apresentou boa correlação com os resultados obtidos pelo procedimento de destilação por arraste de vapor.

### II.2.3. Os métodos eletroquímicos

Os princípios aplicados à detecção eletroquímica se relacionam a uma grande variedade de técnicas. Em geral, é conveniente classificar esses detectores baseado no tipo de medida elétrica. Neste sentido, as possibilidades para a detecção eletroquímica são: 1) medida de corrente enquanto o potencial elétrico é controlado (amperometria, coulometria); 2) medida de corrente como função do potencial e do tempo (voltametria); 3) medida do potencial negligenciando a medida de corrente (potenciometria); e 4) medida de condutância (condutometria).

Várias técnicas eletroquímicas são utilizadas para a determinação de amônio e nitrato, sendo que a técnica mais frequentemente usada para a determinação de formas inorgânicas de nitrogênio em solos é a do eletrodo seletivo. Teoricamente esta técnica é simples, rápida e conveniente, se comparada com o método de destilação manual ou métodos colorimétricos, mas o eletrodo seletivo não é sensível para baixas concentrações, se comparado com os métodos espectrofotométricos.

Desde sua introdução em 1967, vários estudos têm avaliado o desempenho desses eletrodos e os procedimentos propostos para o seu uso indicam a interferência potencial de constituintes encontrados no solo. Muitas pesquisas apresentaram resultados contraditórios e é impossível identificar um procedimento que permita a recomendação de um método universal para a determinação de amônio e nitrato.

Bremner e Tabatabai<sup>(51)</sup> foram os primeiros que aplicaram o eletrodo sensível a amônia para a determinação de amônio em digeridos de Kjeldahl de solos. Eles mostraram que o método

utilizando este eletrodo apresentou resultados concordantes com aqueles obtidos pelo método de destilação-titulação e indicaram que este método seria o mais conveniente no caso.

Mertens et al<sup>(52)</sup> mostraram que o eletrodo sensível a amônia é aplicável em análises de digeridos de Kjeldahl em águas, embora o limite de detecção seja alto. Mertens desenvolveu um método para determinação de  $\text{NO}_3^-$  medindo o aumento da concentração de amônia depois que  $\text{NO}_3^-$  era quantitativamente reduzido a  $\text{NH}_3$  pela Liga de Devarda. Este método tem a mesma sensibilidade e reprodutibilidade dos que utilizam o eletrodo sensível a  $\text{NO}_3^-$ .

Mertens et al<sup>(52)</sup> adaptaram a técnica do eletrodo sensível a amônia utilizando-o à semi-automatização. No entanto, são observadas interferências de mercúrio (devido a formação de complexos de  $\text{Hg-NH}_3$  em meio alcalino) e de amins voláteis (por exemplo, metilamina, etilamina).

O eletrodo seletivo a nitrato parece ser uma técnica potencialmente interessante para determinação de  $\text{NO}_3^-$  em extratos de solos, sendo usado para medir  $\text{NO}_3^-$  não somente em extratos filtrados, mas também em suspensões de solos<sup>(53-54)</sup>. Embora bons resultados tenham sido obtidos e comparados com as determinações feitas por eletrodo e outros métodos padrões para altas concentrações de nitrato<sup>(55, 56)</sup>, o eletrodo não é aplicado para baixas concentrações. Abaixo de  $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$  de  $\text{N-NO}_3^-$ , é necessário um grande período para obter uma leitura estável<sup>(57)</sup>. A instabilidade do potencial da cela e o equilíbrio químico não alcançado, faz com que as medidas sejam inexatas. O eletrodo sensível a  $\text{NO}_3^-$ , exige contínua padronização, sendo sujeito a várias interferências.

Outras técnicas eletroquímicas podem ser utilizadas pa

ra a determinação de nitrogênio inorgânico. Medidas de condutividade são adequadas e convenientes à determinação de amônia, particularmente para baixas concentrações, embora grandes concentrações possam ser também determinadas.

A Condutometria baseia-se na medida de condutância elétrica das soluções iônicas, podendo ser definida como o inverso da resistência, isto é,

$$C = \frac{1}{R}$$

A Lei de Ohm estabelece que a corrente  $I$  é proporcional à diferença de potencial  $E$  através de um condutor, portanto:

$$E = IR \quad \text{ou} \quad I = EC$$

onde as constantes de proporcionalidade são chamadas de resistência  $R$  e a condutância  $C$ . Se  $E$  é medido em volts e  $I$  em amperes,  $R$  terá unidade em volts por ampere, chamada de ohm ( $\Omega$ ). Desde que a condutância é a recíproca da resistência,  $C$  terá a unidade  $\Omega^{-1}$ , também chamada siemens.

Para os químicos a condutividade é mais interessante, pois ela depende somente da natureza e da temperatura da substância condutora, e não das propriedades físicas da amostra.

A condutância de uma solução é inversamente proporcional à distância  $d$  entre os eletrodos e diretamente proporcional à sua área,  $a$ . Esta relação é definida como constante da cela de condutividade. A condutância também depende da concentração dos íons  $C_i$  por unidade de volume da solução e da condutância iônica equivalente  $\lambda_i$  destes íons:

$$L = \frac{a}{d \sum C_i \lambda_i}$$

onde, o símbolo de somatório indica a soma das contribuições de todos os íons presentes na solução.

A condutância iônica equivalente é uma propriedade importante dos íons, a qual fornece uma informação quantitativa em relação às contribuições relativas dos íons, nas medidas de condutância. Portanto, o valor de  $\lambda$  depende da concentração iônica total da solução e aumenta com a diluição. É comum tabelarem-se valores numéricos de  $\lambda^{\circ}$ , isto é, a condutância iônica equivalente à diluição infinita. A Tabela II.3 mostra os valores de  $\lambda^{\circ}$  para alguns íons <sup>(58)</sup>.

Tabela II.3. Condutividade iônica molar limite à 298 K.

Cátions	$\lambda_{+}^{\circ}/\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$	Ânions	$\lambda_{-}^{\circ}/\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$
$\text{H}^{+}$	349,8	$\text{OH}^{-}$	198,3
$\text{NH}_4^{+}$	73,4	$\text{Cl}^{-}$	76,4
$\text{Na}^{+}$	50,1	$\frac{1}{2}\text{CO}_3^{2-}$	59,3
$\frac{1}{2}\text{Mg}^{2+}$	53,1	$\text{HCO}_3^{-}$	44,5
$\frac{1}{3}\text{Al}^{3+}$	63,0	$\text{NO}_3^{-}$	71,4
$\text{K}^{+}$	74,5	$\frac{1}{3}\text{PO}_4^{3-}$	80,0
$\frac{1}{2}\text{Ca}^{2+}$	59,5	$\frac{1}{2}\text{SO}_4^{2-}$	79,8
$\frac{1}{2}\text{Fe}^{2+}$	54,0	$\text{HSO}_4^{-}$	52,0
$\frac{1}{3}\text{Fe}^{3+}$	68,4	$\text{HCOO}^{-}$	54,6
$\frac{1}{2}\text{Cu}^{2+}$	53,6	$\text{CH}_3\text{CO}_2^{-}$	40,9
$\frac{1}{2}\text{Zn}^{2+}$	52,8	$\text{C}_2\text{H}_5\text{CO}_2^{-}$	35,8

Hendricks et al<sup>(59)</sup> descreveram um procedimento de destilação a vácuo no qual a amônia era coletada em ácido bórico ou ácido sulfúrico e determinada por mudança na condutividade do ácido. Um procedimento similar, Appleton<sup>(60)</sup> destilou amônia em ácido bórico, diluiu a solução em volume conhecido, e determinou a amônia por mudança de condutividade.

Shaw e Staddon<sup>(61)</sup> usaram uma cela de difusão para transferir amônia da amostra para uma solução de ácido sulfúrico para subsequente determinação por condutividade.

Friedl<sup>(62)</sup> determinou amônia pela mudança na condutividade de um pequeno volume de ácido sulfúrico como absorvedor da amônia utilizando uma cela de difusão.

### II.3. Análise por Injeção em Fluxo

A Análise por Injeção em Fluxo apresenta-se com uma técnica alternativa ao método clássico de determinação de nitrogênio inorgânico em extratos de solos. Os fatores mais significativos que contribuem para o desenvolvimento desta técnica são a economia de reagentes e a rapidez dos resultados obtidos.

Alguns métodos de Análise por Injeção em Fluxo foram descritos na literatura para a determinação de amônio e nitrato. Com detecção espectrofotométrica, o método envolvendo azul de indofenol e o método envolvendo o reagente de Nessler podem ser empregados em sistemas de fluxo contínuo<sup>(63,64)</sup>. Krug et al<sup>(65)</sup> e Bergamin et al<sup>(66)</sup> utilizaram o sistema "zone-trapping"<sup>(\*)</sup> e a

---

(\*) "Zone trapping" termo que pode ser traduzido como aprisionamento da amostra. A amostra contendo amônia é introduzida, recebe os reagentes em um caminho curto e preenche outro segmento de tubo que a retira do fluido carregador por comutação da válvula de introdução de amostra. Este segmento contendo grande parte da zona de amostra estática é colocado dentro de um banho termostático a 38°C aguardando-se tempo suficiente para que a reação se processe. Em seguida, a amostra é reintroduzida na corrente de fluido carregador que a leva ao detector.

pré-concentração por troca iônica em combinação com a reação de Berthelot e Nessler, respectivamente. O limite de detecção para determinação de íons amônio por injeção em fluxo com o reagente de Nessler é cerca de  $10^{-4} - 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  (64). Níveis menores são obtidos por procedimentos de pré-concentração com troca iônica (66) ou destilação isotérmica (67). Experimentos iniciais com o azul de indofenol confirmaram a maior sensibilidade no método, mas a formação do produto de cor azul não é favorável para aplicações em A.I.F. (65).

A espectrofotometria com indicador ácido-base tem sido frequentemente aplicada na determinação de amônio após a difusão de amônia por uma membrana de PTFE (politetrafluoroetileno) (68, 69). Para a determinação de traços de  $\text{NH}_4^+$ , a escolha do indicador e a composição da corrente receptora são parâmetros importantes. Embora maior sensibilidade seja obtida com vazões menores do fluido, nestas condições a linha base é instável, a frequência de amostragem é baixa e pouca reprodutibilidade é observada. O maior problema na detecção espectrofotométrica com indicador ácido-base é a interferência de  $\text{CO}_2$ . Se presente na solução aceptora, o  $\text{CO}_2$  tem o efeito tamponante, reduzindo a sensibilidade.

Algumas técnicas eletroquímicas podem ser utilizadas para a determinação de amônio em sistemas de fluxo contínuo. Em função da seletividade, da sensibilidade e da linearidade de resposta em grande faixa de concentração os detectores eletroquímicos são de grande utilidade em sistemas hidrodinâmicos. Valcarcel e Luque de Castro (70) estudaram o comportamento destes detectores em sistemas de injeção em fluxo e comprovaram a grande aplicação para a detecção em A.I.F..

A detecção condutométrica com seu desempenho relativa-

mente simples contribui muito para a utilização da técnica em sistemas de fluxo contínuo. Em estudos mais recentes, Carlson et al<sup>(5)</sup> utilizaram a detecção condutométrica para a determinação de amônio e nitrato em extratos de solos por difusão gasosa e nomearam o método de difusão-condutividade por D.C.M..

A associação da condutometria com a técnica A.I.F. deu lugar a um novo método de injeção em fluxo. O conceito de difusão gasosa tem sido usado em análise em fluxo contínuo e pode ser aplicado para determinação em injeção em fluxo de vários compostos.

A determinação de amônio em fluxo contínuo por difusão gasosa é freqüentemente aplicada para determinação deste íon em fluidos biológicos e amostras ambientais<sup>(71)</sup>. O mecanismo de separação do íon amônio através de membrana de PTFE (politetrafluoretileno) é similar ao eletrodo convencional sensível a amônia, isto é, o íon amônio em amostras injetadas na solução alcalina doadora é convertido a amônia volátil, a qual permeia através da membrana hidrofóbica, sendo absorvida na solução aceptora. Portanto, o processo pode ser dividido em três passos:

- 1) Conversão do íon amônio em amônia e sua difusão para a superfície da membrana na solução doadora;
- 2) Partição da amônia da solução doadora/interface membrana, difusão na membrana e partição membrana/interface da solução aceptora; e
- 3) Difusão da amônia e reação com a solução aceptora.

O processo pode ser esquematizado a seguir:

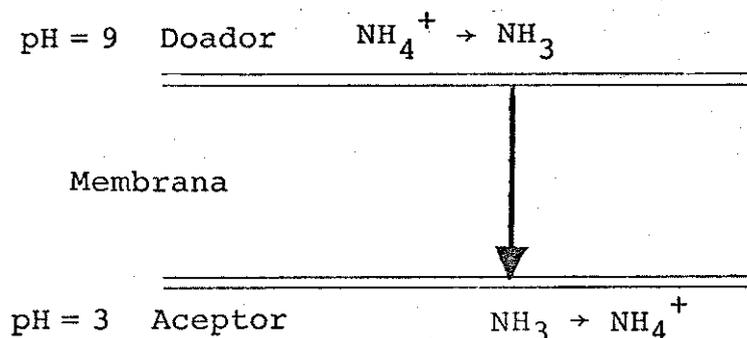


Figura II.2. Membrana de difusão gasosa onde somente moléculas gasosas são difundidas para uma solução acceptora.

Na permeação de amônia da solução doadora para a solução acceptora, a quantidade de amônia transferida pode variar com o pH da solução acceptora, podendo, portanto, alterar a sensibilidade do método. O uso da solução acceptora em pH mais alto não é recomendável quando medidas mais sensíveis forem desejáveis.

Um fator crítico para o bom funcionamento deste sistema de fluxo é a característica da membrana de difusão. Alegret et al<sup>(72)</sup> estudaram o efeito da amostra de água de rio em vários tipos de membranas. No tipo comercial muito utilizado, PTFE, é observada a influência de diferentes pressões exercidas pelas duas soluções na unidade de difusão. As membranas de PTFE - Millipore fornecem alta transferência de gás, mas não são suficientemente hidrofóbicas. Membranas de PVDF (difluoropolivinilideno) - Millipore, também fornecem alta transferência de gás, são fisicamente mais resistentes e não são afetadas pelas duas soluções que fluem em ambos os lados da membrana.

Embora vários sistemas de fluxo tenham sido propostos

por diferentes grupos de pesquisadores e em diferentes condições experimentais, a difusão gasosa em sistemas em fluxo ainda não é bem estabelecida. Em particular, a unidade de difusão gasosa varia de acordo com as dimensões geométricas da cela de difusão e com os diferentes tipos de membranas.

Van der Linden<sup>(73)</sup> desenvolveu um modelo para obter uma expressão matemática para processos de transporte de gás através de membrana. Embora matematicamente consistente, o modelo "tanque em séries" tem valores limitados para a otimização de parâmetros que afetam a transferência de gás. O modelo não explica a geometria da unidade de difusão gasosa e considera as vazões iguais nas linhas acceptora e doadora, as quais usualmente não são obtidas.

Schulze et al<sup>(74)</sup> propõem um modelo simples para o transporte de gás através de membrana de PTFE. O módulo de difusão utilizado neste modelo é descrito na literatura<sup>(73)</sup>. O modelo simples de difusão de Schulze considera os parâmetros operacionais que afetam a concentração de amônio na linha acceptora da cela de permeação. Assim, o fluxo difusivo ( $J$ ) do componente de interesse pode ser derivado da Lei de Fick de acordo com a equação:

$$J = k \cdot D \cdot \left(\frac{A}{L}\right) \Delta_c \quad (\text{Equação 1})$$

onde  $A$  é a área de contato entre a corrente doadora e acceptora,  $L$  é a espessura da membrana,  $D$  é o coeficiente de difusão da amônia no ar,  $\Delta_c$  é o gradiente de concentração e  $k$  a constante de massa incluindo o transporte de gás na fase aquosa, e partição da amônia entre a fase aquosa e gasosa. O significado real de  $k$  mostra que os parâmetros experimentais, assim como as propriedades físico-químicas do gás influenciam na sua magnitude. O coefi

ciente de difusão na fase aquosa é dependente da temperatura. A volatilidade do gás depende de sua solubilidade e pressão parcial, os quais são influenciados pela temperatura, pressão e força iônica. Pequenos valores de  $k$  significam que a taxa de transferência será limitada pela taxa de transporte do componente analítico no limite gás-líquido e pela volatilidade do gás. Conseqüentemente, para altos valores de  $k$  a transferência do gás torna-se limitada.

Na maioria dos casos práticos, o gás difundido através da membrana é considerado como espécie iônica, isto é, amônio por difusão da amônia, de modo que a concentração do componente gasoso na linha acceptora pode ser considerada zero. O fluxo de difusão para os dados experimentais (isto é, a cela de permeação e as condições experimentais) depende somente da concentração do componente gasoso na linha acceptora, sendo que este valor diminui durante o transporte da amostra através da cela. O principal parâmetro que governa o grau de decréscimo é o tempo de residência das moléculas (da espécie analítica) no canal da corrente doadora da cela de permeação. A transferência de massa ( $m$ ) através da membrana é dada pela equação:

$$m = J \cdot t \quad (\text{equação } 2)$$

onde,  $t$  é o tempo de residência da amostra na cela de permeação.

De acordo com a aplicação, dois extremos podem ser considerados. A alta vazão do fluxo da corrente doadora, a qual é equivalente a um curto tempo de residência. O fluxo de difusão total é alto e a eficiência de transferência de amônia (isto é, o decréscimo de amônia na linha doadora) é baixo. Em sistemas A.I.F., onde o volume da amostra é pequeno, a velocidade de flu-

xo suficientemente baixa da corrente doadora é favorável e deve garantir alta eficiência de transferência. Isto é válido para de terminações de traços, porque neste caso as massas absolutas são pequenas. A baixa velocidade de fluxo da corrente doadora, no en tanto, diminui a velocidade analítica. Considerando a equação 1, para certa eficiência de transferência, a maior velocidade de flu xo é possível se a maior área de contato for utilizada. Como é observado para a transferência de massa, deve-se encontrar um compromisso entre a vazão, o volume de injeção e a frequência de amostragem. Desta maneira, somente os parâmetros que afetam a transferência de gás serão discutidos; a detecção, no entanto, terá lugar na linha acceptora. Obviamente, a concentração do componente depende da transferência de massa e do volume do recipiente, isto é, do fluxo da corrente acceptora na cela durante o transporte da amostra que difunde através da membrana. Se a amos tra é continuamente bombeada, um fluxo contínuo e constante induz a concentração constante da espécie analítica na linha acep tora.

Esta concentração ( $C_R$ ) é dada por  $C_R = \frac{J}{v_a}$ , onde  $v_a$  é a vazão do fluido acceptor. Como  $J$  aumenta com o aumento da vazão do fluido doador por dada unidade de difusão gasosa, então, a concentração máxima da espécie analítica pode ser obtida pela al ta razão  $v_o/v_a$ . A situação torna-se mais complicada sobre condições de injeção em fluxo. Primeiro, a influência da vazão do flu xo doador no processo de difusão e transporte de massa são obtidos na prática. Segundo, a amostra injetada sofre dispersão antes de entrar na cela de difusão. No entanto, o fluxo de difusão não pode ser considerado constante por um período de tempo. A concentração na corrente receptora, a área e a altura, a qual

depende da massa transferida e da vazão do fluxo acceptor, respectivamente. Como a altura de pico é frequentemente usada como medida em A.I.F., a baixa vazão do fluxo acceptor é conveniente. A limitação na escolha de menor vazão na corrente acceptora é a velocidade de amostragem obtida. Adicionalmente, existe uma região transitória para maiores volumes de amostra onde considerações a respeito do estado estacionário podem ser aplicados. O efeito da vazão do fluxo doador e acceptor no sinal do detector são avaliados. Pequena influência da vazão do fluxo doador é observado em situações de fluxo contínuo com grande volume de amostra. À primeira vista, isto opõe às predições teóricas. No entanto, como mencionado por Van der Linder este comportamento pode ser explicado pela baixa volatilidade da amônia. Um aumento significativo da sensibilidade é encontrada por decréscimo da vazão do fluxo acceptor. Como foi mencionado, a eficiência de transferência é também influenciada pela solubilidade de componente gasoso. Em estudos anteriores, Van der Linden<sup>(73)</sup> observou que altas temperaturas, assim como, o aumento da força iônica na linha doadora aumenta a sensibilidade. O efeito da temperatura é pequeno<sup>(75)</sup>; o sinal é duplicado quando a temperatura é aumentada de 20°C para 80°C. A força iônica é outro parâmetro importante como é explicado a alta transferência observada nos trabalhos de Willason e Johnson<sup>(69)</sup>.

## CAPÍTULO III

### PARTE EXPERIMENTAL

#### III.1. Detector Condutométrico de Fluxo

##### - A cela de fluxo

Uma descrição detalhada da cela de condutividade de fluxo é mostrada na Figura III.1. Ela consiste de dois blocos cilíndricos de aço inox 316 (A, B) com diâmetro de 50 mm e espessura de 10 mm. Um dos blocos (A) é o corpo de um eletrodo no qual existe um sistema para a entrada e a saída do fluido. O outro eletrodo (C), é um disco fino (diâmetro = 27 mm e espessura = 1 mm) de aço inox 316 colocado entre dois anéis de PTFE (D, E) usados como espaçadores. Um dos espaçadores (D) determina a geometria, a área ativa dos eletrodos e o volume da cela. O contacto elétrico externo do eletrodo na forma de disco é feito através de um pedaço de latão inserido no bloco de aço inox isolado com uma camisa de nylon (ver Figura III.1). Outro espaçador (E) é usado entre o bloco contendo o conjunto aço inox/latão/nylon e o eletrodo na forma de disco com a finalidade de isolar o contacto elétrico no caso de ser preciso imergir a cela em um banho termostático. Todo sistema é montado sob pressão por quatro parafusos tipo Allen e as conexões elétricas com o condutivímetro são realizadas através dos dois pinos tipo "bananas".

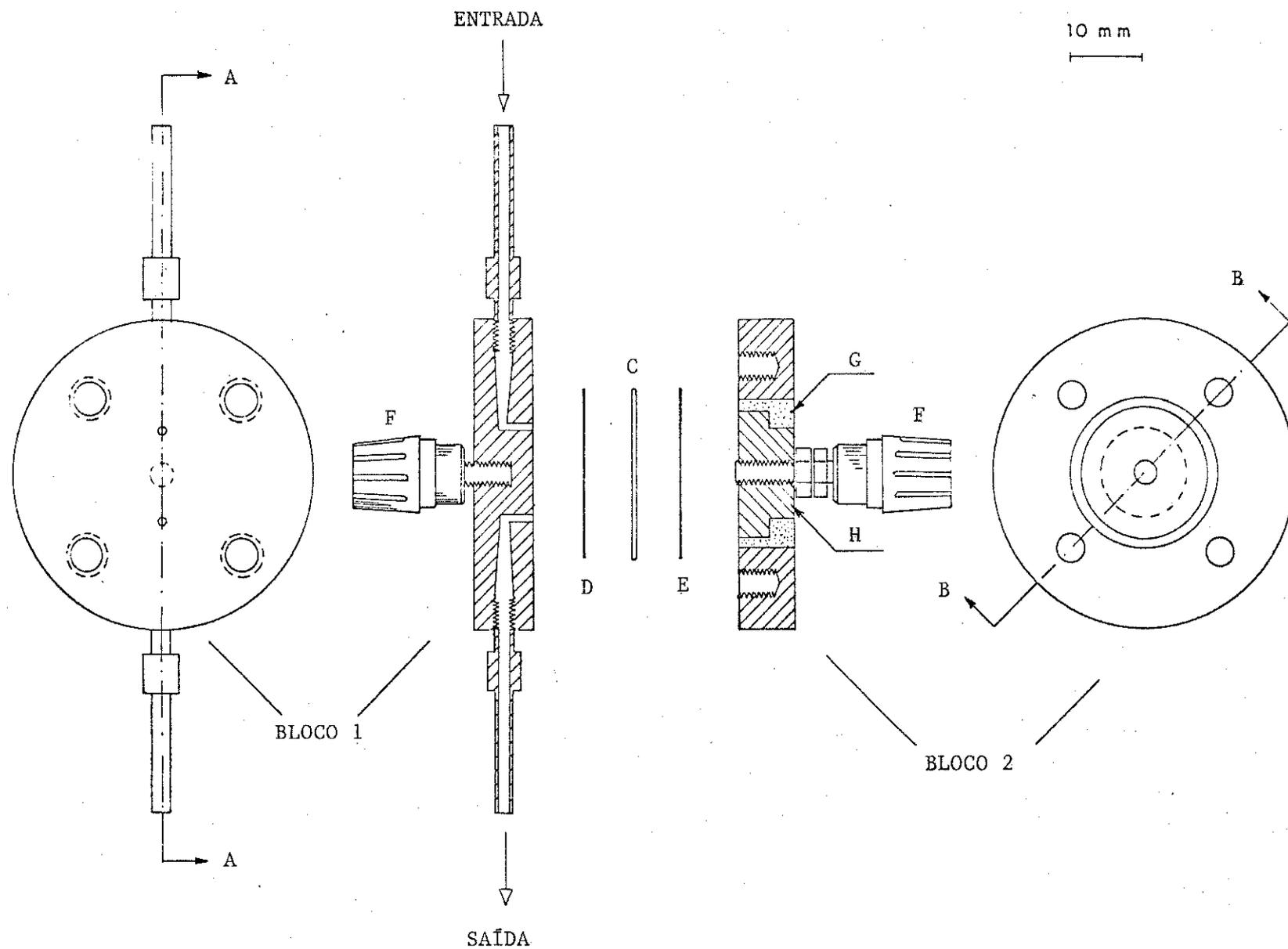


Figura III.1 - Cella de fluxo para medida de condutância. A=corpo e um dos eletrodos de aço inoxidável; B=outro corpo da cela; C=bloco de aço inoxidável - outro eletrodo; D, E=espaçadores de PTFE; F=pinos tipo "bananas"; G = bucha de nylon; H= luva de latão.

### - Condições experimentais

As características dinâmicas da cela de fluxo foram avaliadas usando um sistema A.I.F. em linha única, esquematizado na Figura III.2. Como válvula de injeção utilizou-se um injetor proporcional<sup>(66)</sup>. Tubos de polietileno (d.i. = 0,8 mm) de comprimentos variáveis foram usados como amostradores, linhas de transmissão e bobinas. Todas as soluções e carregadores foram bombeados por uma bomba peristáltica Micronal B-332 e tubos de tygon (Technicon) para o bombeamento. Os experimentos com controle de temperatura com precisão de  $\pm 0,10^{\circ}\text{C}$  foram executados com um banho termostaticado utilizando um controlador de temperatura modelo Robershaw 50 TR. As soluções de KCl (Nuclear - PA) usadas nos testes foram preparadas com reagente de grau analítico e com água recentemente deionizada.

### - Estudo das variáveis

Foi efetuado um estudo exaustivo das possíveis variáveis que poderiam afetar o desempenho do detector, tomando como resposta o aumento do sinal analítico. As principais variáveis testadas foram a vazão do carregador (água deionizada), o volume da cela de condutividade e o volume injetado do eletrólito (KCl).

A constante da cela nas condições dinâmicas do sistema A.I.F. foi determinada em  $0,182 \text{ m}^{-1}$ . Este valor foi determinado utilizando o volume de cela de  $200 \mu\text{L}$ , sob bombeamento contínuo de uma solução  $0,01 \text{ M}$  de KCl, na vazão de  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ . As medidas de condutância foram efetuadas com os picos no "steady state", operando o sistema A.I.F. na condição de volume infinito. O valor da condutância específica para a solução de KCl  $0,01 \text{ M}$  a  $25^{\circ}\text{C}$  utilizada para o cálculo da constante da cela é dado na Tabela III.1.

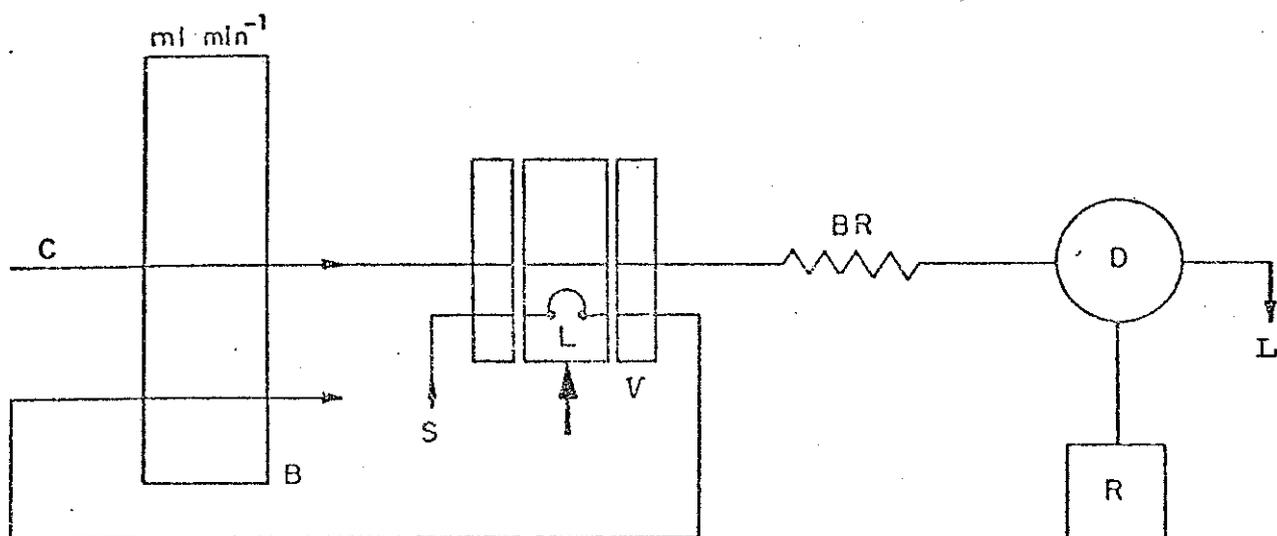


Figura III.2 - Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (A.I.F.) em linha única. B, bomba peristáltica. V, válvula de introdução da amostra. BR, bobina de reação. D, cela de condutância. R, registrador. L, lixo. C, vazão do carregador de água deionizada. S, entrada de amostra.

Tabela III.1. Condutâncias específicas ( $L_s$ ) de soluções de KCl  
( $\text{ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) (76)

Concentração ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Concentração ( $\text{g}_{\text{KCl}}/\text{Kg}_{\text{H}_2\text{O}}$ )	Concentração ( $\text{g}_{\text{KCl}}/\text{Kg}_{\text{SG}}$ )	$L_s$ ( $\text{ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )		
			0°C	18°C	25°C
0,01	0,74625	0,74526	0,00077364	0,0012205	0,0014088
0,10	7,4790	7,4191	0,0071379	0,011167	0,012856
1,00	76,628	71,135	0,065176	0,097838	0,11134

### III.2. Desenvolvimento da Metodologia Analítica

#### III.2.1. Instrumentação

O sistema analítico de injeção em fluxo é constituído de uma bomba peristáltica modelo B-332 Micronal com 6 canais. As soluções foram impulsionadas utilizando tubos de tygon (Technicon) para o bombeamento. A unidade de comutação<sup>(66)</sup> para a introdução das amostras é um injetor proporcional feito de acrílico, consistindo de duas placas externas fixas e uma placa central móvel, acopladas por meio de dois parafusos com molas. Tiras de borracha de silicone são colocadas entre as placas para evitar vazamentos. Tubos de polietileno de 1,0 mm de diâmetro interno foram usados para a construção do sistema de fluxo. Como unidade de detecção foi utilizado um condutivímetro Micronal modelo B-330, acoplado à cela de fluxo anteriormente descrita operando com um volume de 200  $\mu\text{L}$ . Os picos transientes foram registrados por um

registrador potenciométrico, ECB-RE 101. A cela de difusão, mostrada na Figura III.3, é feita de duas peças de acrílico vedadas por seis parafusos. Esta cela, anteriormente descrita na literatura<sup>(73)</sup>, apresenta uma ranhura de 1 mm de profundidade, 4 mm de largura e 100 mm de comprimento.

Para a determinação de amônio e nitrato/nitrito em extratos de solos, pelo método clássico de destilação por arraste a vapor, foi utilizado o sistema de destilação esquematizado na Figura II.1., e as titulações foram realizadas utilizando microbureta automática Methrom modelo Multi-Dosimat E-415. O sistema de destilação-titulação foi gentilmente cedido pela Secção de Fertilidade de Solo e Nutrição de Plantas do Instituto Agrônomico de Campinas (IAC).

### III.2.2. Sistema de Injeção em Fluxo

A configuração final do sistema A.I.F., empregado na determinação de amônio e nitrato/nitrito em amostras reais, está representada na Figura III.4.

De acordo com este esquema, o sistema A.I.F. para determinação de amônio consiste de uma corrente de fluido receptora que pode ser água deionizada ou solução diluída de ácido bórico, a qual flui através da cela de difusão para o sistema de detecção. A corrente doadora é constituída de água deionizada, que passa através de uma pequena coluna contendo óxido de magnésio. Esta coluna foi construída em vidro pyrex, tendo o comprimento de 50 mm e o diâmetro interno de 2 mm. As duas correntes de fluxo entram na cela de difusão com a vazão de  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ . Através

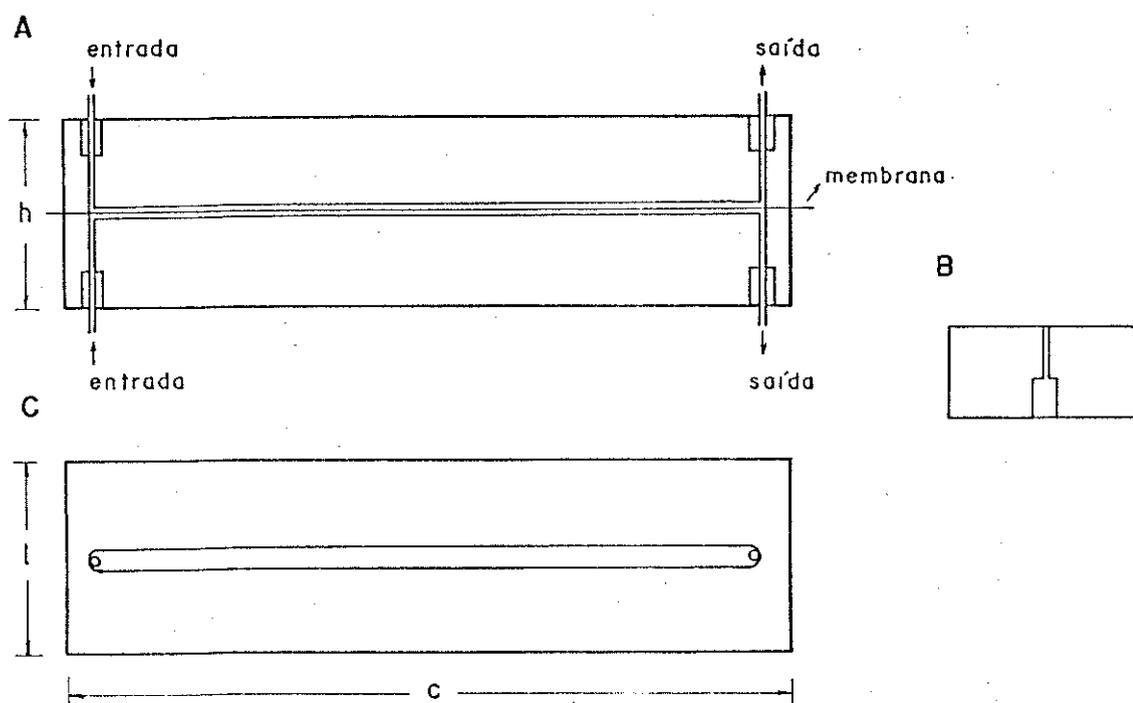


Figura III.3. Cella de difusão<sup>(73)</sup>. A, corte longitudinal. B, corte lateral de uma das partes. C, vista superior. Dimensões da ranhura: comprimento = 100 mm, profundidade = 1 mm e largura = 4 mm. Dimensões externas:  $h = 2$  cm,  $c = 13$  cm e  $l = 3$  cm. O desenho não está em escala.

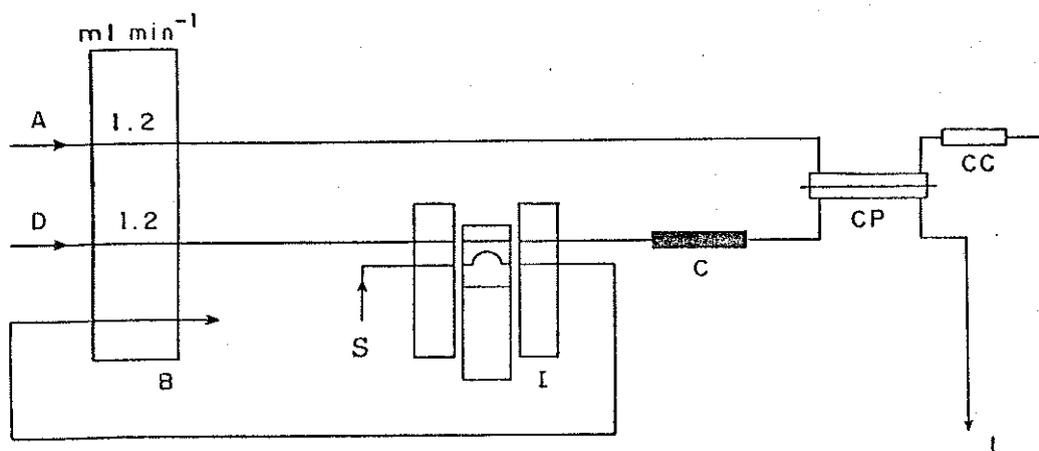


Figura III.4. Sistema de Análise por Injeção em Fluxo para determinação de amônio e nitrato/nitrito. B, bomba peristáltica. A, corrente receptora (água). D, corrente doadora (água para amônio e solução de NaOH 0,1 M/EDTA 0,5% para nitrato/nitrito). I, injetor proporcional. S, entrada da amostra. C, coluna de reação (MgO para amônio e Zn para nitrato/nitrito). CP, cela de permeação. CC, cela de condutância. L, lixo.

do injetor, a amostra é introduzida na linha do carregador onde ocorre a redução do íon amônio na coluna de reação (MgO). O volume da amostra introduzido foi fixado em 300  $\mu\text{L}$ . A sensibilidade foi ajustada por mudança do fundo de escala do condutivímetro ou do registrador potenciométrico.

O sistema A.I.F. para determinação de nitrato/nitrito é semelhante ao sistema A.I.F. descrito para determinação de amônio, mas neste caso, a corrente doadora foi substituída por uma solução de NaOH 0,1 M/EDTA 0,5% (m/v), a qual passa através de uma coluna de zinco metálico ativado com solução de sulfato de cobre a 5% (m/v). Esta coluna, vidro pyrex, tem um comprimento de 100 mm e um diâmetro interno de 2 mm. O volume de amostra introduzido foi fixado em 300  $\mu\text{L}$  e a sensibilidade foi ajustada por mudanças do fundo de escala do condutivímetro ou do registrador potenciométrico.

### III.2.3. Reagentes e padrões

As soluções utilizadas neste estudo foram preparadas usando água deionizada (resistividade 18,2 Mohm cm) e reagentes de grau analítico, usando balões volumétricos para o acerto dos volumes finais. Frascos de polietileno foram empregados na estocagem das soluções.

A solução-estoque de  $\text{N-NH}_4^+$  ( $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) foi preparada por dissolução de 4,7143 g de sulfato de amônio (Merck - PA) em água, seguida de diluição a um litro. As soluções-padrão de  $\text{N-NH}_4^+$ , de concentrações variáveis entre 0 e  $5,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ , foram obtidas por diluição adequada de uma solução estoque de 100,00

$\mu\text{g mL}^{-1}$   $\text{N-NH}_4^+$ , com solução de  $\text{KCl}$  1,0 M. Estas diluições foram feitas empregando-se pipetas volumétricas calibradas.

A solução-estoque de  $\text{N-NO}_3^-$  ( $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) foi preparada por dissolução de 7,2214 g de nitrato de potássio (Nuclear - PA) em água, seguida de diluição a um litro. As soluções - padrão de  $\text{N-NO}_3^-$ , de concentrações variáveis entre 0 e  $10,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ , foram obtidas por diluição adequada de uma solução estoque de  $100,00 \mu\text{g mL}^{-1}$   $\text{N-NO}_3^-$ , com solução de  $\text{KCl}$  1,0 M.

A solução de cloreto de potássio (Nuclear - PA) 1,0 M foi preparada dissolvendo-se 74,55 g de  $\text{KCl}$  em água, seguida de diluição a um litro.

As soluções 1,0 M dos ácidos clorídrico e acético foram preparadas a partir de seus respectivos ácidos concentrados (Merck - PA). A solução de ácido bórico (Art Lab - PA) 1,0 M foi preparada pesando-se 61,81 g do sólido do mesmo ácido.

As soluções de trabalho de ácido bórico  $1 \times 10^{-5}$  M, ácido clorídrico  $1 \times 10^{-5}$  M, ácido acético  $1 \times 10^{-5}$  M foram preparadas a partir de soluções estoque, por diluição adequada de soluções dos respectivos ácidos com concentração de  $1 \times 10^{-3}$  M, preparadas a partir das soluções-estoque de 1,0 M.

A solução de sulfato de cobre 5,0% (m/v) foi preparada pesando-se 5,0 g de sulfato de cobre (Merck - PA), e dissolvendo-se o sal a 100 mL de água.

Nas melhores condições experimentais, a solução de  $\text{NaOH}$  0,1 M contendo EDTA 0,5% (m/v) foi preparada pesando-se 4,0 g de  $\text{NaOH}$  (Carlo Erba - RPE) e 5,0 g de EDTA (sal dissódico - Ecibra - PA) e dissolvendo-se cada reagente separadamente, em aproximadamente 100 mL de água. Após isto, as soluções foram transferidas para um balão volumétrico de 1000 mL e o volu-

me completado até a marca.

A solução de EDTA 0,5% (m/v) usada na determinação de  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{N-NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  foi preparada dissolvendo-se 5,0 g de EDTA em 1000 mL de água.

#### III.2.4. Colunas de reação

##### - Coluna de MgO

Uma quantidade conveniente de MgO (Merck - PA) com granulção entre 60 - 80 mesh foi calcinado a 900°C por 2 horas para a eliminação de carbonato e água que possam eventualmente estar adsorvidos no óxido. Após a calcinação, o sólido foi conservado no dessecador.

A coluna de reação é um pequeno tubo de vidro (diâmetro = 2mm; comprimento = 50 mm) contendo lã de vidro nas extremidades para reter o material dentro da coluna. O MgO foi adicionado em pequenas quantidades, e para melhor compactação do material utilizou-se um pequeno vibrador (Burgess), utilizado para marcação em vidro.

##### - Coluna de Zn

Uma quantidade adequada de zinco metálico (Merck - PA) de 20 mesh foi tratado com ácido clorídrico 1,0 M, e posteriormente, lavado com água deionizada. Este material foi ativado com 5 mL de uma solução de sulfato de cobre 5,0% (m/v), adquirindo uma coloração escura. Após o tratamento, o material foi seco na estufa a 100°C e guardado para o empacotamento da coluna. O co-

bre funciona como catalisador na reação de redução do  $\text{NO}_3^-$  para  $\text{NH}_3$ .

A coluna de redução foi preparada utilizando um tubo de vidro (diâmetro = 2mm; comprimento = 100 mm) contendo lã de vidro nas extremidades. O material foi empacotado em pequenas quantidades usando o vibrador.

### III.2.5. Tratamento das amostras

#### - Extração

O procedimento para a extração de amônio e nitrato em solos foi feito como se segue. À cada amostra de 5 g de solo foram adicionados 50 mL de uma solução de KCl 1M. As misturas foram agitadas aproximadamente por 1 hora e, após a decantação, os sobrenadantes foram filtrados em funis de vidro contendo lã de vidro tratada. O tratamento da lã de vidro usada como filtro é efetuado após o seu empacotamento no funil, onde é lavada com 5 mL de solução de NaOH 1M, e posteriormente, com 20 mL de água quente. Este procedimento é necessário, pois, elimina erros de análise devido ao amônio e nitrato que possam estar adsorvidos no material de filtragem<sup>(77)</sup>.

#### - Preparação da amostra para a determinação de amônio

Adicionou-se 20 mL do extrato de solo filtrado em um balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com solução de EDTA 0,5% (m/v). Esta solução-amostra foi utilizada para as injeções no sistema A.I.F.. As soluções-padrão foram condicionadas com o mesmo tratamento realizado para as amostras.

- Preparação da amostra para determinação de nitrato/ni  
trito

Adicionaram-se 25 mL do extrato de solo filtrado em um erlenmeyer. Em seguida, adicionaram-se 10 mL da mistura NaOH 0,1 M/EDTA 0,5% (m/v). O extrato foi aquecido na chapa de aquecimento por 15 minutos a  $90 \pm 5^\circ\text{C}$  para eliminação de amônio e outros compostos orgânicos nitrogenados. A solução de EDTA foi adicionada para evitar a precipitação de metais presentes na matriz. Após o esfriamento, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL seguida por sucessivas lavagens do erlenmeyer com solução de EDTA 0,5% (m/v). O volume final foi completado com a mesma solução de EDTA. As soluções resultantes foram injetadas no sistema A.I.F.. Os padrões foram tratados nas mesmas condições que as amostras.

O diagrama final para o processamento das amostras para determinação de amônio e nitrato/nitrito pelo Sistema de Injeção em Fluxo é representado na Figura III.5.

- Determinação de amônio e nitrato/nitrito pelo método  
clássico de destilação por arraste a vapor

O procedimento clássico de rotina usado no laboratório de análise de solo do I.A.C. consiste no seguinte: adiciona-se uma alíquota de 25 mL da solução extratora no balão de destilação, e em seguida adiciona-se aproximadamente 0,3 g de MgO. O balão é acoplado ao sistema de destilação. Destila-se o extrato por um tempo aproximado de 2 minutos, recolhendo-se o destilado (cerca de 30 mL) em um bquer contendo 5 mL da mistura ácido bórico indicador (indicador mixto de verde de bromocresol e vermelho de metila). Esta mistura é utilizada para a determinação de amônio

# PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

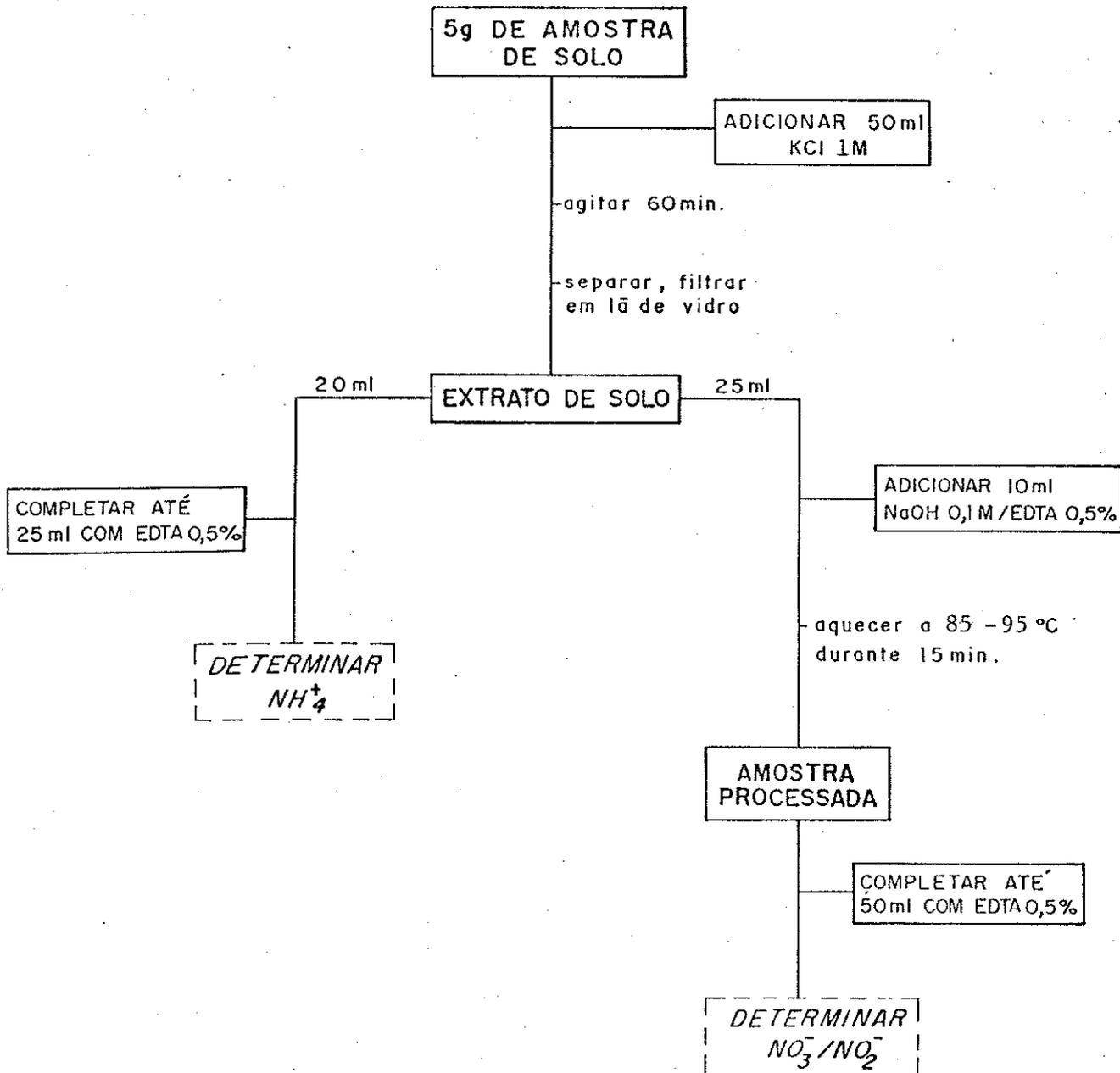


Figura III.5. Diagrama representativo para o processamento de amostras para determinação de amônio e nitrato/nitrito pelo Sistema de Injeção em Fluxo.

por titulação com ácido sulfúrico padrão  $2,59 \times 10^{-3}$  M. Adiciona-se em seguida ao balão 0,1 g de Liga de Devarda, destilando-se o mesmo extrato por um tempo aproximado de 2 minutos, recolhendo-se o destilado (cerca de 30 mL) em um béquer contendo 5 mL da mistura ácido bórico-indicador. Esta mistura é utilizada para a determinação de nitrato/nitrito por titulação com ácido sulfúrico padrão  $2,59 \times 10^{-3}$  M.

As amostras analisadas foram comparadas com a prova em branco, processada nas mesmas condições. Todas as amostras foram processadas em cinco replicatas, em diferentes seqüências de processamento. As extrações para as replicatas de cada amostra foram feitas separadamente, após a decantação, os sobrenadantes de cada extração foram misturados e homogeneizados. Este procedimento reduz a possibilidade de erro que pode ocorrer na etapa de extração.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### IV.1. Variáveis que Afetam a Resposta do Detetor

A condutividade de uma solução de um eletrólito forte é proporcional à sua concentração, porque a condutividade depende do número de íons disponíveis para transportar a corrente elétrica.

Para medidas de condutância a geometria dos eletrodos é importante. As celas para medidas estáticas de condutância são proporcionais à área ( $a$ ) e inversamente proporcionais à distância ( $d$ ) dos eletrodos. Em medidas de fluxo, a razão área/distância dos eletrodos e a variação do volume da cela podem ser usados para aumentar a sensibilidade dos detetores, o que é muito importante para técnicas como a de Análise por Injeção em Fluxo.

A variação do volume do detetor mostrado na Figura III.1. por alteração da forma, do diâmetro ou da espessura do anel de PTFE, tornou mais efetivo o uso da razão área/distância dos eletrodos, melhorando a sensibilidade em medidas em fluxo contínuo. Esta sensibilidade é altamente dependente do volume da cela, mantendo-se as condições de vazão constantes (Tabela IV.1). Como a condutância é proporcional a razão  $a/d$  dos eletrodos, era de se esperar um decréscimo no sinal analítico para volumes de cela maiores, obtidos simplesmente por variação da espessura do espaçador, mantendo-se a área ativa dos eletrodos constante. A

resposta do detetor em fluxo contínuo deve ser o resultado de vários parâmetros dinâmicos. Por exemplo, possíveis perdas de sinal causadas por efeitos de diluição da amostra dentro da cela de fluxo podem ser compensadas por um maior tempo de residência da amostra no detetor usando-se vazões menores. Isto será refletido favoravelmente na sensibilidade devido a existência do compromisso entre a velocidade de resposta do detetor e o tempo de residência da amostra.

Tabela IV.1 - Efeito da razão a/d dos eletrodos no sinal analítico. Condições-eletrólito: KCl  $1 \times 10^{-3}$  M, volume injetado: 300  $\mu$ L, vazão do carregador: 1,9 mL  $\text{min}^{-1}$ .

Volume da cela ( $\mu$ L)	Razão a/d (cm)	Sinal analítico (altura de pico - cm)
100	35	6,5
150	55	7,4
200	70	10,2

A resposta do detetor sobre várias condições de fluxo é mostrada na Figura IV.1. Estes resultados indicaram que o sinal não é muito afetado pela vazão do carregador, principalmente quando volumes maiores de cela são empregados. Por outro lado, a sensibilidade e a faixa de linearidade são afetadas por ambos, o volume de amostra injetado e o volume da cela. Como é observado, a curva de resposta tende a um valor limite quando a

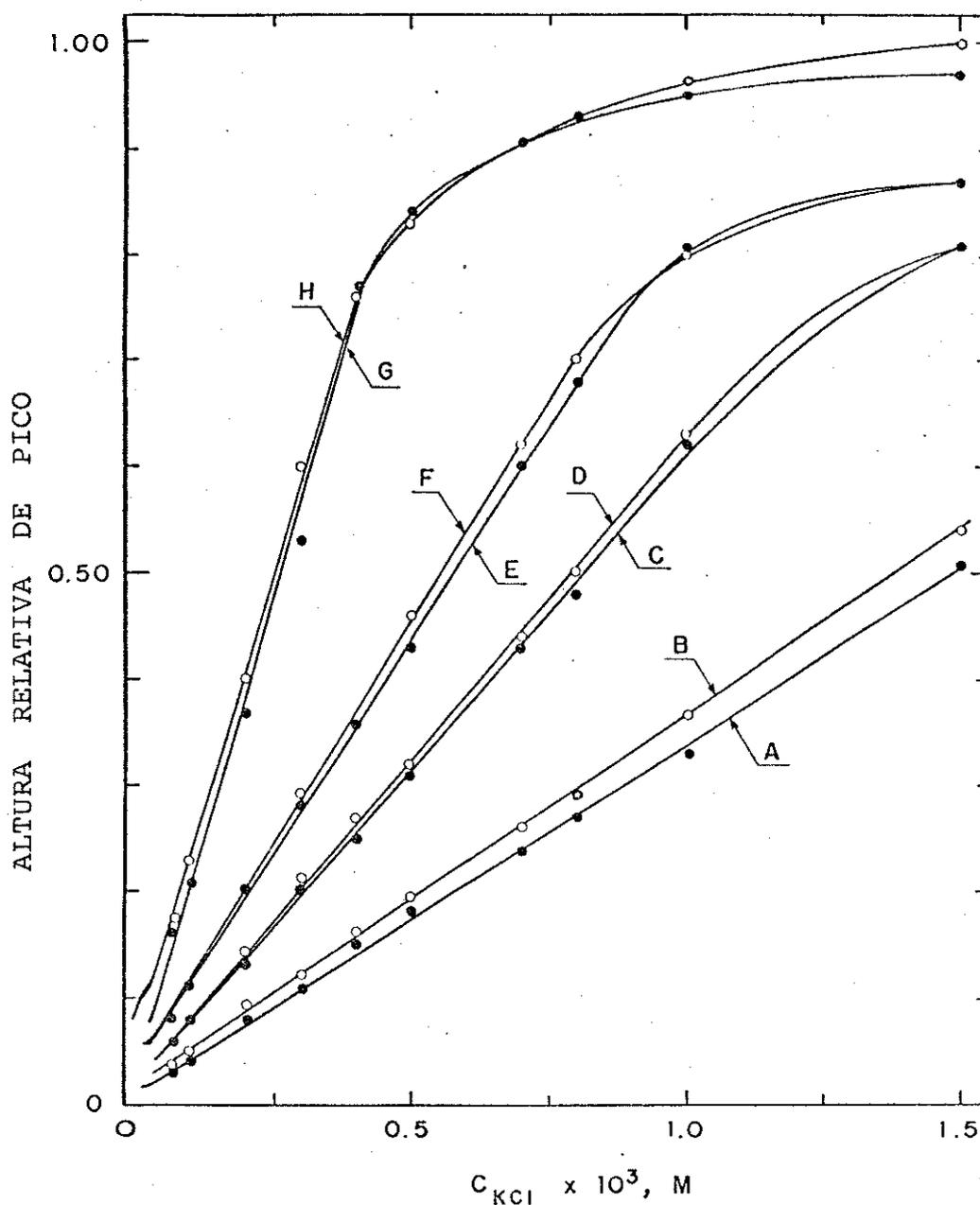


Figura IV.1 - Curvas de resposta usando soluções padrão de KCl com diferentes condições experimentais.

A - vazão do carregador:  $4,3 \text{ mLmin}^{-1}$ ; volume da célula:  $100 \text{ }\mu\text{L}$ ; volume do eletrólito injetado:  $150 \text{ }\mu\text{L}$ .

B -  $1,9 \text{ mLmin}^{-1}$ ;  $100 \text{ }\mu\text{L}$ ;  $150 \text{ }\mu\text{L}$ .

C -  $4,3 \text{ mLmin}^{-1}$ ;  $100 \text{ }\mu\text{L}$ ;  $300 \text{ }\mu\text{L}$ .

D -  $1,9 \text{ mLmin}^{-1}$ ;  $100 \text{ }\mu\text{L}$ ;  $300 \text{ }\mu\text{L}$ .

E -  $4,3 \text{ mLmin}^{-1}$ ;  $100 \text{ }\mu\text{L}$ ;  $500 \text{ }\mu\text{L}$ .

F -  $1,9 \text{ mLmin}^{-1}$ ;  $100 \text{ }\mu\text{L}$ ;  $500 \text{ }\mu\text{L}$ .

G -  $1,9 \text{ mLmin}^{-1}$ ;  $150 \text{ }\mu\text{L}$ ;  $500 \text{ }\mu\text{L}$ .

H -  $4,3 \text{ mLmin}^{-1}$ ;  $150 \text{ }\mu\text{L}$ ;  $500 \text{ }\mu\text{L}$ .

concentração de KCl é aumentada. O desvio da linearidade, que é mais acentuado para volumes de cela maiores e maiores concentrações de KCl, tende a uma situação de estado estacionário. Este comportamento se deve às características cinéticas da resposta do detector. Para baixas concentrações, os íons comportam-se independentemente, mas para concentrações acima de  $10^{-6}$  M a força iônica é importante e o íon fica associado, diminuindo a condutância de proporcionalidade (78).

Segundo a teoria de Debye-Hückel-Onsager as soluções diluídas de eletrólitos fortes estariam completamente dissociadas. Em repouso e sem uma diferença de potencial aplicada entre os eletrodos, cada íon estaria rodeado por uma "atmosfera" simétrica de íons de carga oposta. Quando uma diferença de potencial é aplicada ao sistema, os íons iniciam suas migrações para os eletrodos. De acordo com a teoria, existem duas causas identificáveis, às quais se podem atribuir o retardamento da migração dos íons para os eletrodos. A primeira delas é o denominado efeito eletrofóretico e tem sua origem no fato de que o íon considerado deve mover-se contra uma corrente de íons de carga oposta que se encaminham ao outro eletrodo. Tais íons transportam um grande número de moléculas de água (solvente) e a fricção entre estes íons solvatados retarda sua migração. Quanto mais elevada for a concentração do eletrólito, maior será a aproximação entre os íons e mais pronunciado será este efeito.

A segunda, efeito assimétrico (distensão), é o resultado da quebra da simetria da "atmosfera" dos íons com carga oposta em torno do íon em questão. Assim que o íon inicia sua migração para o respectivo eletrodo, ele se afasta do centro da esfera de sua atmosfera iônica, deixando para trás mais íons pertencentes

centes à esfera original. Ao menos, por um momento, desenvolver-se-a uma distribuição assimétrica de cargas e aqueles íons deixados para trás atrairão eletrostaticamente o íon considerado. Como esta força é exercida na direção oposta ao movimento, a migração do íon é retardada. Este efeito é tanto mais pronunciado quanto maior for a concentração da solução. Em condições de fluxo, o tempo de distensão, isto é, o tempo decorrido para que os íons retomem seu arranjo simétrico é uma função dos parâmetros de fluxo da solução. O fluxo contínuo reduz a concentração da espécie no eletrodo (polarização) e as variações de condutividade em função da concentração podem ser atribuídas à variação de forças interiônicas, como foi delineado acima.

Como é mostrado na Figura IV.1, um aumento do sinal pode ser observado aumentando-se o volume da amostra, a concentração do eletrólito e o volume da cela. Para volumes de cela menores (100  $\mu$ L) a amplitude da curva de resposta é independente da concentração da amostra, mas nota-se um aumento pronunciado desta amplitude com o aumento de concentração, quando celas de maiores volumes são usadas. Este fato pode ser explicado considerando-se os fatores que predominam no controle da dispersão em fluxo contínuo. A importância da dispersão por convecção aumenta com o aumento do volume da cela, o que seria de se esperar. A razão é a formação de turbulência para volumes de cela maiores, de modo que o sistema obedeceria ao modelo desenvolvido por Pungor et al para explicar o comportamento das câmaras de misturas<sup>(79)</sup>. Por outro lado, a dispersão por difusão torna-se mais importante em celas de volumes menores. O sistema A.I.F. com alta dispersão (fluxo turbulento) origina um gradiente de concentração bem definido. Como o tempo de residência é elevado, o equilíbrio pode ser

alcançado. Portanto, para volumes maiores de ceta pode-se esperar que a amplitude do sinal seja dependente da concentração da espécie analítica no detetor.

O detetor condutométrico proposto apresentou-se versátil, simples e de baixo custo. A sua massa relativamente grande o torna menos sensível a variações da temperatura ambiente, sendo uma grande vantagem, uma vez que as medidas de condutância são altamente dependentes da temperatura. Notou-se que a temperatura não é um parâmetro crítico na faixa de 25 a 30°C, como mostra a Figura IV.2. De fato, é desnecessário o uso de banho termostático ou de isolamento térmico para sua operação em condições de rotina, bastando que a temperatura ambiente seja controlada com um condicionador de ar. Os picos A.I.F. obtidos nestas condições são mostrados na Figura IV.3. Os desvios padrão relativos de 10 medidas sucessivas, obtidos com injeções de 500 µL de solução de KCl  $2 \times 10^{-4}$  M, foram menores que 1%, refletindo a boa precisão das medidas.

#### IV.2. Metodologia Analítica

O procedimento mais comum para a determinação de nitrogênio total em extratos de solos pelo método difusão-condutividade é o que utiliza NaOH como reagente alcalino para gerar  $\text{NH}_3$ . Como os reagentes empregados para gerar amônia no processo de análise podem também interagir com outros compostos orgânicos nitrogenados eventualmente presentes nos extratos de solos, foi oportuno rever o emprego desta metodologia analítica. Como outros trabalhos comprovaram que o uso de NaOH fornece resultados menos

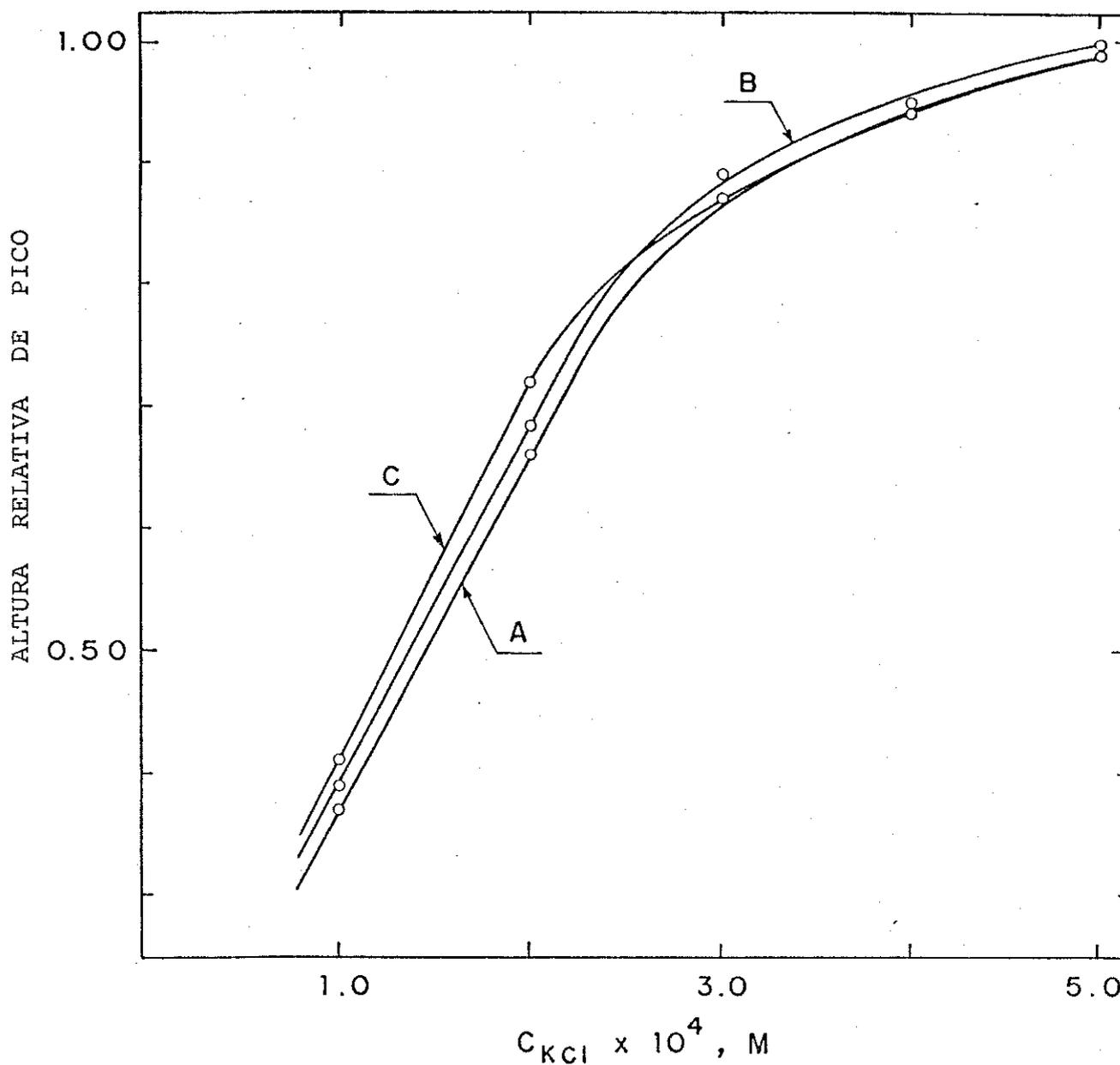


Figura IV.2 - Curvas de resposta para a operação do detetor usando sistema A.I.F. em linha única e banho termostatzado em diferentes temperaturas.

A = 25,0°C;

B = 27,0°C;

C = 30,0°C.

Condições experimentais: volume injetado = 300  $\mu$ L;

Volume da cela = 100  $\mu$ L; vâção do carregador = 1,9 mLmin<sup>-1</sup>

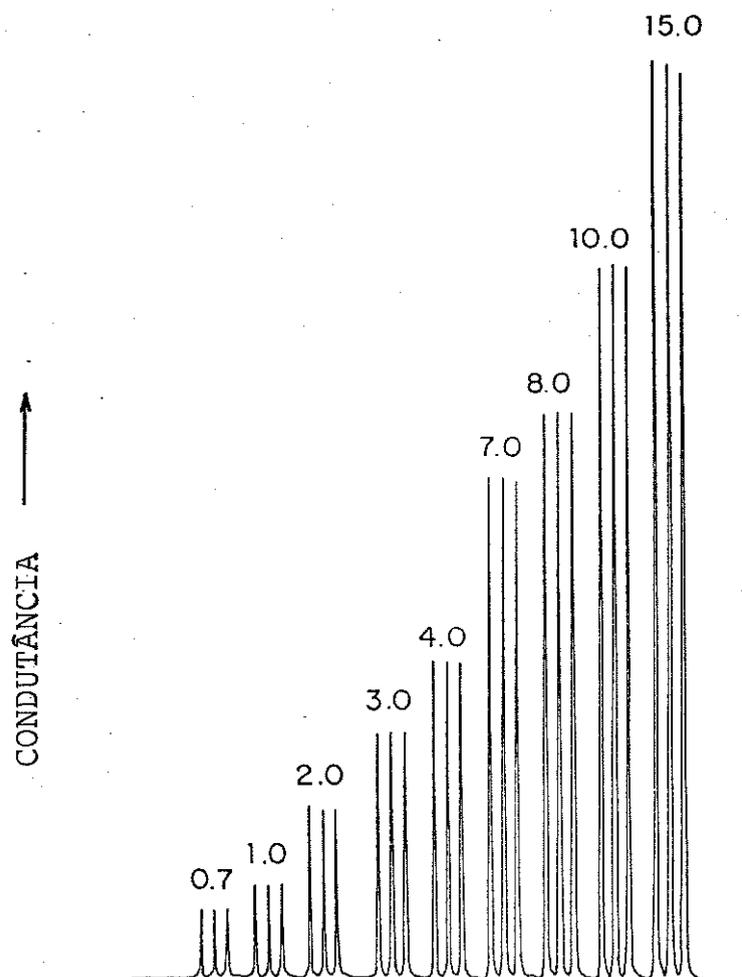


Figura IV.3 - Sinais transientes de calibração usando do soluções padrão de KCl com concentrações entre  $0,7 \times 10^{-4}$  M e  $15,0 \times 10^{-4}$  M.

exatos para as análises<sup>(21)</sup>, direcionou-se inicialmente os estudos para a verificação do uso de MgO como reagente alcalino, ao invés da solução de NaOH. Os primeiros resultados mostraram que a reação com MgO é favorecida pelo aumento de temperatura. No entanto, o uso de banho termostaticado pode ser um fator complicador em procedimentos de rotina envolvendo análise em fluxo. Neste caso, observou-se a formação de bolhas na coluna de reação e as junções e os tubos de transporte de solução não se mostraram de uso confiável em temperaturas mais altas. Além disso, era necessário um maior percurso da amostra, após a sua saída do banho termostaticado, até o sistema de detecção, a fim de que a sua temperatura se estabilizasse antes da leitura da condutância.

Neste caso, a alternativa mais simples e viável foi a de operar todo o sistema na temperatura ambiente (com ar condicionado) e otimizar o sistema A.I.F. nestas condições experimentais. Na Figura IV.4 apresentam-se os resultados comparativos do método utilizando NaOH e MgO, nas condições experimentais utilizadas para o método que emprega NaOH como carregador<sup>(6)</sup>. Nestas condições, os resultados indicaram maior eficiência na reação com o uso de NaOH, como era esperado.

Vários experimentos foram realizados com a finalidade de se encontrar as condições mais favoráveis para o sistema A.I.F.. Os resultados foram avaliados, considerando-se os parâmetros que influenciam a sensibilidade, a frequência de injeção e a reprodutibilidade do sinal. O sistema de fluxo para a determinação de amônio e nitrato foi montado segundo o esquema apresentado na Figura III.4 (p. 42). Para a determinação de amônio usou-se uma coluna de vidro contendo MgO e para a determinação de nitrato substituiu-se o óxido de magnésio por zinco metálico. A avalia-

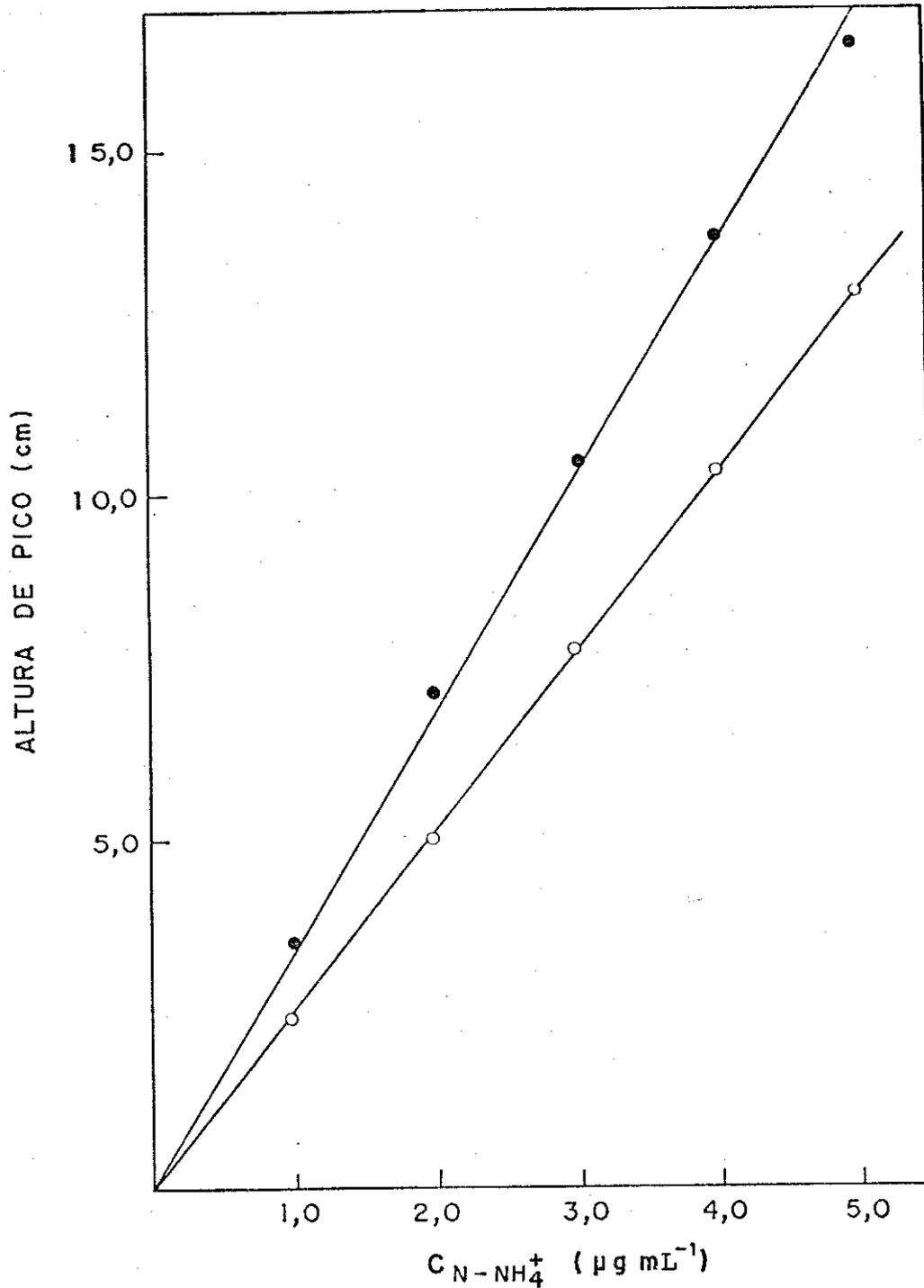


Figura IV.4 - Curvas de calibração para determinação de amônio para verificar a eficiência dos reagentes alcalinos na reação: ○ MgO; ● NaOH. Condições experimentais para o método proposto: volume injetado = 300  $\mu\text{L}$ ; vazão do carregador = 1,2  $\text{mLmin}^{-1}$ ; coluna de MgO ( $\varnothing_i = 2\text{mm}$ ;  $C = 5,0\text{ cm}$ ).

ção dos resultados foi feita considerando-se a média de pelo menos três injeções de uma mesma solução padrão. Nestes estudos, as soluções padrão simularam as amostras reais.

A Figura IV.5 mostra as curvas de calibração obtidas variando-se o volume injetado, nas condições ali descritas. A reprodutibilidade dos sinais foi a mesma em todos os casos, mas a sensibilidade alterou-se. A variação do volume injetado na linha do carregador não influencia significativamente as medidas de condutância, principalmente entre os valores de 350 e 500  $\mu\text{L}$ , como pode se verificar através dos resultados apresentados. Volumes maiores de amostra injetados resultam em aumento na sensibilidade, mas o tempo necessário para o retorno do sinal à linha base também é maior, dada a necessidade de um maior tempo de limpeza. Baseado nos resultados da Figura IV.5 escolheu-se um volume de injeção de 300  $\mu\text{L}$  para se dar continuidade a este trabalho.

A vazão do carregador foi estudada, mas optou-se por usar uma vazão máxima fixada em  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ , porque acima deste valor ocorre um aumento de pressão na linha (devido à coluna de  $\text{MgO}$ ) que causa vazamentos, principalmente nas junções da coluna de reação. Em vista disto, a vazão da corrente receptora foi fixada também em  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ , de modo a manter uma relação 1:1 entre as correntes doadora e a receptora, o que permite manter uma igualdade de pressão em ambos os lados da membrana e evitar distorções na sua superfície, o que poderia afetar a reprodutibilidade dos sinais. Os demais parâmetros, como a distância entre o injetor e a coluna de reação, a distância desta até a cela de permeação e a distância da saída da cela de permeação até o detetor foram avaliados a fim de se obter o menor coeficiente de dispersão A.I.F.. Estas distâncias foram fixadas em 5 cm, indicando

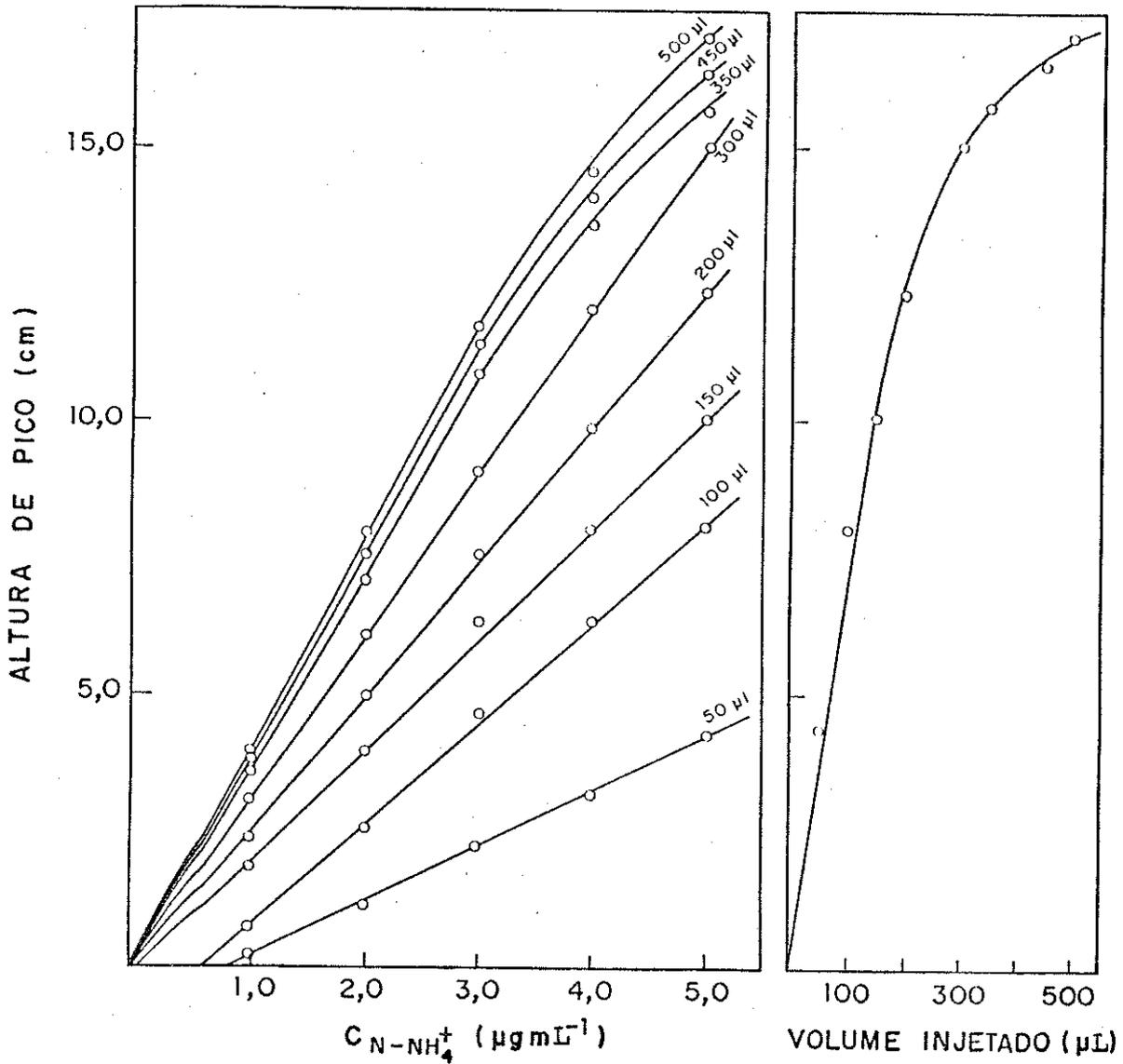


Figura IV.5 - Curvas de calibração para determinação de amônio, alterando-se o volume da amostra injetado de 50 a 500  $\mu\text{L}$ .

Condições experimentais: vazão do carregador =  $1,2 \text{ mLmin}^{-1}$ ; coluna de  $\text{MgO}$  ( $\phi_i = 2 \text{ mm}$ ;  $C = 5 \text{ cm}$ ).

que a reação do íon amônio à amônia e o equilíbrio de ionização do íon amônio é alcançado rapidamente.

A Tabela IV.2 resume os resultados obtidos utilizando-se colunas de MgO de diferentes comprimentos, mantendo-se constante o seu diâmetro interno. Nenhuma variação no sinal analítico com a quantidade do reagente foi observada, dentro da faixa estudada. Portanto, conclui-se que a conversão do íon amônio é a mesma quando se utiliza uma coluna de 1,5 ou 5,0 cm de comprimento. Para a seqüência deste trabalho optou-se pela coluna de 5,0 cm, pois, é de se esperar que a sua vida útil seja maior. Nestas condições, Tabela IV.3 mostra a estimativa do tempo de uso da coluna em relação ao número de injeções. É recomendável o tempo de 3 horas ininterruptas de trabalho com a mesma coluna, sendo que após este tempo deve ser substituída por uma nova coluna. Este fato não é problemático para o andamento das análises, pois, a coluna pode ser prontamente substituída por outra.

Um fator crítico para os sistemas A.I.F. que utilizam a difusão gasosa é o desempenho da membrana. Neste trabalho foi usado uma fita de PTFE (marca Norton) comercialmente disponível, produzida para vedação. Esta fita não é um produto com características químicas e físicas uniformes, constantes e certificadas pelo fabricante. As características deste polímero não foram investigadas porque os resultados são relativos e por terem sido observados resultados satisfatórios sistematicamente. Apenas por precaução, sugere-se a troca da membrana após aproximadamente 1000 injeções de amostra.

O procedimento mais comum usa água deionizada como absorvedor para amônia. A amônia gerada na reação e difundida através da membrana é transferida para um fluxo de água deionizada,

Tabela IV.2 - Estudo de diferentes comprimentos de coluna de MgO, mantendo-se constante o seu diâmetro interno. Condições experimentais: concentração da solução =  $5 \mu\text{g mL}^{-1}$  N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; volume injetado = 300  $\mu\text{L}$ ; vazão do carregador =  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ ;  $\phi_i = 2 \text{ mm}$ .

Tamanho da coluna (cm)	Massa de MgO (g)	Sinal analítico (*)
1,5	0,0257	14,2
3,0	0,0327	14,1
5,0	0,0721	14,0

Tabela IV.3 - Estimativa do tempo de uso da coluna de MgO. Condições experimentais: concentração da solução =  $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; volume injetado = 300  $\mu\text{L}$ ; vazão do carregador =  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ ; coluna de MgO ( $\phi_i = 2 \text{ mm}$ , C = 5,0 cm).

Tempo (hora)	Número de Injeções	Sinal Analítico (*)	Conversão de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
0	-	14,5	100%
1	80	14,5	100%
3	160	14,5	100%
5	400	13,5	93%
8	640	12,6	89%

(\*) A resposta do sinal analítico das Tabelas IV.2 e IV.3 é dada em altura de pico (cm).

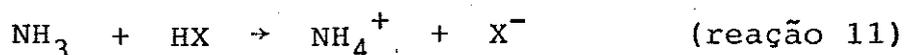
onde gera um novo equilíbrio, do qual participam os íons  $\text{NH}_4^+$ . A condutância relativa da solução resultante é então medida e a concentração de nitrogênio é obtida por comparação com soluções padrão apropriadas.

A água deionizada tem uma condutividade residual próxima de  $8 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ , medida nas condições descritas na Seção Experimental, com uma vazão de  $1,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , medida na saída da cela de condutividade. Na injeção do branco ou de padrões de amônio com baixas concentrações ( $< 0,5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) aparecem sinais negativos ou senoidais. Isto pode ser explicado devido ao equilíbrio complexo de carbonato e traços de amônio em  $\text{pH} = 7$ . Nos estudos efetuados por Schulze et al.<sup>(74)</sup>, melhores resultados foram obtidos usando-se solução aceptora ácida, a qual é livre de dióxido de carbono. Entretanto, os resultados mostraram o alto background de condutividade da solução ácida devido ao nível de ruído no sistema de detecção. Neste trabalho, esta questão foi eliminada pela versatilidade do sistema de detecção proposto.

A reação da amônia obtida pela alcalinização em linha do extrato de solo com  $\text{MgO}$  é apresentada de acordo com as reações 5 e 6 (p. 13). Quando é utilizada água como corrente aceptora, a adição de amônia diminui a concentração do íon hidrogênio favorecendo o equilíbrio para a hidrólise da amônia, de acordo com a reação:



Para a solução aceptora ácida (HX), ocorre a formação de um sal de acordo com o ácido utilizado. A reação pode ser esquematizada da seguinte maneira:



Como a condutância iônica equivalente fornece uma informação quantitativa em relação as contribuições relativas dos íons, o valor da condutância equivalente depende da concentração iônica total da solução. A Tabela II.3 (p. 26) mostra os valores de  $\lambda^{\circ}$  para alguns íons. De acordo com a condutância específica dos íons  $H^{+}$  (350) e  $NH_4^{+}$  (73), é de se esperar que ocorra um acréscimo na condutância iônica quando água deionizada é usada como corrente receptora para a absorção de amônia. Quando uma solução ácida é usada para a absorção da amônia, o comportamento é modificado. Neste caso, a resposta do sinal analítico depende da mobilidade iônica do ácido. Para ácidos fortes, como ácido clorídrico, há um decréscimo no sinal, pois íons  $H^{+}$  são trocados por  $NH_4^{+}$ , cuja mobilidade é menor. Entretanto, o decréscimo da condutividade ocorre até a neutralização do ácido. A partir deste valor observa-se um acréscimo da condutividade, devido a adição de íons  $NH_4^{+}$  na solução. A Figura IV.6 mostra as curvas de calibração obtidas utilizando diferentes concentrações molares de ácido clorídrico. Para ácidos fracos, como ácido bórico, há um acréscimo na condutividade, porém, o ácido bórico apresenta um comportamento similar ao da água. Devido a pequena constante de dissociação ( $K_1 = 6,4 \times 10^{-10}$ ) este ácido tem um comportamento quase ideal neste sistema de análise porque a sua condutividade é pequena e praticamente independe da concentração. Além disso, o  $H_3BO_3$  reteria melhor o gás gerado formando borato de amônio, o que aumenta a condutividade da solução. No entanto, apesar da sensibilidade do método ser quase a mesma daquela observada com o uso de água deionizada, pode-se divisar ainda uma outra vantagem no uso do ácido bórico em Condutometria de Fluxo.

De acordo com os resultados mostrados na Figura IV.7,

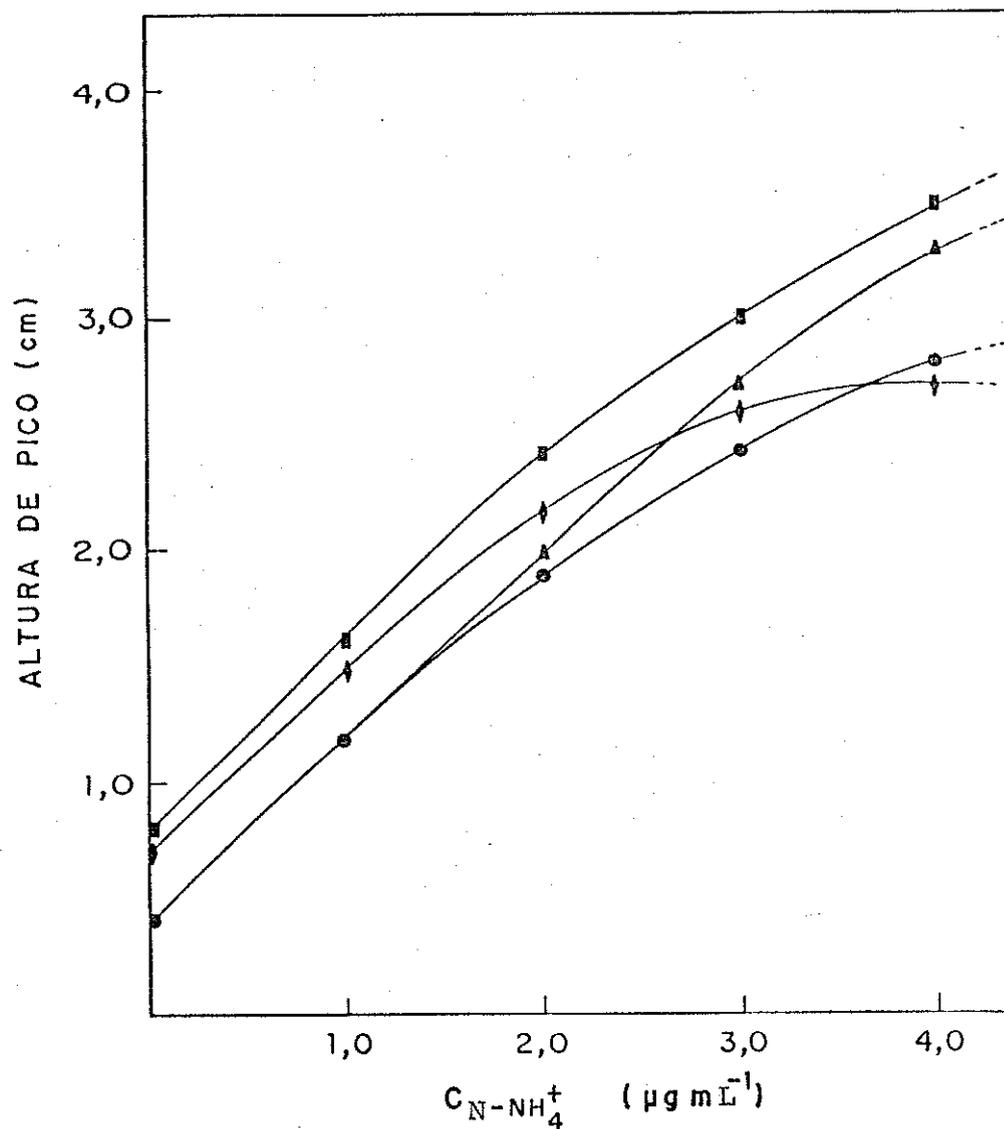


Figura IV.6 - Curvas de calibração para determinação de amônio. Variação observada alterando-se a concentração do ácido clorídrico. ● HCl  $1 \times 10^{-5}$  M; ▲ HCl  $3 \times 10^{-5}$  M; ◆ HCl  $6 \times 10^{-5}$  M; ■ HCl  $1 \times 10^{-4}$  M.

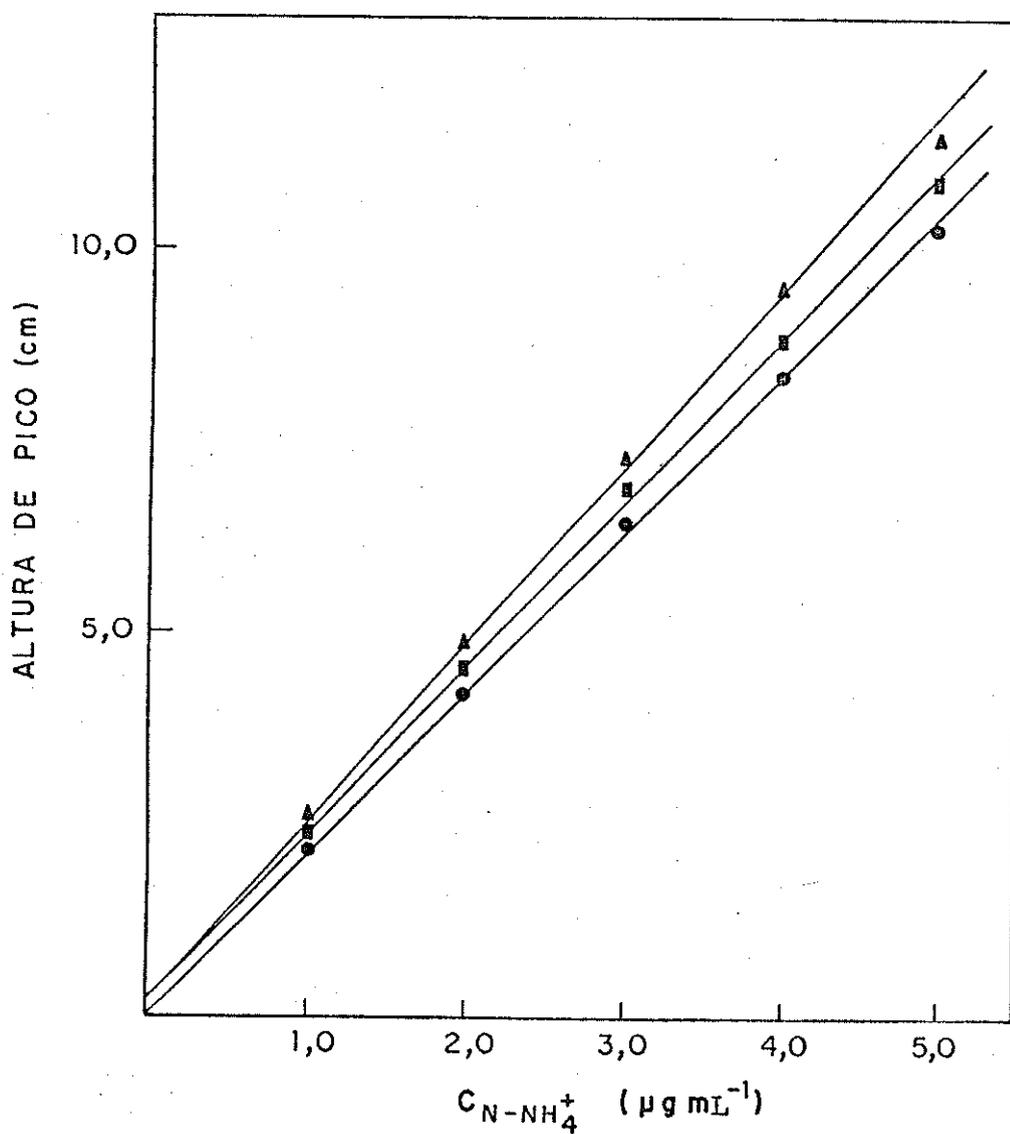


Figura IV.7 - Curvas de calibração para determinação de amônio. Resultados comparativos utilizando soluções de ácido bórico e água deionizada para a absorção de amônio

- água deionizada
- $\text{H}_3\text{BO}_3$   $5 \times 10^{-5}$  M em água deionizada
- ▲  $\text{H}_3\text{BO}_3$   $5 \times 10^{-5}$  M em água destilada

observa-se que os resultados obtidos empregando soluções de ácido bórico em água destilada (em destilador de vidro) são muito próximos dos observados usando solução em água deionizada e água deionizada. Isto pode fazer diferença nos custos em trabalhos de rotina. Pode-se verificar ainda, através da Figura IV.8, que o sinal condutométrico é apenas levemente alterado com o uso de diferentes concentrações molares de soluções de ácido acético e ácido bórico, indicando que pequenas variações do pH das soluções destes ácidos não são críticas para a determinação de amônio. O mesmo não ocorre com o ácido clorídrico, pois pequenas variações na concentração molar deste ácido provocam alterações significativas na condutância iônica medida (Figura IV.8). Embora a sensibilidade do método para a determinação de amônio usando ácido clorídrico seja aproximadamente três vezes maior que a sensibilidade do método usando água, qualquer erro no preparo da solução de ácido pode afetar os resultados das determinações. O emprego de solução de HCl como carregador é ideal para a determinação de pequenas quantidades de amônia, desde que a mesma solução seja usada durante todo processo de análise.

Os desenvolvimentos e aplicações aqui descritos mostraram-se úteis para a determinação de amônio em amostras de solos. Neste caso, deve-se notar o alto valor do sinal da prova em branco (Figura IV.9), originado pela difusão de íons provenientes da solução em KCl utilizada na extração de amônio das amostras de solo, mas isto não invalida o procedimento.

Estudos sugerem que a quantidade de amônio extraída de solos à temperatura ambiente tende a um valor máximo quando as amostras de solos são agitadas com solução de KCl 2M por 1 hora, na proporção de 10 mL de KCl 2M por grama de solo<sup>(16)</sup>. De fato,

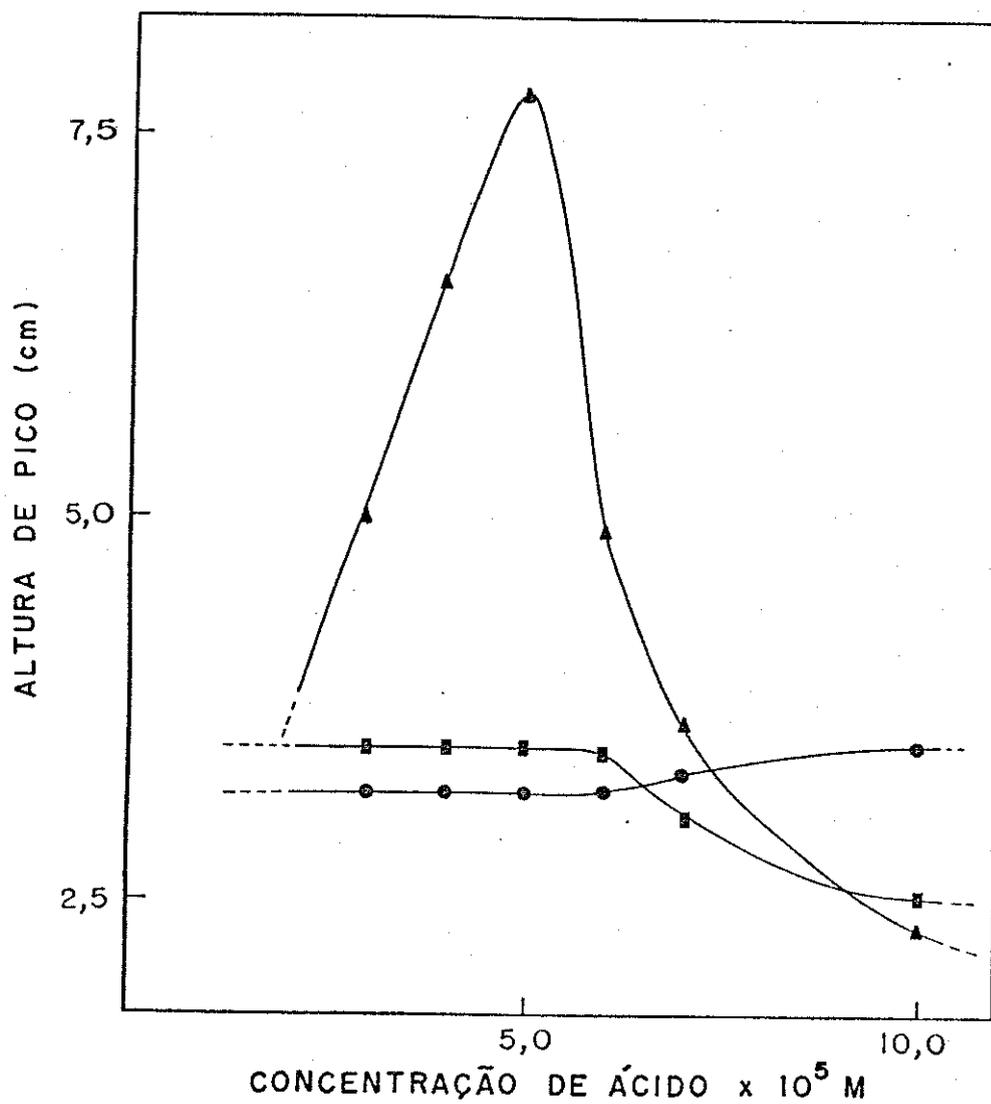


Figura IV.8 - Efeito do comportamento de diferentes ácidos utilizados para a absorção de amônia. ▲ ácido clorídrico; ■ ácido acético; ● ácido bórico.

Condições experimentais: volume injetado = 300  $\mu$ L; vazão do carregador = 1,2 mLmin<sup>-1</sup>; concentração da solução = 5,0  $\mu$ g mL<sup>-1</sup> N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; coluna de MgO ( $\phi_i$  = 2 mm, C = 5,0 cm).

a Figura IV.9 mostra que não há grande diferença no sinal analítico observado quando a faixa de concentração do extrator é variada entre 0,5 e 4,0 M. Este dado é valioso porque permite simplificações no procedimento do tratamento das amostras, permitindo que soluções mais diluídas de KCl sejam utilizadas nas amostras para o sistema A.I.F.. Neste trabalho, a escolha de KCl 1M como extrator foi adotada, sem qualquer prejuízo.

O registro típico dos sinais do sistema A.I.F. para a determinação de amônio, nas condições experimentais aqui descritas está representado na Figura IV.10. Estes resultados, obtidos para uma curva de calibração (Figura IV.11), são lineares dentro da faixa de concentração de interesse. Todas as curvas obtidas durante o desenvolvimento do método mostraram o mesmo comportamento, mesmo com o uso de diferentes colunas de reação e de fitas de PTFE de diversas procedências. A análise de dados de calibração revelou que os pontos experimentais descreveram uma reta, cuja equação é  $Y = 1,217 + 7,709 X$ , onde Y é o sinal analítico (medido em altura de pico), X é a concentração de amônio (em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). O coeficiente de correlação variando a concentração de amônio de 1,0 a 5,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  é igual a 0,9982. O desvio padrão relativo (d.p.r.), calculado a partir de dez determinações em replicata, variou de 0,98 para o nível de 1,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  até 0,74 para o nível de 5,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Os valores de d.p.r. observados são praticamente constantes em toda a faixa testada. O limite de detecção, considerando-se a relação sinal/ruído igual a três, segundo as recomendações da IUPAC, foi calculado em 20  $\text{ng mL}^{-1}$ .

O sistema de fluxo usado para a determinação condutométrica de nitrato é o mesmo apresentado na Figura III.4 (p. 42), empregando uma coluna de zinco ativado, ao invés de MgO. As con-

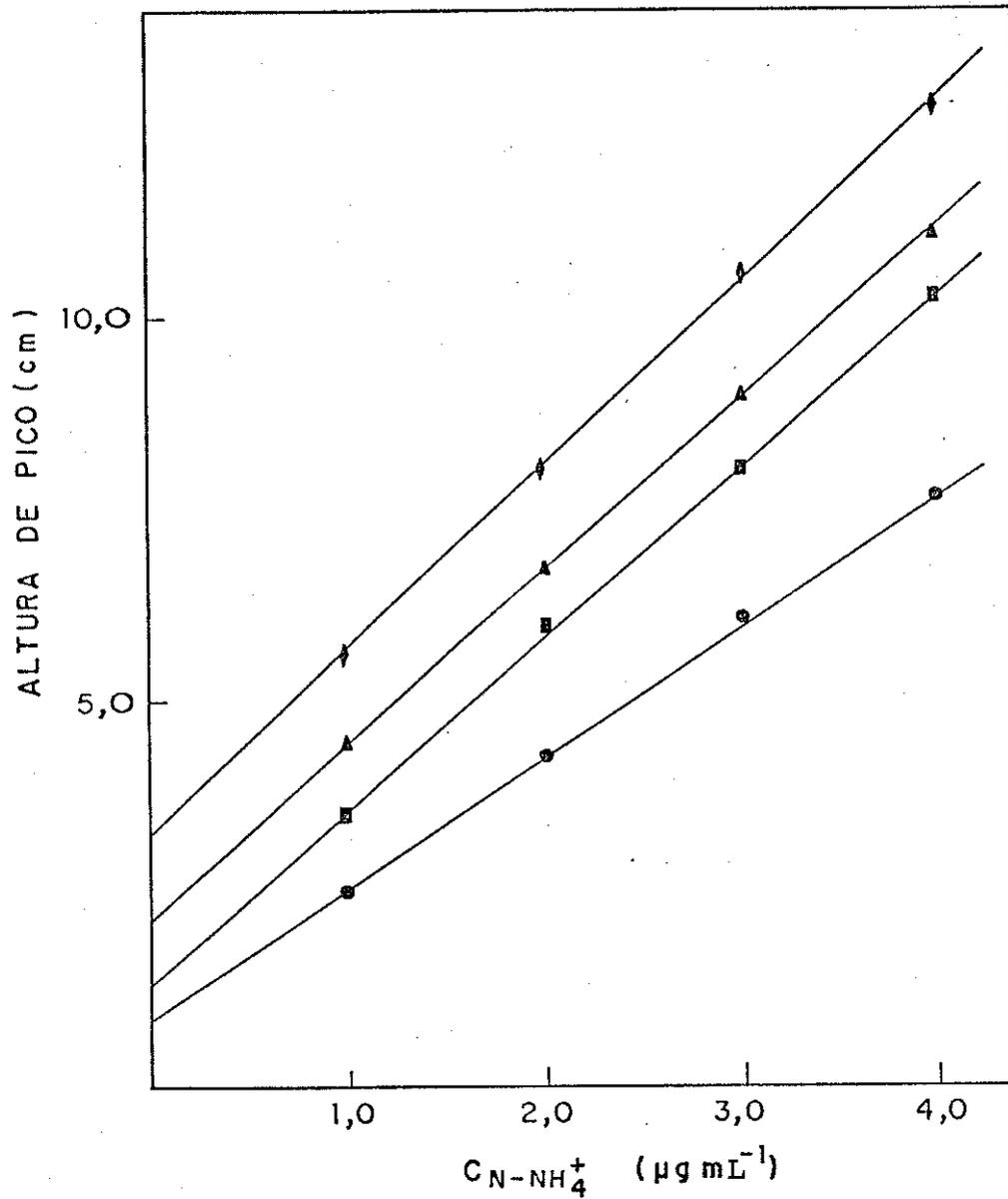


Figura IV.9 - Curvas de calibração para determinação de amônio. Variação da concentração molar do extrator. ● KCl 0,5 M; ■ KCl 1,0 M; ▲ KCl 2,0 M; ◆ KCl 4,0 M. Condições experimentais: volume injetado = 300  $\mu\text{L}$ ; vazão do carregador = 1,2  $\text{mLmin}^{-1}$ ; Coluna de MgO ( $\phi_i = 2$  mm; C = 5 cm).

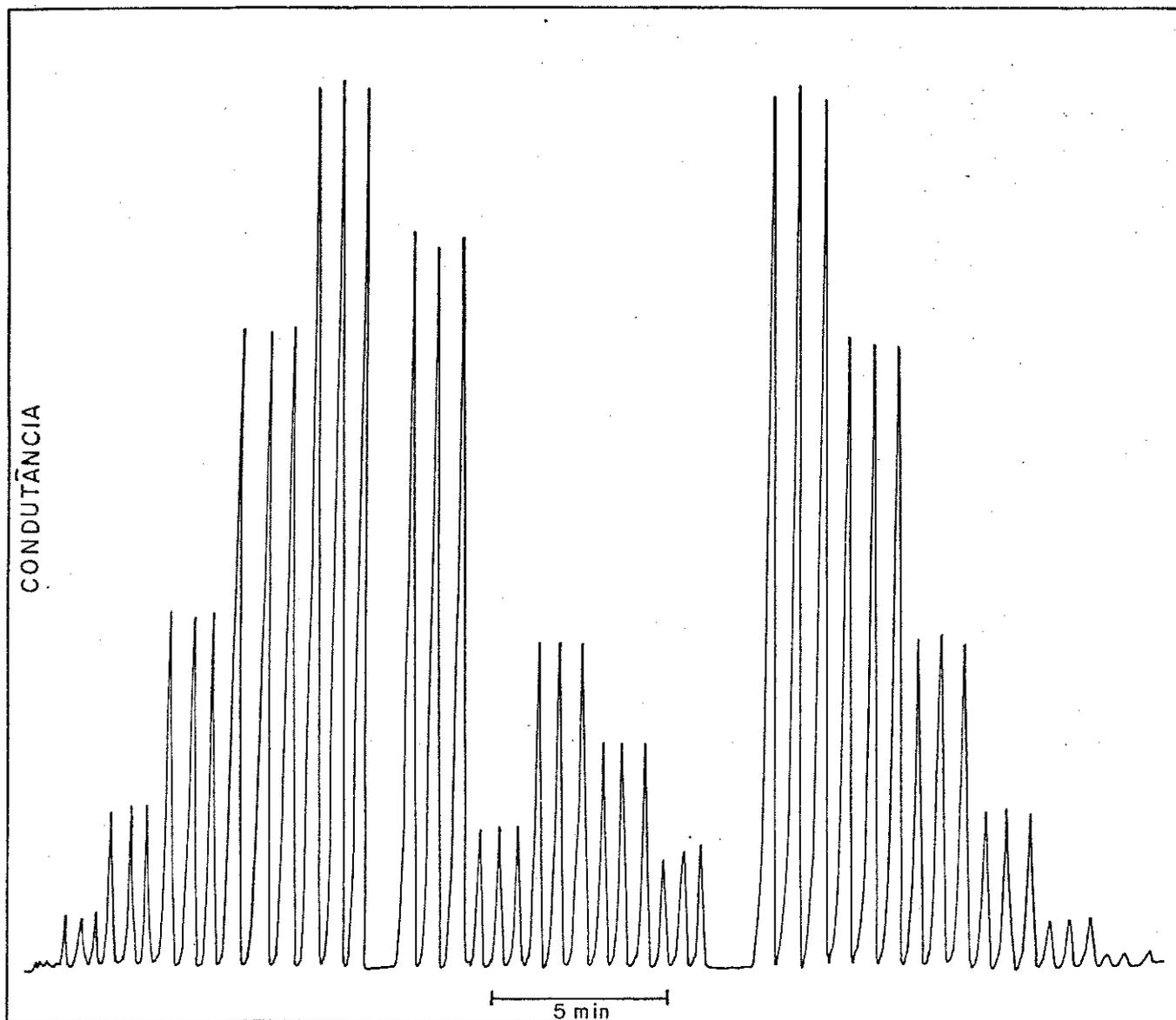


Figura IV.10 - Sinais transientes de calibração e determinação de amônio. Da esquerda para a direita soluções padrão de amônio (0,1 - 0,5 - 1,0 - 2,0 - 3,0  $\mu\text{g}$  de  $\text{N-NH}_4^+$   $\text{mL}^{-1}$ ), seguida de 5 amostras e as mesmas soluções padrão na ordem decrescente de concentração.

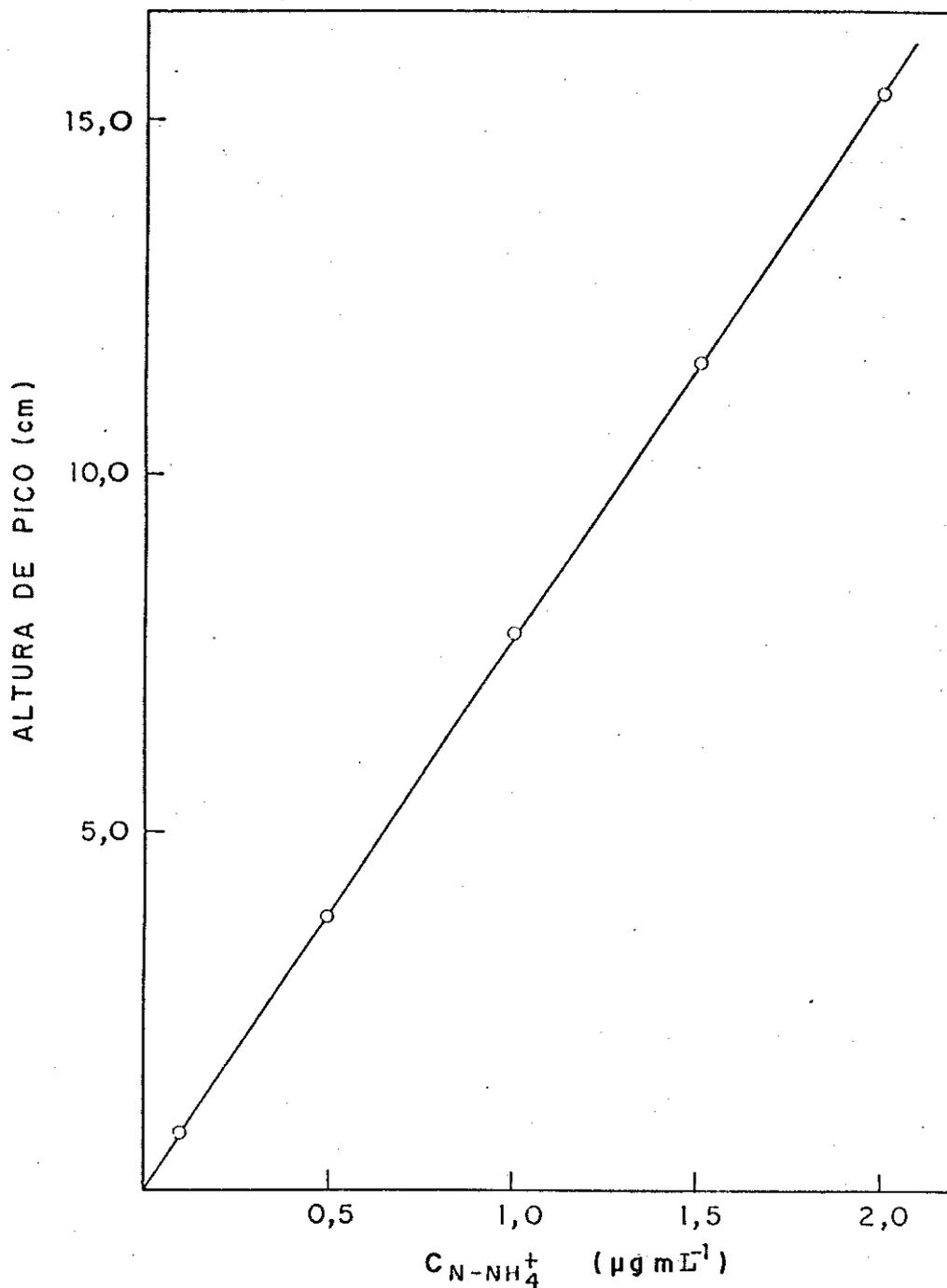


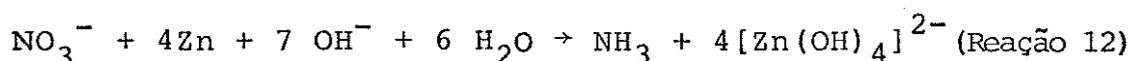
Figura IV.11 - Curva de calibração para determinação de amônio em extratos de amostras de solos.

Condições experimentais: volume injetado = 300  $\mu L$ ; vazão do carregador = 1,2  $mLmin^{-1}$ ; Coluna de MgO ( $\phi_1 = 2$  mm;  $C = 5,0$  cm).

dições ótimas de análise foram obtidas através de experiências envolvendo as principais variáveis deste sistema, tomando como base os trabalhos de Pasquini e Faria<sup>(7)</sup>.

Nestes estudos<sup>(7)</sup>, os melhores resultados foram obtidos usando-se uma coluna de zinco de 10 cm de comprimento. Na continuidade deste trabalho, escolheu-se este mesmo tamanho para a coluna de zinco. Os parâmetros físicos do sistema A.I.F., vazão das correntes acceptora e doadora, percurso analítico e volume da amostra injetado, foram os mesmos utilizados para a determinação de amônio. A avaliação dos resultados foi feita considerando-se a média de pelo menos três injeções de uma mesma solução de nitrato<sup>(\*)</sup>.

A reação de redução do nitrato pode ser esquematizada por:



A reação indica que a coluna deve ser conservada em meio alcalino durante a redução para a formação de  $\text{NH}_3$ .

Nos experimentos iniciais utilizou-se uma coluna de MgO em série com a coluna de zinco, para o condicionamento do meio. Entretanto, os resultados observados não foram satisfatórios, porquanto observou-se que os íons  $\text{Mg}^{2+}$  inibem fortemente a reação de redução do nitrato. Pode-se verificar através da Tabela IV.4 que o magnésio interfere consideravelmente na determinação do nitrato. Para este experimento usou-se uma solução de ni-

---

(\*) A determinação de íons nitrito não é importante para a avaliação de nitrogênio inorgânico total em amostras de solos, portanto, os resultados discutidos serão considerados somente a determinação de íons amônio e nitrato.

trato  $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Os resultados obtidos indicaram que já na segunda injeção a conversão do nitrato se reduz a 50%. Considerando-se que os íons amônio e as bases orgânicas nitrogenadas também eram reduzidas a amônia por reação com o NaOH do meio, era necessário eliminá-los primeiramente. Conforme o procedimento descrito na Seção Experimental (Figura III.5 p.48), as condições experimentais foram analisadas para o processamento da amostra para a concentração de NaOH e o tempo de aquecimento necessários para a eliminação de amônio. Os resultados obtidos estabelecendo-se o tempo em 30 minutos e variando-se a concentração de NaOH e fixando-se a concentração de NaOH em 0,1 M e alterando-se o tempo de aquecimento, estão representados nas Figuras IV.12 e IV.13, respectivamente. Os resultados indicam que o processamento da amostra utilizando-se solução de NaOH 0,1 M sob aquecimento durante 15 minutos é suficiente para a total liberação de amônio (Tabela IV.5).

O fluido carregador inicialmente utilizado na determinação de nitrato foi a água, mas os resultados não apresentaram boa reprodutibilidade. O condicionamento da coluna, simplesmente com a injeção da amostra em meio básico, não era uniforme. A partir destas observações, o fluido carregador foi trocado por uma solução contendo NaOH e EDTA. O EDTA foi usado como agente mascarante para os diversos metais eventualmente presentes no extrato do solo. Além disso, o EDTA complexaria os íons  $\text{Zn}^{2+}$ , liberados no processo de óxido-redução, evitando a formação de  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  que poderia precipitar na linha, restringindo o fluxo da amostra, ou na coluna, impedindo uma redução eficiente do nitrato. A otimização das concentrações da mistura NaOH / EDTA foi estudada fixando a concentração de EDTA e variando a concentração de NaOH, e vice-versa. Os resultados foram avaliados considerando-se a re

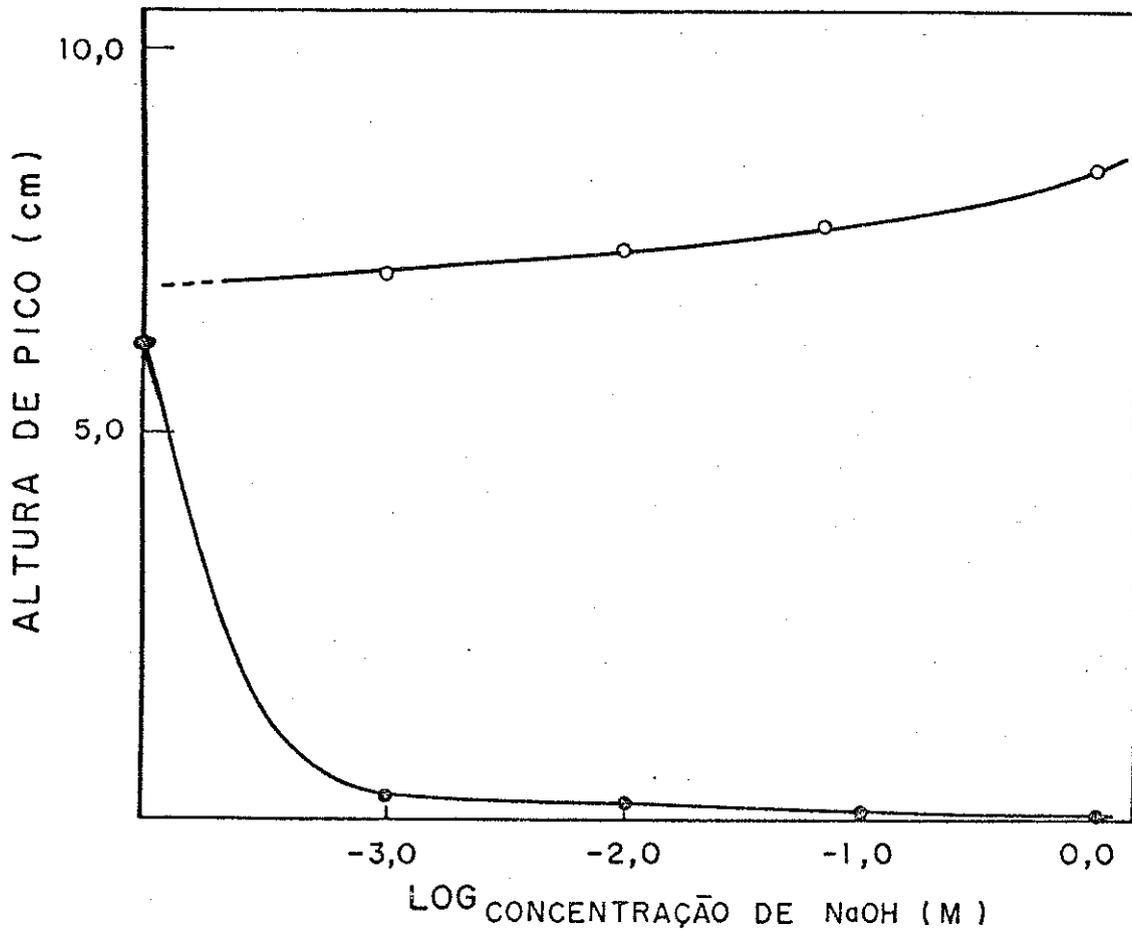


Figura IV.12 - Efeito da concentração de NaOH no processamento

da amostra para a eliminação de íons amônio.

●  $\text{N-NH}_4^+$  ( $2,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); ○  $\text{N-NO}_3^-$  ( $2,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ )

Condições experimentais: corrente doadora = solução NaOH 0,1 M / EDTA 0,5%; corrente receptora = água; coluna de Zn ( $\phi_1 = 2 \text{ mm}$ ;  $C = 10 \text{ cm}$ ).

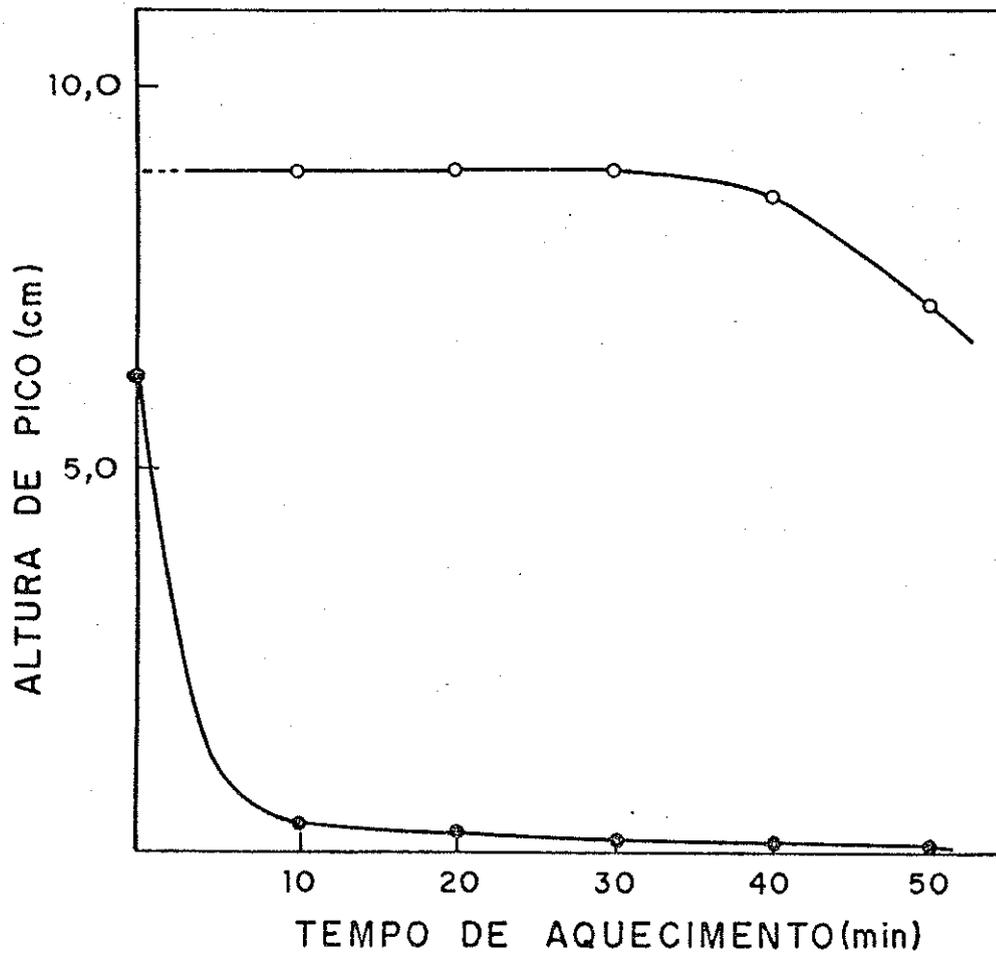
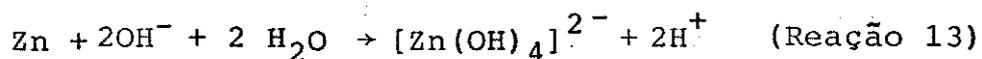


Figura IV.13 - Efeito do tempo de aquecimento no processamento da amostra para a eliminação de íons amônio.

● N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (2,0 μgmL<sup>-1</sup>); ○ N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (2,0 μgmL<sup>-1</sup>)

Condições experimentais: corrente doadora = solução NaOH 0,1 M/EDTA 0,5%; corrente receptora = água; coluna de Zn ( $\phi_1 = 2$  mm; C = 10 cm).

produtibilidade do sinal e o aumento de sensibilidade. A Tabela IV.6 indica que o sinal analítico é apenas levemente alterado com o uso de NaOH na faixa de concentração de 0,1 - 1,0 M. Foi observado o despreendimento de gás na coluna para concentrações de NaOH maiores que 1,0 M, segundo a reação:



Na seqüência deste trabalho, escolheu-se a concentração de NaOH 0,1 M, pois nesta condição os componentes do sistema A.I.F. não eram drasticamente atacados pela solução alcalina. A concentração de EDTA foi estudada na faixa de 0,1 - 1,0% (m/v). De acordo com a Figura IV.14, pode-se observar que o sinal é sensivelmente afetado quando concentrações menores que 0,5% (m/v) de EDTA são empregadas. Na faixa de concentração entre 0,1% (m/v) nota-se ainda a falta de reprodutibilidade do sinal analítico. Nestas condições o meio alcalino pode ter maior efeito sobre o zinco contido na coluna, que poderia estar sendo precipitado como  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  e formando uma película apassivadora sobre os grânulos do reagente.

Tabela IV.4 - Efeito dos íons  $\text{Mg}^{2+}$  na reação de redução do nitrato com zinco metálico.

Número de injeções	Sinal analítico (altura de pico-cm)	% de redução
1	4,1	100
2	2,3	56
3	1,5	37
4	1,0	24

Condições experimentais: volume injetado = 300  $\mu\text{L}$ ; concentração da solução = 5,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ;  $\text{N-NO}_3^-$ ; vazão do carregador = 1,2  $\text{mL min}^{-1}$ ; Coluna de  $\text{MgO}$  ( $\phi_i = 2$  mm;  $C = 5$  cm) e coluna de Zn ( $\phi_i = 2$  mm;  $C = 10$  cm).

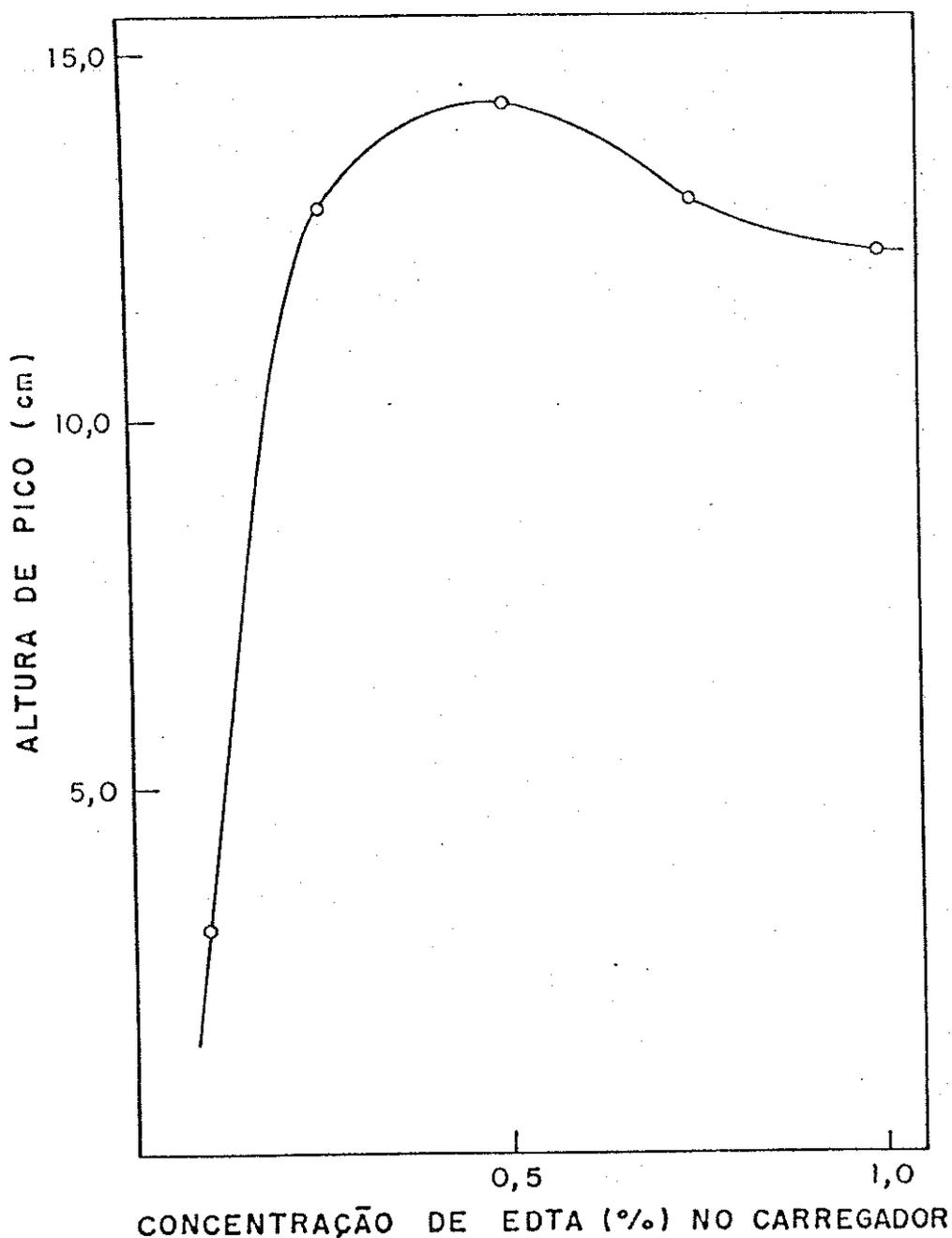


Figura IV.14 - Efeito da concentração de EDTA na linha do carregador na reação de redução de nitrato com zinco metálico.

Condições experimentais: volume injetado = 300  $\mu\text{L}$ ; concentração da solução = 5,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$   $\text{N-NO}_3^-$ ; vazão do carregador = 1,2  $\text{mL min}^{-1}$ ; Coluna de Zn ( $\phi_i = 2$  mm,  $C = 10$  cm); corrente receptora = água; corrente doadora = solução NaOH 0,1 M/EDTA (concentração variável).

Tabela IV.5 - Estudo do efeito de íons amônio na determinação de nitrato em simulação de amostras processadas e amostras não processadas.

Amostras <sup>(†)</sup>	Com processamento <sup>(*)</sup>	Sem processamento <sup>(*)</sup>
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0	2,0
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4,6	4,5
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4,5	6,6

(\*) Os números na tabela se referem a resposta do sinal analítico dada em altura de pico (cm).

(†) Amostras: 2,0 µg mL<sup>-1</sup> N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 2,0 µg mL<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Tabela IV.6 - Estudo da concentração adequada de NaOH para o sistema A.I.F. para a determinação de nitrato.

Concentração de NaOH (M)	Sinal Analítico (altura de pico-cm)
0,1	11,3
0,3	11,2
0,5	11,0
0,7	11,1
1,0	10,7

Condições experimentais: volume injetado = 300 µL; concentração da solução = 5,0 µg mL<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; vazão do carregador = 1,2 mL min<sup>-1</sup>; coluna de Zn ( $\phi_1 = 2$  mm, C = 10 cm); corrente receptora = água; corrente doadora = solução NaOH (concentração variável)/EDTA 0,5%.

Este indício foi observado pela deposição de um material branco no recipiente de descarte da solução. O aumento da concentração de EDTA elimina este efeito pelo fato do mesmo formar complexo com  $Zn^{2+}$  mas, embora a reprodutibilidade do sinal seja boa para concentrações de EDTA entre 0,75% (m/v) e 1,0% (m/v), observa-se um decréscimo no sinal condutométrico nesta faixa. Considerando-se todos os aspectos envolvidos, resolveu-se fixar em NaOH 0,1 M e em EDTA 0,5% (m/v) as concentrações das substâncias a serem empregadas como carregador na determinação de  $N-NO_3^-$  em extratos de solos.

Na Figura IV.15 são mostrados sinais observados em uma calibração usando soluções com concentrações de nitrato entre 1,0 e 10,0  $\mu g mL^{-1}$ . Os resultados obtidos mostram que na faixa de 0 a 7,0  $\mu g mL^{-1}$  a resposta é linear. A equação que relaciona o sinal analítico (altura de pico) com a concentração de nitrato é  $y = 0,5130 + 2,6130 x - 0,9575 x^2$ , com um coeficiente de correlação de 0,9998, onde y é a resposta do detetor e x a concentração de nitrogênio, na forma de nitrato,  $N-NO_3^-$ . A curva descrita por esta equação é mostrada na Figura IV.16. A estimativa do desvio padrão calculado a partir de dez determinações em replicata é de 1,0% e 0,3%, respectivamente, para padrões de 1,0 e 10,0  $\mu g mL^{-1}$ . Os valores de d.p.r. observados são praticamente constantes em toda a faixa testada. O limite de detecção obtido foi de 60  $ng mL^{-1}$  calculado em relação ao sinal do branco, considerando-se três vezes o seu desvio padrão, segundo as recomendações da IUPAC. A frequência de injeção obtida foi de 90 amostras por hora.

Para algumas amostras de solo observou-se a presença de material particulado em suspensão na solução sobrenadante de alguns extratos. Para estes casos, recomenda-se a filtração da

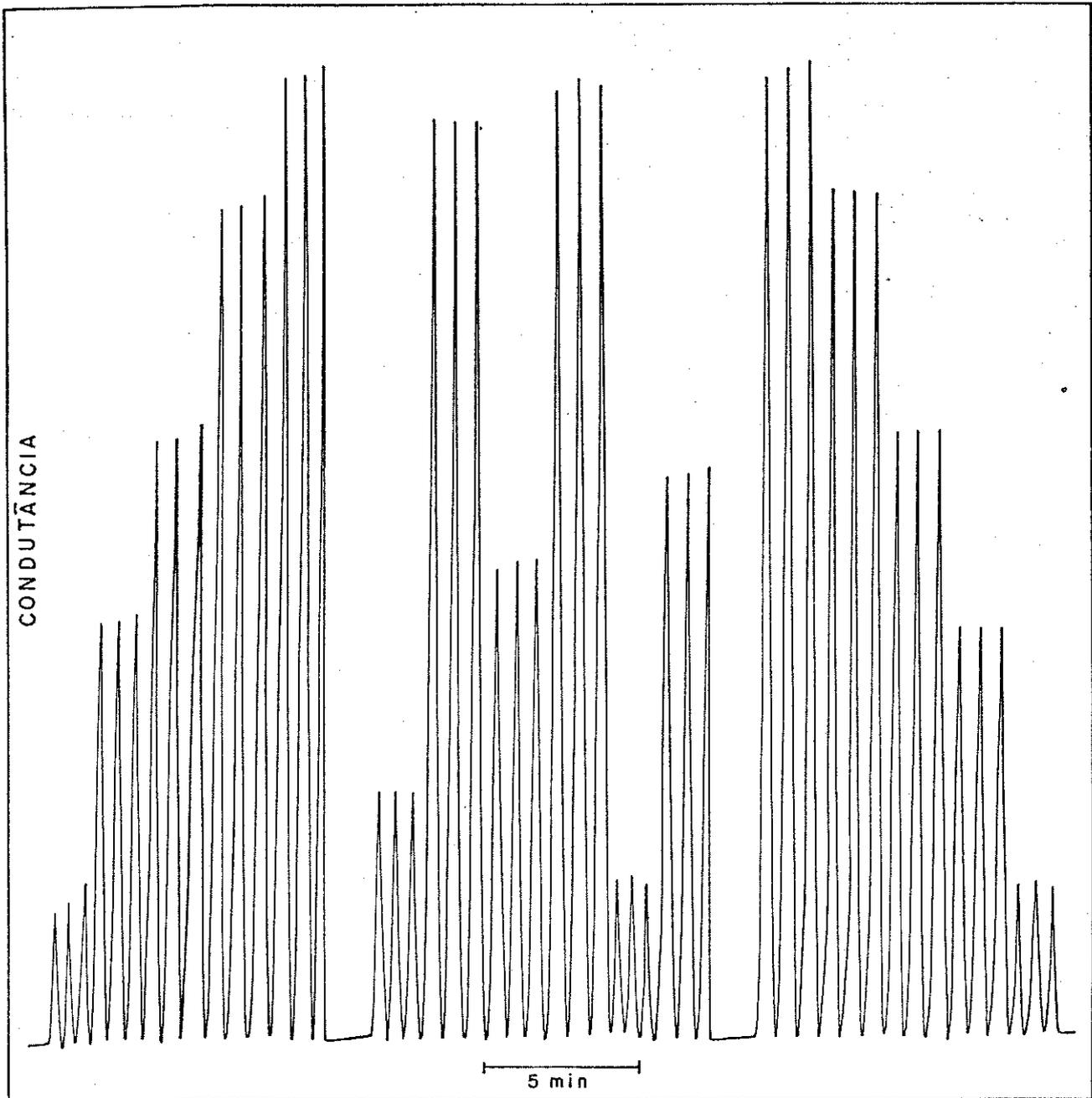


Figura IV.15 - Sinais transientes de calibração e determinação de nitrato. Da esquerda para a direita soluções padrão de nitrato (1,0 - 3,0 - 5,0 - 8,0 - 10,0  $\mu\text{g}$  de  $\text{N-NO}_3^- \text{ mL}^{-1}$ ), seguida de 6 amostras e as mesmas soluções padrão na ordem decrescente de concentrações.

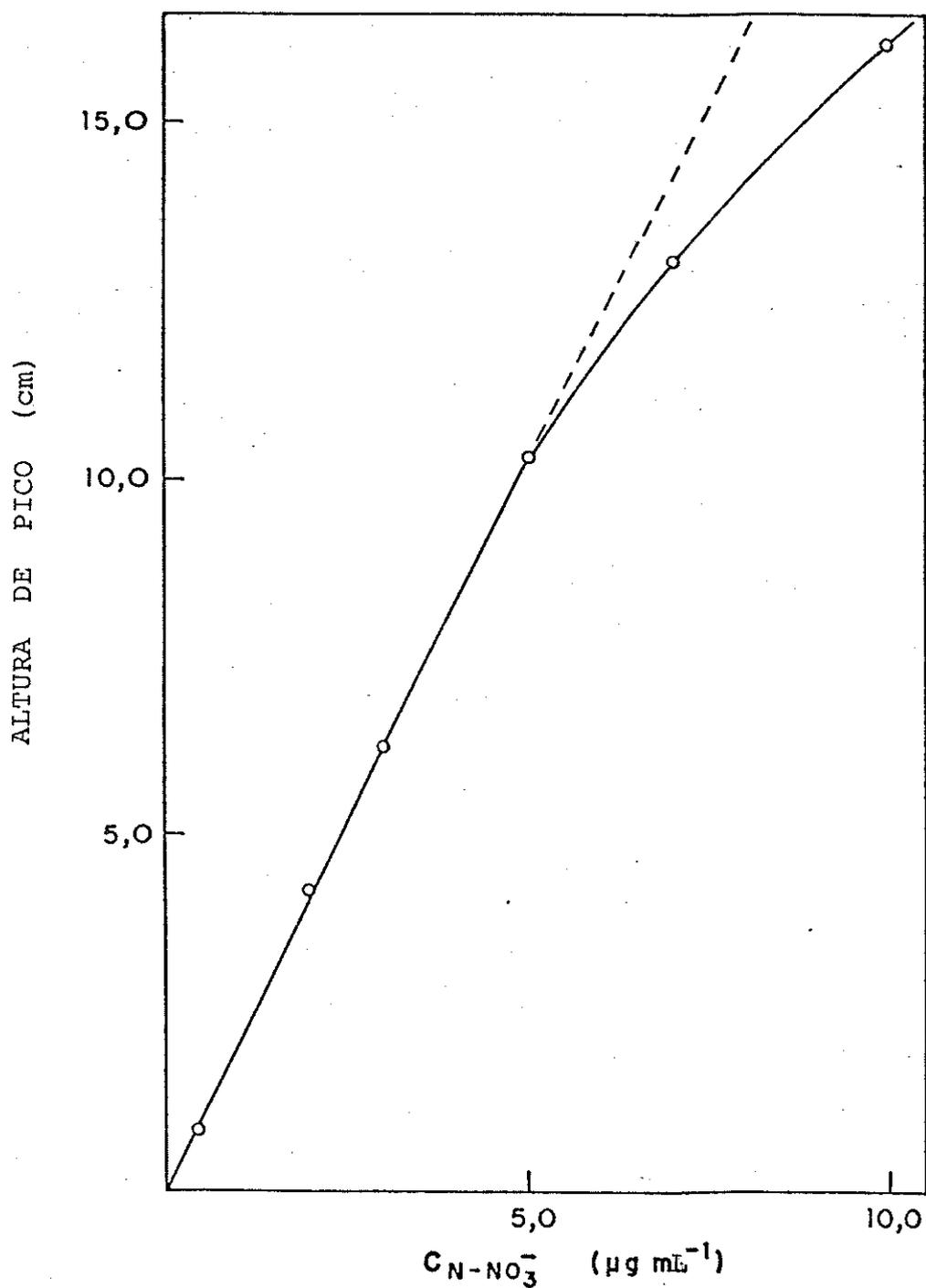


Figura IV.16 - Curva de calibração para determinação de nitrato em extratos de amostras de solos.

Condições experimentais: volume injetado = 300  $\mu\text{L}$ ; vazão carregador = 1,2  $\text{mLmin}^{-1}$ ; coluna de Zn ( $\phi_i = 2$  mm;  $C=10\text{cm}$ ).

solução, antes de se proceder sua análise. Alguns pesquisadores estudaram os erros nas determinações de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  em extratos filtrados, causados pela contaminação do papel de filtro<sup>(77)</sup>. Baseado nestes estudos, o procedimento descrito na Parte Experimental deste trabalho para o processo de filtração reduz a valores mínimos a possibilidade de contaminação nas análises.

Alguns elementos, principalmente o ferro(III), presentes no extrato do solo podem precipitar durante o processamento da amostra, que é realizada em meio alcalino. De um modo geral, a adição de EDTA corrige satisfatoriamente as interferências químicas destes elementos no método proposto, de maneira que se optou por adicionar 0,5% (m/v) de EDTA à solução de NaOH 0,1 M usada no processamento da amostra para a determinação de nitrato e à solução extratora usada na determinação de amônio.

Na falta de padrões certificados de solo com respeito ao conteúdo de nitrogênio, a exatidão do método proposto foi comparada com a do método padrão convencional para a determinação deste elemento.

Para se verificar a compatibilidade entre os resultados obtidos com o sistema A.I.F. e com o uso do procedimento convencional, preparou-se extratos de solos, segundo o procedimento descrito no Capítulo III (p. 46). Partindo-se da mesma alíquota da solução extratora, determinou-se  $\text{N-NH}_4^+$  e  $\text{N-NO}_3^-$  em cinco replicatas pelo método convencional e em cinco replicatas pelo método de Injeção em Fluxo. Os resultados médios finais, apresentados na Tabela IV.7, foram obtidos a partir das curvas de calibração descritas nas Figuras IV.11 e IV.16, e comparados com os resultados finais obtidos pelo método convencional. Estes dados mostram que os resultados obtidos com amostras reais, usando o

Tabela IV.7 - Resultados comparativos entre os métodos para determinação de amônio e nitrato em extratos de solos ( $\mu\text{g/g}$  de solo).

Amostras (*)	Método Dest.-Titul.		Método A.I.F.-condut.	
	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
GH	0,4 ± 0,2	4,2 ± 0,7	0,40 ± 0,02	4,70 ± 0,08
LV	0,6 ± 0,2	5,3 ± 0,8	0,62 ± 0,01	4,71 ± 0,02
LR	2,8 ± 0,5	0,9 ± 0,5	2,38 ± 0,02	1,20 ± 0,02
PE	0,5 ± 0,3	10,6 ± 0,8	0,49 ± 0,02	9,00 ± 0,08
LE-ma	4,8 ± 0,3	3,5 ± 0,5	4,60 ± 0,08	3,50 ± 0,08
LE-a	1,0 ± 0,2	5,6 ± 0,5	0,91 ± 0,02	5,35 ± 0,08
LV	0,7 ± 0,2	1,8 ± 0,2	0,79 ± 0,08	2,00 ± 0,08
LV	0,2 ± 0,1	7,5 ± 0,5	0,23 ± 0,01	7,73 ± 0,04
LE-ma	1,2 ± 0,2	0,3 ± 0,1	1,07 ± 0,01	0,35 ± 0,03
LH	0,4 ± 0,2	5,4 ± 0,4	0,45 ± 0,01	5,73 ± 0,03
LE-a	0,9 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,72 ± 0,01	0,85 ± 0,02

(\*) Amostras: Tipos de amostras de solos utilizados em análise.

GH - Glei húmico eutrófico.

LE-a - Latossolo vermelho escuro álico.

LE-ma - Latossolo vermelho escuro distrófico.

LH - Latossolo húmico.

LR - Latossolo roxo.

LV - Latossolo vermelho.

PE - Podzólico vermelho escuro eutrófico.

método A.I.F., estão em concordância com aqueles obtidos pelo método destilação-titulação, já que nenhuma diferença estatística entre os resultados é observada a um nível de confiança de 5%. Entretanto, pode-se verificar que o método A.I.F. mostrou-se muito mais preciso que o convencional.

Neste trabalho, foi possível mostrar que os parâmetros estudados no método A.I.F. - Condutométrico para a determinação de amônio e nitrato possibilitaram a aplicação desta metodologia para amostras de solos. Assim, de acordo com as excelentes características e a facilidade de implantação deste sistema, espera-se que o método proposto seja empregado em laboratórios de análises de rotina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BREMNER, J.M.; MULVANEY, C.S. Nitrogen total. IN: Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological properties, 2<sup>nd</sup> ed., American Society Agronomy, Madison, WI, 1982.
- 2 - BREMNER, J.M. Nitrogen availability indexes. IN: BLACK, C.A. Methods of Soil Analysis. Part 2. Agronomy. American Society Agronomy, Madison, WI., 1965, p. 1324-1345.
- 3 - RŮZICKA, J.; HANSEN, E.H. Flow Injection Analysis, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley, New York, 1981.
- 4 - WESCAN MODEL 360 AMMONIA ANALYZER (U.S. Patent nº 4.209.299).
- 5 - CARLSON, R.M.; CABRERA, R.I.; PAUL, J.L.; QUICK, J.; EVANS, R.Y. "Rapid direct determination of ammonium and nitrate in soil and plant tissue extracts". *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.*, 21 (1990) 1519-1529.
- 6 - FARIA, L.C. ; PASQUINI, C. "Flow-injection determination of ammonia in Kjeldahl digests by gas diffusion and conductometry". *Anal. Chim. Acta*, 193 (1987) 19-27.
- 7 - PASQUINI, C.; FARIA, L.C. "Flow - injection determination forms of nitrogen by gas diffusion and conductimetry". *Anal. Chim. Acta*, 245 (1991) 183-190..

- 8 - YAGODIN, B.A. Agricultural Chemistry. Mir Publishers Moscow, 1984, p. 114.
- 9 - BLACK, C.A. "Relaciones agua-suelo-planta". Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, 1975, p. 865.
- 10 - HARDY, R.W.F.; FILNER, P.; HAGEMAN, R.H. Nitrogen input. IN: BROWN, A.W.A.; BYELY, T.C.; GIBS, M.; PIETRO San, A. "A crop productivity research imperatives". East Lansing, Michigan University, *Agricultural Experimental Station*, 1975, p.133-136.
- 11 - PURVIS, E.R.; LEO, M.W.M. "Rapid procedure for estimating potentially available soil nitrogen under greenhouse conditions". *J. Food Agric. Chem.*, 9 (1961) 15-17.
- 12 - SMITH, S.J.; YOUNG, L.B.; MILLER, G.E. "Evaluation of soil nitrogen mineralization potential under modified field conditions". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41 (1977) 74-76.
- 13 - STANFORD, G. "Extraction of soil organic nitrogen by autoclaving in Water II. A kinetic approach to estimating the NaOH destillate fraction". *Soil Sci.*, 107 (1969) 323-328.
- 14 - SCARSBROOK, C.E. "Nitrogen availability". IN: BARTHOLOMEW, W.W. & CLARK, F.E. *Soil Nitrogen*, Am. Soc. Agron., Madison, 1965, p. 481-502.

- 15 - VAN RAIJ, B. "Fertilidade do solo e adubação". Editora Agronômica Ceres Ltda., São Paulo, 1991.
- 16 - Soil Science Society of America, Committee on Terminology. Glossary of soil science terms. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 29 (1965).
- 17 - KJELDAHL, M. "Neve Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern". *Z. Anal. Chem.*, 22 (1883) 366-382.
- 18 - DUMAS, M. "Lettre de M. Dumas à M. Gay-Lussac, sur les Procédés de l'analyse organique". *Ann. Chim. Phys.*, 47 (1831) 198-213.
- 19 - BREMNER, J.M. "Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method". *J. Agric. Sci.*, 55 (1960) 11-33.
- 20 - BREMNER, J.M.; KEENEY, D.R. "Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite". *Anal. Chim. Acta*, 32 (1965) 485-495.
- 21 - BREMNER, J.M.; KEENEY, D.R. "Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: III - Exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction-distillation methods". *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 30 (1966) 577-582.

- 22 - FREENEY, J.R. "Phosphate interference in the Devarda's alloy reduction method for nitrate". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 2 (1971) 479-484.
- 23 - CLAUSEN, C.; BOCK, B.R.; PETERSON, G.A.; OLSON, R.A. "The  $Mg^{2+}$  problem in nitrate determination by steam distillation". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44 (1980) 1326-1327.
- 24 - BEST, E.K.; CRASWELL, E.T. "Interference by magnesium in the determination of nitrate in 2M KCl extracts of soil distillation". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 16 (1985) 1189-1198.
- 25 - SAHRAWAT, K.L. "Error caused by carbon dioxide in determination of ammonium by direct steam distillation in tropical wetland rice soils". *Plant and Soil*, 69 (1982) 283-285.
- 26 - CLAUSEN, C.R.; RUSSELLE, M.P.; FLOWERDAY, A.D.; OLSON, R.A. "Problems in direct steam distillation of soil for mineral nitrogen determination due to carbonates". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45 (1981) 1238-1240.
- 27 - KEENEY, D.R. and BREMNER, J.M. "Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soils: 4-Exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by direct distillation methods". *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 30 (1966) 583-587.

- 28 - ROBINSON, J.B.D. "The preservation, unaltered, of mineral nitrogen in tropical soils extracts". *Plant and Soil*, 27 (1973) 53-80.
- 29 - SAHRAWAT, K.L.; PONNAMPERUMA, F.N. "Measurement of exchangeable  $\text{NH}_4^+$  in tropical rice soils". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42 (1978) 282-283.
- 30 - MARKLEY, K.S.; HANN, R.M. "A comparative study of the Gunning-Arnold and Winkler boric acid modification of the Kjeldahl method for the determination of nitrogen". *J. Ass. Off. Agr. Chem.*, 8 (1925) 455-467.
- 31 - WINGO, W.J.; DAVIS, O.L.; ANDERSON, L. "Source of error in Kjeldahl microdeterminations". *Anal. Chem.*, 22 (1950) 1340.
- 32 - SIEMER, D.D. "Use of boric acid as an ammonia absorbent in the determination of nitrogen". *Analyst*, 111 (1986) 1013-1015.
- 33 - THOMPSON, J.F.; MORRISON, G.H. "Determination of organic nitrogen control of variables in the use of Nessler's Reagent". *Anal. Chem.*, 23 (1951) 1153-1157.
- 34 - SEARLE, P.L. "The Berthelot or Indophenol Reaction and its use in the Analytical Chemistry of Nitrogen". *Analyst*, 109 (1984) 549-568.

- 35 - BOLLETER, W.T.; BUSHMAN, C.J.; TIOWELL, P.W. "Spectrophotometric determination of ammonia as indophenol". *Anal. Chem.*, 33 (1961) 592-594.
- 36 - MILHAM, P.J.; PYM, R.V.E. "Selectivity of reaction among chlorine, ammonia, and salicylate for determination of ammonia". *Anal. Chem.*, 48 (1976) 1413-1415.
- 37 - QIU, X.C.; LIU, G.P.; ZHU, Y.Q. "Determination of Water-soluble ammonium ion in soil by spectrophotometry". *Analyst*, 112 (1987) 909-911.
- 38 - DOUGLAS, L.A.; BREMNER, J.M. "Extraction and colorimetric determination of urea in soils". *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 34 (1970) 859-862.
- 39 - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Techniques for the analysis and measurement of critical compounds and processes. p. 148-155. In Nitrates: An environmental assessment. Panel on Nitrates of coordinating Committee for Sci and Tech. Assessments of Environ. Pollutants, Environ. Studies Board, Comm. on Natural Resources, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1978.
- 40 - CAWSE, P.A. "The determination of nitrate in soil solutions by ultraviolet spectrophotometry". *Analyst*, 92 (1967) 311-315.

- 41 - CLEAR, A. J.; ROTH, M. Nitrogen. IN: I. M. Kolthoff and J.J. Elvin (ed.) Treatise on analytical chemistry. Analytical chemistry of the elements 5, part 2, Section A. Interscience, New York, p. 217-316.
- 42 - FISHER, F.L.; IBERT, E.R.; BECKMAN, H.F. "Inorganic nitrate, nitrite, or nitrate-nitrite. Rapid colorimetric determination of microgram quantities in aqueous solution". *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1972-1974.
- 43 - RILEY, J.P. Analytical Chemistry of sea water. p. 295-424. IN: J.P. Riley and G. Skirrow (ed.). Chemical Oceanography, vol. 2. Academic Press, New York. 1965.
- 44 - BUCKETT, J.; DUFFIELD, W.D.; MILTON, R.F. "The determination of nitrate and nitrite in soil". *Analyst*, 80 (1955) 141-145.
- 45 - WEST, P.W. and LYLES, G.L. "A new method for the determination of nitrates". *Anal. Chim. Acta*, 23 (1960) 227-232.
- 46 - WEST, P.W.; RAMACHANDRAN, T.P. "Spectrophotometric determination of nitrate using chromotropic acid". *Anal. Chim. Acta*; 35 (1966) 317-324.
- 47 - HABY, V.A. "Soil NO<sub>3</sub>-N analysis in Ca(OH)<sub>2</sub> extracts by the chromotropic acid method". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 53 (1989) 308-310.

- 48 - BASTIAN, R.; WEBERLING, R.; PALILLU, F. "U.V. spectrophotometric determination of nitrate (application of alkaline earth carbonates)". *Anal. Chem.*, 29 (1957) 1795-1797.
- 49 - ARMSTRONG, F.A.J. "Determination of nitrate in water by ultraviolet spectrophotometry". *Anal. Chem.*, 35 (1963) 1292-1294.
- 50 - NORMAN, R.J.; STUCKI, J.W. "The determination of nitrate and nitrite in soil extracts by ultraviolet spectrophotometry". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45 (1981) 347-353.
- 51 - BREMNER, J.M.; TABATABAI, M.A. "Use of ammonia electrode for determination of ammonium in Kjeldahl analysis of soils". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 3 (1972) 159-164.
- 52 - MERTENS, J.; VAN DEN WINKEL, P.; MASSART, D.L. "Determination of organic nitrogen in natural waters by means of an ammonia probe". *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 4 (1975) 25-31.
- 53 - BREMNER, J.M.; BUNOY, L.G.; AGARWAL, A.S. "Use of a selective ion electrode for determination of nitrate in soils". *Anal. Lett.*, 1 (1968) 837-844.
- 54 - ONKEN, A.B.; SUNDERMAN, H.D. "Use of the nitrate electrode for determination of nitrates in soils". *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 1 (1970) 155-161.

- 55 - MYERS, R.J.K.; PAUL, E.A. "Nitrate ion electrode method for soil nitrate nitrogen determination". *Can. J. Soil Sci.*, 48 (1968) 369-371.
- 56 - BLACK, A.S.; WARING, S.A. "Nitrate determination in an Oxisol using  $K_2SO_4$  extraction and the nitrate specific electrode". *Plant and Soil*, 49 (1978) 207-211.
- 57 - MILHAM, P.J.; AWAD, A.S.; PAULL, R.E.; BULL, J.H. "Analysis of plants, soils and waters for nitrate by using an ion-selective electrode". *Analyst*, 95 (1970) 751-757.
- 58 - EWING, G.W. "Métodos Instrumentais de Análise Química", Editora da Universidade de São Paulo, 1972, p. 280.
- 59 - HENDRICKS, R.H.; THOMAS, M.O.; STOUT, M.; TOLMAN, B. "Conductometric determination of ammonia - application to nitrogen distribution studies". *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 14 (1942) 23-26.
- 60 - APPLETON, L. "Determination of nitrogen by conductivity measurements of ammonium borate-boric acid solutions". *Chemist-Analyst*, 42 (1953) 4-7.
- 61 - SHAW, J.; STADDON, B.W. "A conductometric method for the estimation of small quantities of ammonia". *J. Exp. Biol.* 35 (1958) 85-95.

- 62 - FRIEDL, F.E. "Conductometric diffusion rate method for determination of microgram quantities of ammonia". *Anal. Biochem.*, 48 (1972) 300-305.
- 63 - HANSEN, E.H.; KRUG, F.J.; GHOSE, A.K.; RÜZICKA, J. "Rapid determination of nitrogen, phosphorus and potassium in fertilisers by Flow Injection Analysis". *Analyst*, 102 (1977) 714-722.
- 64 - KRUG, F.J.; RÜZICKA, J.; HANSEN, E.H. "Determination of ammonia in low concentrations with Nessler's Reagent by Flow Injection Analysis". *Analyst*, 104 (1979) 47-54.
- 65 - KRUG, F.J.; REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; ZAGATTO, E.A.G. "Zone trapping in Flow Injection Analysis - Spectrophotometric determination of low levels of ammonium ion in natural waters". *Anal. Chim. Acta*, 151 (1983) 39-48.
- 66 - BERGAMIN F<sup>o</sup>, H.; REIS, B.F.; JACINTHO, A.O.; ZAGATTO, E.A.G. "Ion exchange in Flow Injection Analysis - Determination of ammonium ions at the  $\mu\text{g.L}^{-1}$  level in natural waters with pulsed Nessler Reagent". *Anal. Chim. Acta*, 117 (1980) 81-87.
- 67 - ZAGATTO, E.A.G.; REIS, B.F.; BERGAMIN F<sup>o</sup>, H.; KRUG, F.J. "Isothermal distillation in Flow Injection Analysis - Determination of total nitrogen in plant material". *Anal. Chim. Acta*, 109 (1979) 45-54.

- 68 - VAN SON, M.; SCHOTHORST, R.C.; DEN BOEF, G. "Determination of total ammoniacal nitrogen in water by Flow Injection Analysis and a gas diffusion membrane". *Anal. Chim. Acta*, 153 (1983) 271-275.
- 69 - WILLASON, S.W.; JOHNSON, K.S. "A rapid, highly sensitive technique for the determination of ammonia in seawater". *Mar. Biol.*, 91 (1986) 285-290.
- 70 - VALCARCEL, M.; LUQUE DE CASTRO, M.D. "Análisis por Inyección en Flujo", Imprenta San Pablo, Córdoba, 1984.
- 71 - ALEGRET, S.; ALONSO, J.; BARTROLI, J.; MARTINEZ-FÁBREGAS, E. "Flow Injection System for on-line potentiometric monitoring of ammonia in freshwater streams". *Analyst*, 114 (1989) 1443-1447.
- 72 - ALEGRET, S.; ALONSO, J.; BARTROLI, J.; DEL VALLE, M. "Flow-through pH-ISFET as detector in the determination of ammonia". *Anal. Chim. Acta*, 231 (1990) 53-58.
- 73 - VAN DER LINDEN, W.E. "Membrane separation in Flow Injection Analysis - gas diffusion". *Anal. Chim. Acta*, 151 (1983) 359-369.
- 74 - SCHULZE, G.; LIU, C.Y.; BRODOWSKI, M.; ELSHOLZ, O. "Different approaches to the determination of ammonium ions at low levels by Flow Injection Analysis". *Anal. Chim. Acta*, 214 (1988) 121-136.

- 75 - SCHULZE, G.; BRODOWSKI, M.; ELSHOLZ, O.; THIELE, A. "Dual detection for optimization of gas diffusion in Flow Injection Analysis - Determination of ammonium and sulfide". *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 329 (1988) 714-717.
- 76 - MARON, S.H.; LANDO, J.B. "Fundamentals of Physical Chemistry". Macmillan Publishing Co. Inc., New York, 1965, 505-506.
- 77 - SPARROW, S.D.; MASIAK, D.T. Errors in analysis for ammonium and nitrate caused by contamination from filter papers". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 51 (1987) 107-110.
- 78 - STROBEL, H.A. Chemical Instrumentation: a systematic approach. 2<sup>nd</sup> ed. Addison-Wesley Publishing Company, Massachusetts, 1959, p. 763-785.
- 79 - PUNGOR, E.; FEHER, Z.; NAGY, G.; TOTH, K.; HORVAL, G.; GRATZL, M. "Injection techniques in dynamic flow-through analysis with electroanalytical sensors". *Anal. Chim. Acta*, 109 (1979) 1-24.