1150009029
IQ
T/UNICAMP F226d

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

"Este exemplar corresponde a redação final da TESE defendida por Lourival Cardoso de Faria e aprovada pela Comissão Julgadora.

01/12/87 -

Orientador: Prof. Dr. Célio Pasquini

"DETERMINAÇÃO CONDUTOMÉTRICA DE AMÔNIA EM DIGERIDOS DE KJELDAHL, ÁGUAS E SOLOS POR ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO"

- Lourival Cardoso de Faria -

Tese de Mestrado

Campinas - 1987

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

À Aralice

e

Rodrigo,

Dedico

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Célio Pasquini, pela sua orientação e dedicação durante todo esse trabalho.
- Ao Prof. Dr. Matthieu Tubino e Prof. Dr. Wilson F. Jardim, pelo apoio e ajuda na ausência do orientador.
- Ao Dr. Ondino Cleante Bataglia, pela sua sugestão, sem a qual esse trabalho não seria possível.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida.
- À Micronal S.A., pelo empréstimo da bomba peristática e condutivímetro.
- Ao Dr. Heitor Cantarella, Marlene T. B. da Silva e Débora M. Ciarelli, do IAC, pela ajuda que deram nesse trabalho.
- Ao amigo Paulo Sérgio de Souza, pelos ensinamentos do redator de texto.
- Aos membros da Comissão Examinadora deste trabalho, de quem aguardo críticas e sugestões.
- A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuiram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

página

RESUMO vii

ABSTRACT viii

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO 1

I.1 - Análise por Injeção em Fluxo 2

I.1.1 - Histórico 2

I.1.2 - O Conceito FIA 3

I.1.3 - Elementos Essenciais de um Sistema FIA . . . 4

I.2 - Métodos Gerais para Determinação de Amônia . 5

I.3 - Condutometria 7

I.3.1 - FIA Aplicada a Medidas Condutométricas . . . 9

I.4 - Ionização da Amônia 10

CAPÍTULO II - PARTE EXPERIMENTAL

II.1 - Instrumentação 13

II.2 - Reagentes e Padrões 15

II.3 - Amostras 17

II.4 - Sistema de Injeção em Fluxo 18

CAPÍTULO III - DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA EM DIGERIDOS DE KJELDAHL

III.1 - Introdução 20

III.2 - Resultados e Discussão 21

III.2.1 - Membrana 24

III.2.2 - Interferências 25

III.2.3 - Temperatura 28

III.2.4 - Curvas de Calibração 29

III.2.5 - Precisão e Exatidão 31

CAPÍTULO IV - DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA EM ÁGUAS E SOLOS

IV.1 - Introdução 34

IV.2 - Resultados e Discussão 35

CAPÍTULO V - DISCUSSÃO GERAL 41

REFERÊNCIAS 44

TABELAS

página

1 Condutância equivalente limite de alguns íons, à 25 ºC..... 9

2 Interferências químicas na determinação de amônia em digeridos de Kjeldahl..... 28

3 Resultados comparativos na determinação de amônia em digeridos de Kjeldahl..... 33

4 Resultados comparativos na determinação de amônia em águas..... 39

5 Resultados comparativos na determinação de amônia em solos..... 39

FIGURAS

		página
1	Cela de fluxo para medida de condutância.....	14
2	Cela de difusão.....	15
3	Sistema de injeção em fluxo.....	19
4	Curvas de calibração.....	23
5	Efeito da concentração do ácido sulfúrico e do sulfato de potássio.....	27
6	Efeito da temperatura.....	30
7	Sinais de calibração e determinação de amônia em amostras de tecidos vegetais.....	32
8	Sinais de calibração e determinação de amônia em amostras de águas.....	38
9	Sinais de calibração e determinação de amônia em amostras de solos.....	40

RESUMO

Um sistema de análise por injeção em fluxo foi desenvolvido para a determinação condutométrica de amônia em digeridos de Kjeldahl, águas e solos. O método é baseado na difusão da amônia através de uma membrana de PTFE, de um meio alcalino para um fluxo de água deionizada. A condutância da água deionizada é continuamente monitorada e sua alteração é proporcional à concentração de amônia presente na amostra. As influências dos parâmetros de fluxo, concentrações dos reagentes, temperatura e interferências potenciais foram estudadas. O método proposto permite uma velocidade analítica de aproximadamente 100 determinações por hora, com uma precisão ao redor de 1%. O limite de detecção foi de 10^{-6}M. A exatidão do método foi avaliada comparando-se os resultados de diversas amostras obtidos pelo método proposto e por métodos aceitos na literatura.

ABSTRACT

A Flow Injection Analysis system and methodology was developed with the aim of determining ammonia in Kjeldahl digests, soil and water, by use of conductometry. The method is based on the diffusion of ammonia through a PTFE membrane from an alkaline medium to a deionized water stream. The conductance of deionized water is continuously monitored and its alteration is related to ammonia concentration present in the sample. The influence of flow parameters, reagent concentrations, temperature, and potential sources of interferences were studied. The methodology allows around 100 determinations per hour with a precision around 1%. The detection limit was found to be 10^{-6}M. The accuracy was estimated by comparing the results obtained using the proposed method with those using conventional techniques.

A crescente demanda por análises químicas durante as últimas décadas tem exigido da Química Analítica o desenvolvimento de novos métodos analíticos, bem como um aperfeiçoamento das técnicas analíticas já existentes para adequá-las a alta demanda de análises. Para que um método analítico possa ser empregado de modo rápido e preciso, torna-se muitas vezes necessário sua automação. O uso dos Métodos Automáticos de Análises está ligado ao conceito da substituição das operações realizadas manualmente por um analista. Esse conceito foi introduzido por Skeggs[1] em 1957, e constitui o primeiro passo no desenvolvimento dos métodos automáticos. O desenvolvimento deste conceito levou a fabricação de modernos Auto Analisadores, hoje presentes na maioria dos laboratórios envolvidos em análises químicas de rotina. Entretanto, devido ao elevado custo operacional, esses Auto Analisadores estão sendo gradativamente substituídos por métodos mais simples de automação.

Em 1975, Ruzicka e Hansen[2] modificaram esse conceito e propuseram o sistema de análise por injeção em fluxo, FIA*. O desenvolvimento desse sistema de análise demonstrou características iguais ou superiores aos métodos até então em uso. No entanto, tanto nos Auto Analisadores como em sistemas FIA, os reagentes são bombeados continuamente durante todo o processo analítico. Em 1978, Bergamim e colaboradores expandiram o conceito de

---

* Do inglês: "Flow Injection Analysis"

FIA e propuseram os sistemas com configuração em confluência[3] e zonas coalescentes[9]. Desta forma, amostras muito diluídas podem ser analisadas e os reagentes consumidos somente em presença das amostras.

Os sistemas FIA, em geral, são simples e de fácil construção. Todos esses sistemas são caracterizados por apresentarem alta velocidade analítica, baixo consumo de amostras e reagentes, baixo custo operacional, grande versatilidade, além de apresentar precisão e exatidão comparáveis às dos métodos convencionais.

O objetivo principal deste trabalho é apresentar o desenvolvimento de um sistema FIA, para a determinação de amônia em digeridos de Kjeldahl, águas e solos, baseado na sua difusão através de uma membrana de PTFE, seguida da medida da condutância da solução originada. A determinação de amônia é importante no controle de qualidade das indústrias de rações e fertilizantes, bem como nos laboratórios de pesquisas agronômicas, onde a demanda chega a atingir centenas de amostras diariamente.

I.1 - ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

I.1.1 - Histórico

Existe uma forte controvérsia sobre a origem da técnica FIA. Embora a maioria dos trabalhos que utilizam essa técnica atribuam a sua origem ao trabalho de Ruzicka e Hansen[2], Stewart[4] afirma que o primeiro trabalho utilizando a técnica FIA foi feito pelo seu grupo em 1974[5]. Uma visão mais pro-

funda sobre o aspecto histórico da técnica FIA pode ser encontrada no trabalho de Mottola[6] ou em Valcárcel e Luque de Castro[7]. Eles apresentam cinco grupos antecedentes a 1974 que utilizaram essa técnica. Entretanto, deve-se reconhecer que foi a partir do trabalho de Ruzicka e Hansen[2] que essa técnica foi batizada com o nome de "FLOW INJECTION ANALYSIS" - FIA.

I.1.2 - O Conceito FIA

A inclusão do termo injeção no nome da técnica é mais um aspecto histórico que atual, já que nos primeiros sistemas de Análises por Injeção em Fluxo descritos usava-se uma seringa hipodérmica para injetar a amostra em um fluxo de reagente. Com o uso atual de válvulas, a operação se assemelha mais a uma inserção do que injeção propriamente dita.

O conceito FIA originalmente introduzido por Ruzicka e Hansen[2] e por Stewart e colaboradores[8], restringe a injeção da amostra em um fluxo contínuo de reagentes.

Bergamim e colaboradores[3] expandiram o conceito FIA, utilizando-se de um fluido carregador de amostras, o qual poderia ser um reagente ou uma solução quimicamente inerte. Esta proposição apresenta uma contribuição significativa para o desenvolvimento de sistemas FIA com configuração em confluência. Nesse mesmo ano, o conceito FIA foi novamente ampliado, quando Bergamim e colaboradores[9] e, independentemento, Mindegaard[10] propuseram sistemas com zonas coalescentes*, os quais utilizam

---

*** Do inglês: "Merging zones"**

inserções simultâneas de volumes de amostras e reagentes, em fluidos carregadores.

Em 1981, Stewart[4] definiu Análise por Injeção em Fluxo, FIA, como um processo analítico automático ou semiautomático, tendo como fundamento a inserção sequencial de volumes de soluções de amostras em um fluido não segmentado dirigido continuamente para um sensor, onde a espécie química de interesse é detectada.

O conceito FIA não pode ser considerado de maneira simples como inicialmente introduzido em 1975 por Ruzicka e Hansen, nem como proposto por Bergamim e colaboradores em 1979 e em 1981 por Stewart. Os avanços na tecnologia levaram a necessidade de expansão no conceito original já que a idéia de um fluido carregador escoando continuamente deve ser revista, para incluir os sistemas FIA com escoamento intermitentes[11-12] ou aprisionamento da zona da amostra*[13].

Em 1981, Reis e colaboradores[14] demonstraram que é possível selecionar apenas uma fração da zona dispersa** da amostra, introduzindo-a em um fluido carregador dirigido para o sensor. Desta forma, a idéia de uma zona de amostra bem definida e reprodutível precisa ser revista.

---

* Do inglês: "Zone trapping"

** Do inglês: "Zone sampling"

I.1.3 - Elementos Essenciais de um Sistema FIA

Um sistema básico de Análise por Injeção em Fluxo consta das seguintes partes:

a) Uma unidade propulsora que estabelece um fluxo constante das soluções. Pode ser uma bomba peristáltica, um sistema de pressão gasosa ou simplesmente a força da gravidade.

b) Um sistema de injeção que permite inserir em um fluxo um volume exato da amostra com boa repetibilidade de operação, sem interrupção do mesmo.

c) Um segmento de tubo, comumente chamado de reator, onde se dá o transporte das soluções, a mistura do reagente com a amostra e onde ocorre a reação ou o fenômeno responsável por alterar a propriedade monitorada. Este pode ser constituído de um tubo de material inerte reto ou em forma de serpentina ou bobina. Pode-se incluir também, câmaras de separação de fases para extração com solventes, enzimas imobilizadas, membranas de diálises, etc.

d) Uma cela de fluxo incorporada a um instrumento de medida (colorímetro, espectrofotômetro, potenciômetro, etc.), o qual traduz o sinal a um registrador ou a um microprocessador.

I.2 - MÉTODOS GERAIS PARA A DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA

Vários laboratórios utilizam espectrofotometria automatizada para manusear um grande volume de determinações exigida, por exemplo, no controle de qualidade de produtos ou em estudos agronômicos. A introdução dos sistemas Auto Analisadores da firma Tehcnicon, baseado no conceito de Skeegs[4], resultou na automação para a determinação de amônia, sem prévia destilação, pelo uso da reação da amônia com fenol e hipoclorito. As limitações deste método surgem do efeito interferente de várias espécies químicas e da depedência do sinal analítico em relação ao pH da amostra[15].

O desenvolvimento de um sistema mono-segmentado de análise em fluxo contínuo (MCFA)[16], demonstrou que se pode substituir o clássico sistema segmentado de análise em fluxo contínuo (SCFA) em muitas determinações, com vantagens na velocidade analítica, sensibilidade e consumo de reagentes e amostras. O erro é menor que 1% e as amostras podem ser introduzidas de modo a se obter uma velocidade de até 120 determinações por hora.

Alguns métodos de análise por injeção em fluxo (FIA) foram descritos na literatura para a determinação de amônia. Com detecção espectrofotométrica, o método envolvendo azul de indofenol é rápido (120 determinações por hora), mas o limite de detecção é um pouco alto; concentrações até 10^{-4}mol.l^{-1} podem ser determinadas[17-19]. Com o método envolvendo o reagente de Nessler, concentrações até 10^{-5}mol.l^{-1} podem ser determinadas a uma velocidade de 100 determinações por hora[20-21]. Com

detecção potenciométrica, um eletrodo "air-gap" foi utilizado. Este método é adequado para a determinação de baixas concentrações, até 10^{-6}mol.l^{-1}, mas é um pouco lento: 60 determinações por hora[2].

Outros trabalhos envolvendo determinação de amônia com diferentes sistemas de detecção, com e sem uso de sistemas de fluxo contínuo, podem ser encontrados na literatura[22-27].

A análise por injeção em fluxo (FIA), tem sido empregada com unidades de difusão gasosa[28-30] ou com destilação isotérmica[20], em determinação colorimétrica de amônia. Contudo, o uso da detecção condutométrica e suas aplicações à digeridos de Kjeldahl e à amostras ambientais, não tem sido descritas na literatura.

I.3 - CONDUTOMETRIA

A condutometria baseia-se na medida da condutância elétrica das soluções iônicas. A condutância L é definida como o recíproco da resistência R, isto é,

$$L = 1/R \qquad (1)$$

A condutância é expressa em ohms recíprocos (ohm^{-1}) ou mhos.

A condutância de uma solução é inversamente proporcional à distância d entre os eletrodos e diretamente proporcional à sua área, a. Ela também depende da concentração dos íons c_i por unidade de volume da solução e da condutância iônica equivalente λ_i desses íons;

$$L = a/d \sum c_i \lambda_i \qquad (2)$$

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, que dá uma informação quantitativa em relação às contribuições relativas dos íons, nas medidas de condutância. O valor de λ depende da concentração iônica total da solução e aumenta com a diluição. É comum tabelarem-se valores numéricos de λ^0, isto é, condutância iônica equivalente à diluição infinita. A tabela 1 mostra os valores de λ^0 para alguns íons[31].

A condutância iônica de uma solução depende da temperatura, sendo que seu valor varia, em média, ao redor de 2% por grau de variação da temperatura[32].

Vários procedimentos para a determinação de amônia por medidas de condutividade elétrica foram anunciados. Hendricks e colaboradores[33] descreveram um procedimento de destilação no qual, a amônia é coletada em ácido bórico ou sulfúrico e determinada pela mudança da condutividade do ácido. Shaw e Staddon[34] usaram uma cela de difusão para transferir a amônia de uma amostra para o ácido sulfúrico e sua subsequente determinação por condutividade. Em um procedimento similar, Friedl[35] determinou amônia pela variação na condutividade de um pequeno volume de ácido sulfúrico, quando ele absorveu amônia de uma amostra, em uma cela de difusão.

TABELA 1 - Condutâncias equivalentes limite de alguns íons, à 25°C.

Cátions	λ^+	*Ânions*	λ^-
H^+	350	OH^-	198
Na^+	50	Cl^-	76
K^+	74	Br^-	78
NH_4^+	73	I^-	77
Mg^{2+}	53	NO_3^-	71
Ca^{2+}	60	HCO_3^-	45
Zn^{2+}	53	$CH_3CO_2^-$	41
Hg^{2+}	53	SO_4^{2-}	80
Cu^{2+}	55	CO_3^{2-}	72
Fe^{2+}	54	$C_2O_4^{2-}$	74
Fe^{3+}	68	PO_4^{3-}	69

Nota: Todos os valores foram arredondados para a unidade mais próxima.

I.3.1 - FIA Aplicada a Medidas Condutométricas

Para ser adequado como sistema de medida na técnica de injeção em fluxo, o detector deve possuir alguns atributos claramente definidos, tais como: pequeno volume, baixo ruído, resposta rápida, alta sensibilidade, etc. A associação da condutometria com a técnica FIA, tem dado lugar a um novo método de injeção em fluxo[36], onde as amostras fluem através de uma cela de con-

dutividade miniaturizada. Para essa associação tem-se construído diversas celas, como mostradas na literatura, para estudos de dispersão[37] e viscosidade[38]. Entretanto, deve-se observar que ninguém utilizou a técnica FIA-condutométrica com a finalidade de quantificar uma espécie em uma amostra, mas somente em estudos como descritos acima. Talvez, isso se deva a baixa seletividade da técnica condutométrica, uma vez que tudo que é íon responde e contribui para o sinal. Neste trabalho, uma coluna de resina de troca iônica mista reduz a contribuição da condutividade da água e a diferença de condutividade é, portanto, proporcional ao conteúdo de amônia presente na amostra.

I.4 - IONIZAÇÃO DA AMÔNIA

Em uma solução aquosa contendo a base fraca, NH_3, os equilíbrios envolvidos são os seguintes:

$$NH_3 + H_2O \rightleftharpoons NH_4^+ + OH^-$$

$$2\ H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + OH^-$$

A solução contém as seguintes espécies: H_3O^+, OH^-, NH_3, NH_4^+.

As constantes dos equilíbrios envolvidos são:

$$K_b = [NH_4^+]\ [OH^-] / [NH_3] = 1{,}8\times10^{-5},\ \text{à } 25°C \qquad (1)$$

e

$$K_w = [H_3O^+]\ [OH^-] = 1{,}0\times10^{-14},\ \text{à } 25°C \qquad (2)$$

O balanço de massa:

$$C_b = [NH_3] + [NH_4^+] \qquad (3)$$

e o balanço de cargas,

$$[H_3O^+] + [NH_4^+] = [OH^-] \quad (4)$$

A equação (4) pode ser escrita como;

$$[NH_4^+] = [OH^-] - [H_3O^+] \quad (5)$$

Combinando as equações (3) e (5), obtemos;

$$[NH_3] = C_b - ([OH^-] - [H_3O^+]) \quad (6)$$

Substituindo os valores de $[NH_4^+]$ e $[NH_3]$ na equação (1), obtém-se;

$$K_b = ([OH^-] - [H_3O^+]) \times [OH^-] / C_b - ([OH^-] - [H_3O^+]) \quad (7)$$

Pode ser observado que a equação (7) é cúbica em relação a $[OH^-]$.

Equações simplificadas podem ser usadas nas seguintes condições:

a) Se $[H_3O^+] << [OH^-]$;

$$K_b = [OH^-]^2 / C_b - [OH^-] \quad (8)$$

A equação (8) é quadrática em relação a $[OH^-]$.

b) Se $[H_3O^+] << [OH^-]$ e também $[OH^-] << C_b$;

$$K_b = [OH^-]^2 / C_b \quad (9)$$

c) Quando a solução for aproximadamente neutra, isto é, $([OH^-] - [H_3O^+]) << C_b$;

$$K_b = [OH^-]^2 - K_w / C_b \quad (10)$$

Pode-se observar que as equações (9) e (10) também são quadráticas em relação a $[OH^-]$.

Da equação (9), obtemos;

$$[OH^-]^2 = K_b C_b$$

$$[OH^-] = (K_b C_b)^{1/2} \quad (11)$$

Combinando as equações (2) do ítem I.3 e (11), temos:

$$L = a/d\ [(K_b\ C_b)^{1/2}\ \lambda^0_{OH^-} + (K_b\ C_b)^{1/2}\ \lambda^0_{NH4^+}] \qquad (12)$$

Se a temperatura for constante, K_b também será constante, podendo ser colocada fora da raiz. Então, a equação (12) toma a seguinte forma:

$$L = K_1\ (C_b)^{1/2} \qquad (13)$$

onde K_1 incorpora os fatores geométricos da cela, os valores da condutância equivalente dos íons OH^- e NH_4^+ e, a constante de hidrólise, K_b.

II.1 - INSTRUMENTAÇÃO

Como unidade propulsora foi utilizada uma bomba peristáltica, modelo B-332 de fabricação Micronal, provida de tubos de "Tygon" de diferentes diâmetros internos.

A unidade de comutação para a introdução das amostras é semelhante àquele descrito na literatura[39]. Tubos de polietileno de 0,8 mm de diâmetro interno foram usados para a construção do sistema de fluxo.

Como unidade de detecção foi utilizado um condutivímetro, modelo B-330 de fabricação Micronal, equipado com uma cela de fluxo construída neste laboratório, como indicado na figura 1. A cela consiste, basicamente, de uma peça externa de aço inoxidável, que é um dos eletrodos. O outro eletrodo é um tubo de aço inoxidável, com 1,5 mm de diâmetro externo, o qual é colocado no orifício de 2,2 mm de diâmetro da primeira peça. O volume estimado no interior da cela é 60 µl. A cela é coberta com resina epóxi, para isolá-la do banho de água, onde ela é imersa.

A voltagem produzida pelo condutivímetro foi transferida para um registrador potenciométrico, ECB-RE 101.

Para a determinação de amônia em águas, pelo método colorimétrico manual[40], foi utilizado um espectrofotômetro B-382 de fabricação Micronal, equipado com celas de caminho óptico de 1,00 cm. As medidas foram obtidas em comprimento de onda igual a 660 nm.

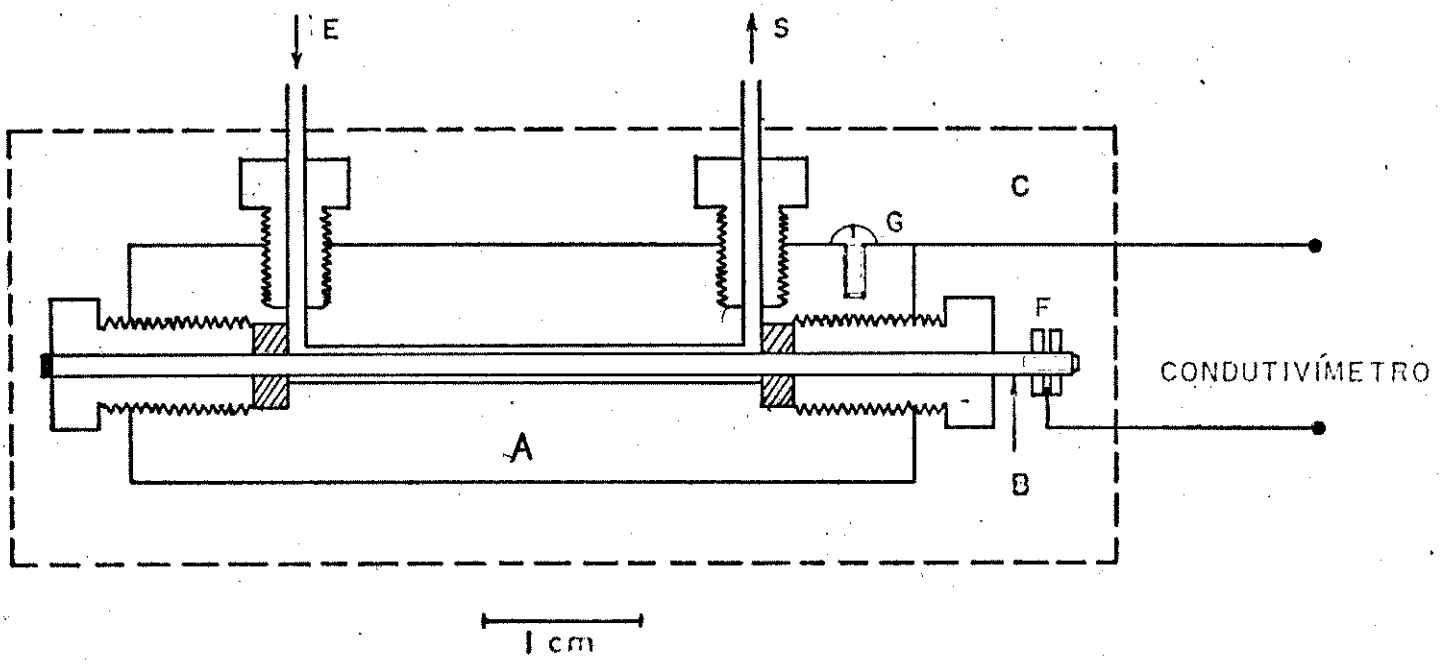

FIGURA 1 - Cela de fluxo para medida de condutância. **A**, corpo e um dos eletrodos de aço inoxidável. **B**, tubo de aço inoxidável (outro eletrodo). **C**, isolamento com resina epóxi. **E**, entrada do fluído. **S**, saída da solução. **F** e **G**, contatos dos eletrodos. Parafusos de "nylon" foram usados.

A cela de difusão mostrada na figura 2 é feita de duas peças de acrílico. Para os digeridos de Kjeldahl, cada peça tem uma ranhura de 0,5 mm de profundidade, 3 mm de largura e 5 cm de comprimento. A cela de difusão utilizada para a determinação de amônia em solos e águas apresenta uma ranhura de 1 mm, 4 mm e 10 cm de profundidade, largura e comprimento, respectivamente.

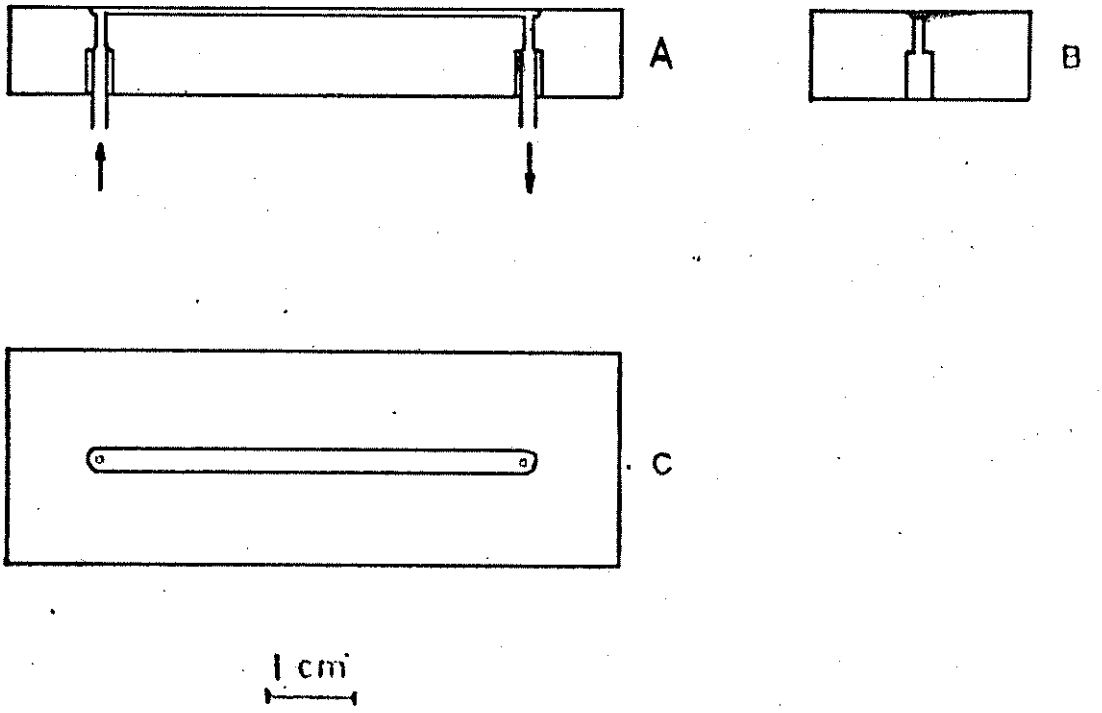

FIGURA 2 - Cela de difusão. **A** e **B**, corte longitudinal e lateral de uma das partes. **C**, vista superior.

II.2 - REAGENTES E PADRÕES

- Soluções de hidróxido de sódio: estas soluções, livres de carbonato, foram preparadas diariamente por diluição de uma solução de hidróxido de sódio 12 M, com água deionizada previamente fervida. As concentrações dessas soluções foram escolhidas de forma a se assegurar um excesso sobre o conteúdo de ácido das amostras. Todas as soluções continham 1% em EDTA, usado para evitar a precipitação de metais como Fe, Ca, Mg e Zn, geralmente presentes nas amostras. Para as amostras de tecido vegetal, fertilizante e ração, as concentrações de hidróxido de sódio foram, respectivamente, 3, 3 e 2 M. As concentrações de hidróxido de sódio utilizadas para a determinação de amônia em amostras de águas e extratos de solos foram, respectivamente, 0,1 e 0,2 M.

- **Soluções padrão de amônio:** essas soluções padrão, com concentrações variando de 5 a 25 mM para fertilizantes e 1 a 8 mM para tecidos vegetais e rações, foram obtidas por diluição adequada de uma solução estoque de 100 mM, preparada com sulfato de amônio.

Os padrões e as provas em branco para as amostras de tecidos vegetais e rações, foram preparados com a mesma concentração de ácido, sal e catalisador, na mesma composição média das amostras, após estas terem sido submetidas à digestão. Os padrões para as amostras de fertilizantes foram preparados pesando uma massa apropriada de sulfato de amônio e, submetendo-a ao mesmo procedimento de digestão utilizado nas amostras.

As soluções padrão de amônio para as amostras de águas, com concentrações variando de $2,0x10^{-6}$ a $2,0x10^{-5}$M, foram preparadas por diluição adequada de uma solução 1 mM (preparada a partir da solução estoque 100 mM).

As soluções padrão de amônio para as amostras de extratos de solos, com concentrações variando de $1,0x10^{-5}$ a $1,0x10^{-4}$M, foram preparadas por diluição adequada de uma solução 1 mM (preparada a partir da solução estoque, 100 mM), com uma solução de KCl 1M.

- **Solução de ácido hipocloroso:** para 40 ml de água deionizada, foram adicionados 10 ml de hipoclorito 5 %, disponível comercialmente. O pH foi ajustado entre 6,5 e 7,0 com HCl.

- **Soluções de sulfato manganoso, 0,5% m/v:** dissolveu-se 0,5 g de $MnSO_4.H_2O$ em 1 litro de água deionizada.

- **Reagente fenato:** dissolveram-se 2,5 g de NaOH e 10 g de fenol, em 100 ml de água deionizada.

- **Solução de cloreto de potássio, 1 M:** dissolveram-se 74,9 g de KCl em 1 litro de água deionizada.

II.3 - AMOSTRAS

O procedimento de digestão utilizado para as amostras de tecido vegetal e ração, e a composição da mistura digerida foram como segue: para 0,100 g da amostra foram adicionados 4 ml de ácido sulfúrico concentrado e 0,1 g de uma mistura de um sal (K_2SO_4) e um catalisador (HgO), na proporção de 10:1, respectivamente. A digestão foi feita em um bloco digestor, até que uma solução clara foi observada. O produto digerido resultante foi diluído a 50 ml.

Para fertilizantes, em 0,5 - 1,0 g da amostra, foram adicionados 10 ml de uma solução contendo 50 g de ácido salicílico em 1000 ml de ácido sulfúrico concentrado, 0,17 g de HgO e 3,7 g de K_2SO_4. A digestão foi feita da mesma maneira como descrito acima. O produto digerido resultante foi diluído a 250 ml.

O procedimento para a determinação de amônia em solos é feito como segue: para 10 g de solo são adicionados 100 ml de uma

solução de KCl 1 M. A solução é agitada aproximadamente 1 hora e, após a decantação, o sobrenadante é destilado e a amônia determinada por titulação.

As amostras de águas foram coletadas em frascos de polietileno, trazidas ao laboratório e analisadas no mesmo dia da coleta.

II.4 - SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO

O diagrama final do sistema FIA usado para determinação em amostras reais é mostrado na figura 3. Ele consiste de uma corrente de fluído doadora, definida pela confluência de uma solução de hidróxido de sódio-EDTA com uma corrente de água deionizada, onde a amostra é introduzida. A corrente receptora é constituída de água deionizada, que passa através de uma pequena coluna de resina de troca iônica mista, antes de entrar no banho. Esta coluna foi feita com uma seringa de plástico de 10 mm de comprimento, tendo como finalidade a elimição de espécies iônicas absorvidas durante o tempo de exposição da água deionizada ao ar. As duas correntes de fluxo passam por bobinas de equilíbrio térmico, imersas em um banho de água de 3 litros isolado, sem controle de temperatura. Nesse banho também estão imersas as celas de difusão e de condutância. O caminho entre a cela de difusão e a de condutância é um tubo de polietileno de 5 cm de comprimento e diâmetro interno de 0,8 mm. O volume de amostra introduzido foi fixado em 100 µl para os digeridos de Kjeldahl e 300 µl para

águas e solos. A sensibilidade foi ajustada por mudança do fundo de escala do condutivímetro ou do registrador potenciométrico.

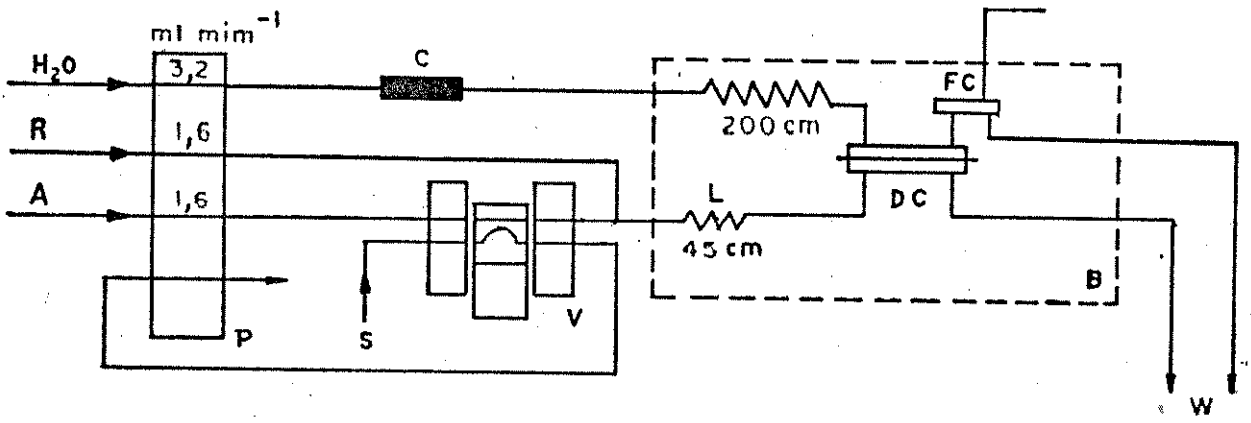

FIGURA 3 - Sistema de injeção em fluxo para determinação de amônia. **C**, coluna de resina de troca iônica mista. **P**, bomba peristáltica. **S**, entrada da amostra. **L**, bobina de reação. **V**, válvula de introdução da amostra. **B**, banho de água isolado termicamente. **DC**, cela de difusão. **FC**, cela de condutância. **W**, esgoto. **R**, vazão do reagente NaOH. **A**, vazão do carregador de água deionizada.

CAPÍTULO III - DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA EM DIGERIDOS DE KJELDAHL

III.1 - INTRODUÇÃO

O procedimento da digestão de Kjeldahl para a determinação de nitrogênio total é largamente empregado para alimentos, rações e no controle de qualidade de fertilizantes tão bem como para outras análises da área agrícola. A metodologia mais comum usa ácido sulfúrico concentrado na digestão, catalisada por mercúrio, selênio ou cobre, na presença de um sal, como o sulfato de potássio, adicionado para aumentar o ponto de ebulição da mistura. Sob estas condições, quase todos os compostos orgânicos nitrogenados são convertidos à amônia[41]. A amônia é então determinada por destilação seguida por titulação ou colorimetricamente. A determinação colorimétrica direta de amônia nos digeridos é possível e é implementada em analisadores automáticos, como no Auto Analisador da Technicon. Porém, a determinação colorimétrica direta sofre várias interferências, tais como mudanças na concentração do ácido, presença de espécies metálicas iônicas e turbidez na amostra[42].

Para evitar estas limitações, Carlson empregou difusão através de tubos de silicone, para separar a amônia da amostra da matriz digerida[43]. A amônia difundida foi transferida para um fluxo de água deionizada, na qual ela se ioniza. A condutância da solução resultante é medida e a concentração de nitrogênio é

obtida por comparação com padrões apropriados. Este método é simples porque não emprega reações químicas complexas, enquanto fontes potenciais de interferências no método colorimétrico, não contribuem nas medidas condutométricas. Porém, as medidas obtidas por este método estão baseadas no princípio do estado estacionário e incorporam limitações que diminui a velocidade analítica, aumentando o volume da amostra e o consumo de reagentes.

III.2 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários experimentos foram feitos de forma a se encontrar o sistema FIA mais favorável. Os resultados foram avaliados, considerando-se como os parâmetros estudados influenciaram a sensibilidade, a velocidade analítica e a reprodutibilidade do sinal. Para estes estudos, as soluções padrão simularam as amostras reais somente no conteúdo ácido (H_2SO_4 1,0 M) e no conteúdo do sal (1,6 g de K_2SO_4), para 100 ml. Uma solução de NaOH 3,0 M foi empregada como reagente confluente. A figura 4 mostra as curvas de calibração obtidas, variando o comprimente da bobina L (figura 3), do ponto de confluência à cela de difusão (A), e alterando o volume da amostra injetado (B). A reprodutibilidade dos sinais foi a mesma em todos os casos mas, a sensibilidade e o tempo necessário para o retorno do sinal à linha base mudaram. Um maior tempo é preciso para limpar um grande volume, embora se obtenha uma maior sensibilidade. Quando volumes maiores que 250 µl foram introduzidos, usando uma bobina L de 45 cm de comprimento, um si-

nal com pico duplo foi observado, mostrando que existe uma mistura deficiente entre a amostra injetada e o reagente. Por causa desta observação, a bobina L foi disposta em sucessivos pontos da mistura, semelhante àquele descrito anteriormente[28]. Uma bobina de 45 cm de comprimento e um volume de amostragem de 100 µl foram escolhidos, porque eles proporcionaram uma boa sensibilidade sem causar picos duplos, enquanto permitiram uma velocidade analítica de 100 amostras por hora.

A bobina L foi também usada para se obter o equilíbrio térmico entre o banho de água, a amostra injetada e o reagente. A temperatura do banho de água é inicialmente igual à temperatura ambiente. Desta forma, parte da diferença de temperatura existente entre a amostra e o banho de água, é eliminada durante o tempo gasto pela amostra, para fluir de seu recipiente ao volume de amostragem, através dos tubos delgados expostos à temperatura ambiente. Foi observado que sob estas condições, uma diferença de temperatura de 10°C entre a amostra em seu recipiente e o banho de água, não causa diferença significativa na altura do pico dos sinais.

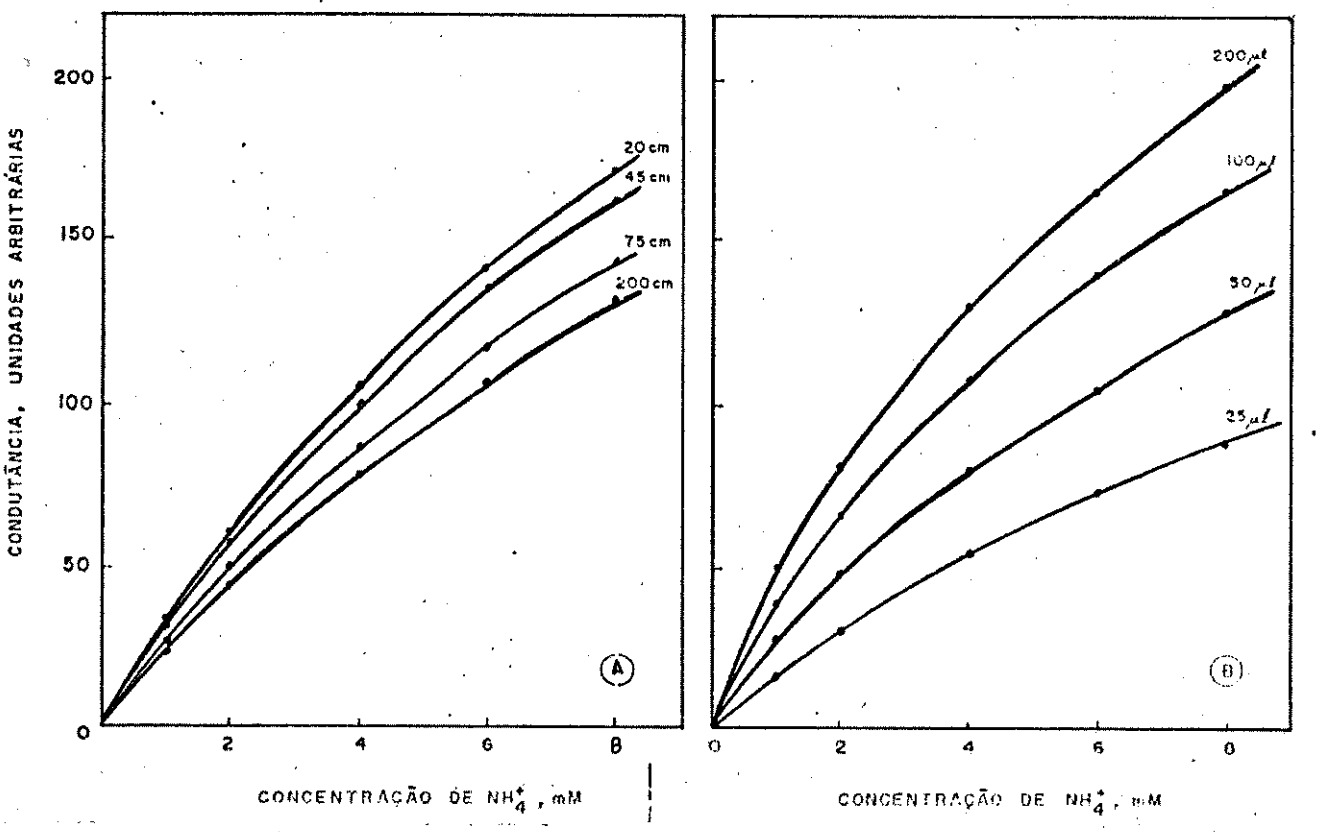

FIGURA 4.- Curvas de calibração para determinação de amônia. A, obtidas variando-se o comprimento da bobina L, de 20 a 200 cm (volume da amostra injetado de 100 µl, T= 25°C). B, variação observada alterando-se o volume da amostra injetado de 25 a 200 µl (L=45 cm, T= 27°C).

Quando a distância da saída da cela de permeação à cela de condutância foi alterada de 2 à 30 cm, a altura do pico do sinal diminui. Isto indica que o equilíbrio de ionização é alcançado rapidamente e a contribuição devido a dispersão física passa a predominar.

As vazões foram escolhidas em ordem, a manter uma relação de 1:1 entre a corrente doadora e a receptora. Isto permite manter uma igualdade de pressão em ambos os lados da membrana, evitando distorções na sua superfície, as quais podem afetar a reprodutibilidade dos sinais.

Foi observado que a diminuição das vazões das correntes receptora e doadora, mantendo a proporção de 1:1, aumenta a sensibilidade. Contudo, a velocidade analítica diminui consideravelmente. Por exemplo, mudando as vazões de 3,2 ml/min para 0,9 ml/min, um aumento por volta de 30% na altura do sinal para uma solução 1 mM de NH_4^+ foi observado, mas o tempo necessário para o retorno do sinal à linha base aumenta aproximadamente 300%. Se uma relação assimétrica entre as vazões das correntes doadora e receptora é empregada, isto é, diminuindo a velocidade de fluxo do receptor em relação a do doador, a sensibilidade é aumentada. A velocidade analítica é também reduzida, porém menos que na condição simétrica.

III.2.1 - Membrana

O analisador proposto neste trabalho usa uma fita de PTFE comercial, de baixo custo e comercialmente disponível, pro-

duzida para aplicações domésticas em vedação. Esta não é um produto com características químicas e físicas uniformes. A composição pode incluir cargas e, variações na cristalinidade do polímero e na espessura da fita podem ocorrer como resultado das modificações nos processos de produção industrial. Portanto, várias fitas de PTFE, de vários fabricantes, foram testadas na cela de permeação. Todas elas permitiram sinais reprodutíveis mas, uma mudança de ±20% na sensibilidade pode ser observada, de fabricante para fabricante. Entre fitas de um mesmo fabricante, foi observado uma mudança de ±10% na sensibilidade. Entretanto, uma vez selecionada, uma única membrana pode ser utilizada para até 2000 análises , sem mudanças drásticas na sensibilidade e reprodutibilidade.

III.2.2. - Interferências

Fontes potenciais de interferências na metodologia proposta podem ser derivadas da presença de espécies iônicas nos digeridos e de alterações na composição da mistura de digestão. Entre estas, a principal interferência pode surgir da alteração do conteúdo de ácido, visto que este é consumido nas reações da digestão e volatilizado parcialmente durante o procedimento de digestão. É sempre possível submeter padrões aos procedimentos de digestão para igualar as concentrações finais do ácido, com àquelas das amostras, no mínimo, com respeito a perdas por volatilização. Contudo, investigou-se a possibilidade de se preparar padrões sem a necessidade de submetê-los ao processo de digestão. A

figura 5A apresenta o efeito na medida de soluções 3,0 e 6,0 mM de NH_4^+, quando a concentração do ácido é variada. O efeito é pequeno, como pode ser observado e pode ser desprezado se os padrões tiverem o conteúdo médio de ácido presente nas amostras.
O efeito do conteúdo do sal foi investigado pela mudança na concentração do K_2SO_4 de 7 a 30 g/l, enquanto foi mantida constante a concentração do ácido. Na figura 5B uma diferença desprezível entre os sinais das soluções 3,0 e 6,0 mM de NH_4^+, é observada. Portanto, as soluções padrão do método proposto podem ser preparadas sabendo-se somente a concentração média do ácido. Esta pode ser determinada para cada procedimento, titulando algumas amostras após completar a digestão. A adição do sal, ácido e catalisador na prova em branco e nos padrões, pode evitar uma possível contaminação derivada dos reagentes.

Os padrões de fertilizantes foram preparados submetendo um sal puro, como o $(NH_4)_2SO_4$, ao procedimento de digestão. Isto porque uma contribuição da prova em branco pode também vir da contaminação por nitrato. Na presença de ácido salicílico, o nitrato é convertido à amônia, durante a digestão.

A tabela 2 mostra a influência de alguns metais que podem ser encontrados nos digeridos de Kjeldahl. As interferências foram testadas na proporção de 1:1 e 1:3 (NH_4^+: interferentes).

Como pode ser observado com estas proporções, somente o mercúrio (II) apresenta uma séria interferência. De acordo com o procedimento de digestão descrito na parte experimental, as concentrações finais de mercúrio nos digeridos são 0,9 ou 3,0 mM para fertilizantes ou tecidos vegetais e rações, respectivamente.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Uma investigação mais detalhada da interferência do mercúrio, revela que seu efeito é desprezível quando presente num nível de 3 mM, em uma solução de 2,0 e 6,0 mM de NH_4^+. O efeito de uma concentração de 6,0 mM de mercúrio no sinal analítico, pode ser eliminado usando o reagente alcalino com EDTA 3%. Contudo, foi observado que o tempo de limpeza aumentou significativamente, diminuindo a velocidade analítica. Uma outra maneira de contornar esta interferência é substituir o mercúrio por outro catalizador, como o selênio(IV) e o cobre(II), que não apresentam interferências.

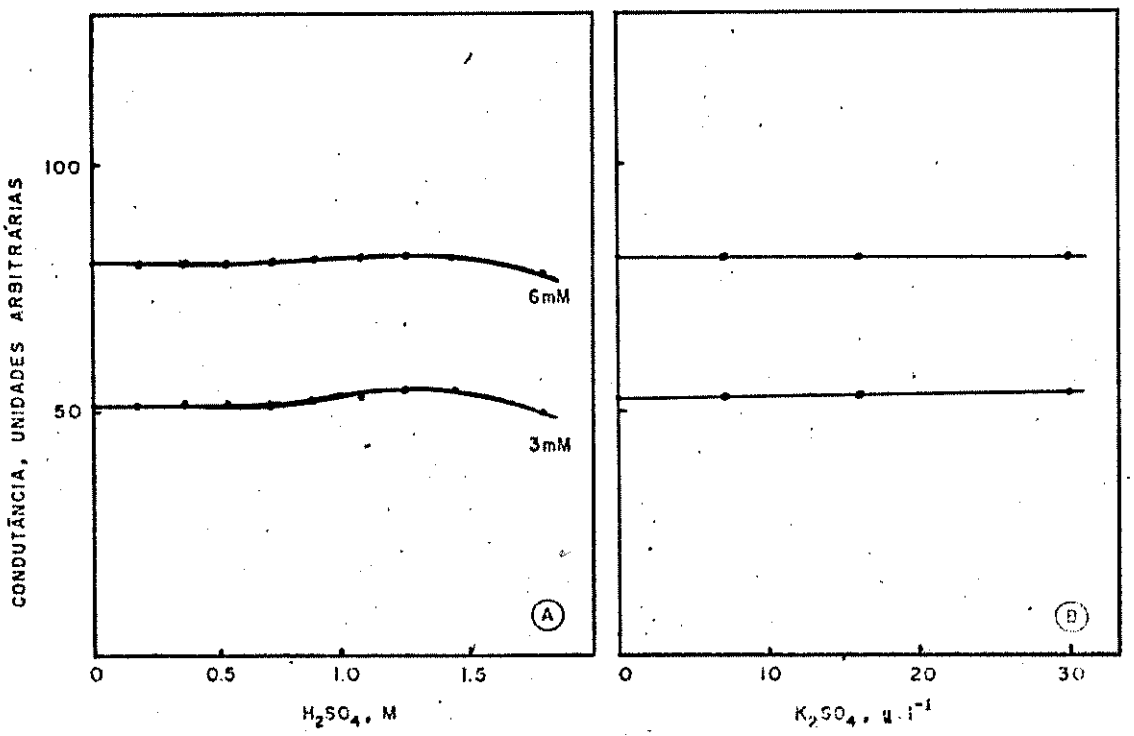

FIGURA 5 - Efeito da concentração do ácido sulfúrico e do sulfato de potássio no sinal analítico. O reagente utilizado é composto de NaOH 3M-EDTA 1%. Dados obtidos usando o sistema da figura 3.

TABELA 2 - Recuperação do sinal analítico na presença de interferências potenciais. **A**, solução 2 mM de NH_4^+ com 6mM do íon metálico. **B**, solução 6mM de NH_4^+ com 6mM do íon.

Recuperação do sinal analítico, %				
metais adicionados na amostra	sem EDTA		com 1% EDTA	
	A	B	A	B
Ca^{2+}	100,0	100,0	100,0	100,0
Fe^{3+}	100,0	100,9	99,2	100,9
Al^{3+}	100,0	100,3	100,0	100,2
Mg^{2+}	102,8	100,1	100,9	100,0
Zn^{2+}	100,0	99,6	100,8	100,2
Cu^{2+}	100,2	100,2	100,1	100,0
Se^{4+}	100,9	101,0	99,9	100,9
Hg^{2+}	70,0	73,9	99,5	98,6

III.2.3 - Temperatura

A figura 6 mostra o efeito da temperatura do banho de água, no sinal analítico de soluções 2,0; 3,5 e 6,0 mM de NH_4^+. Como pode ser observado, um aumento médio por volta de 4% na altura do pico por grau de mudança da temperatura é observado ao

redor de 25°C. Esta variação aumenta aproximadamente para 10% por grau de variação ao redor de 15°C. Em vista disso, um controle de temperatura de ±0,1°C, é necessário para assegurar uma reprodutibilidade melhor que 1%. Contudo, uma vez que as medidas possam ser obtidas rapidamente, a reprodutibilidade pode ser mantida usando somente um banho de água isolado, onde a temperatura interna varia muito lentamente. O banho de água isolado empregado permitiu um período de uma hora de trabalho, mantendo a reprodutibilidade do sinal dentro de 1%. Após este tempo, uma nova calibração é recomendada, de forma a se corrigir possíveis flutuações de temperatura. Alternativamente, mas com aumento do custo do analisador, um banho termostatizado pode ser empregado.

III.2.4 - Curvas de Calibração

As figuras 4A e 4B mostram que as curvas de calibração para o método proposto não são lineares. Todas as curvas obtidas durante o desenvolvimento do método condutométrico, mostraram o mesmo comportamento, mesmo com os diferentes parâmetros FIA e características das membranas. A determinação da concentração da amônia em amostras desconhecidas pode ser feita por interpolação gráfica, com aceitável precisão. Entretanto, a análise dos dados de calibração revelou que os pontos experimentais descrevem uma curva, cuja equação é $Y = A + B\,X^{C}$, onde Y é a altura do pico do sinal, X é a concentração da amônia, A, B e C são parâmetros ajustáveis. Os coeficientes de correlação de vários ajustes das curvas de calibração, variando a concentração de amônia de 1,0 a

8,0 mM, são iguais ou maiores que 0,9999. Para 12 curvas ajustadas, o valor médio do parâmetro C foi 0,5842. Este valor concorda com a hipótese que o comportamento observado da curva de calibração é devido à ionização do eletrólito fraco NH_3, em condições nas quais as equações (8), (9) ou (10), contidas no ítem I.4, são válidas.

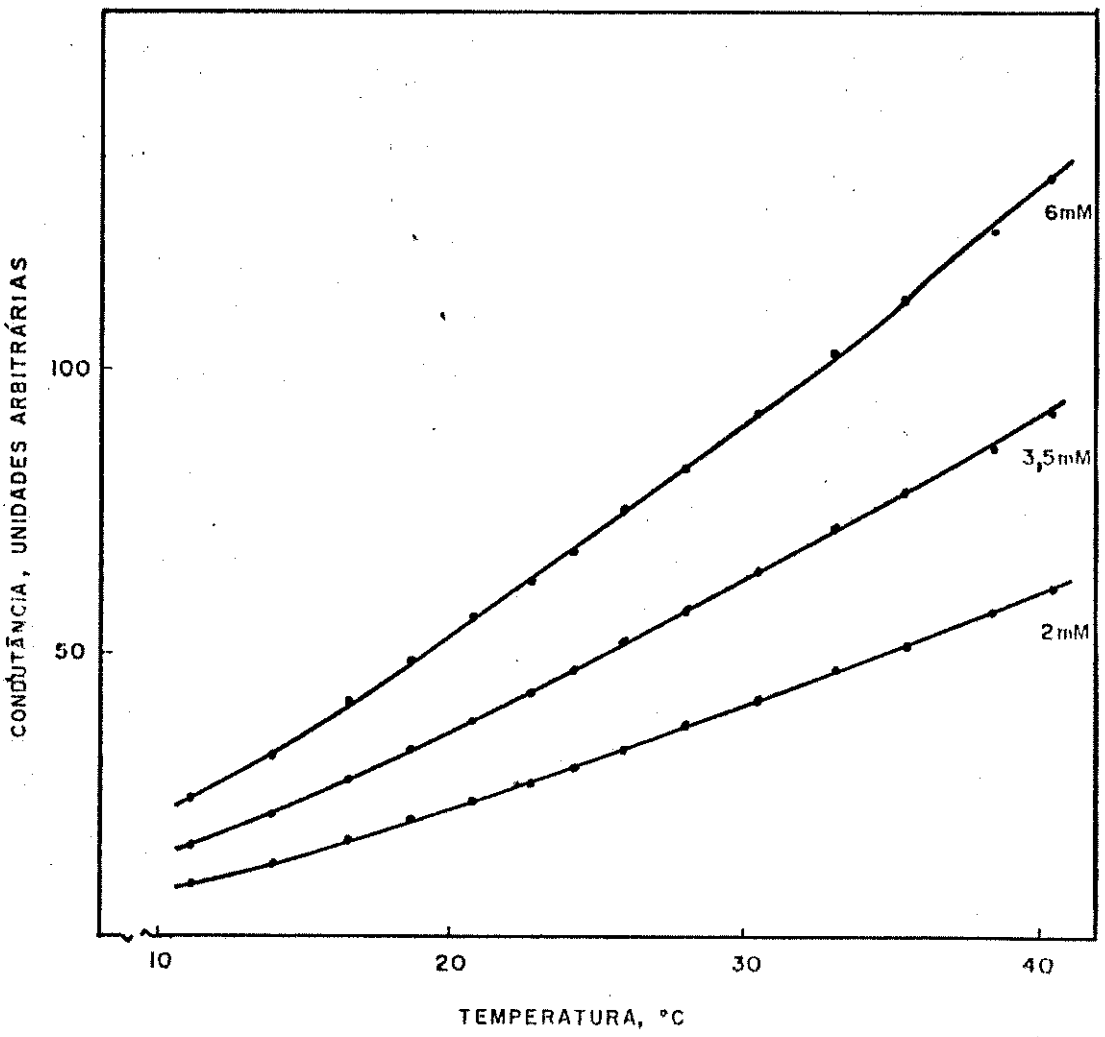

FIGURA 6 - Efeito da temperatura do banho de água no sinal analítico. Dados obtidos usando o sistema descrito na figura 3.

III.2.5 - Precisão e Exatidão

Os sinais de calibração e determinação de amostras são mostrados na figura 7. Uma observação desta figura, permite constatar a precisão e a velocidade analítica do método proposto. A tabela 3 mostra que os resultados obtidos com amostras reais, usando o método FIA-condutométrico, estão em concordância como aqueles obtidos pelo método aceito de destilação-titulação. De fato, nenhuma diferença estatística entre os resultados é observada a um nível de confiança de 1%. A precisão do método pode ser observada dos resultados dos tecidos vegetais. Esses resultados são a média de cinco determinações do mesmo digerido, usando cinco curvas de calibração obtidas em dias diferentes. A precisão média de 1% é obtida na variação de nitrogênio de 1 a 4%.

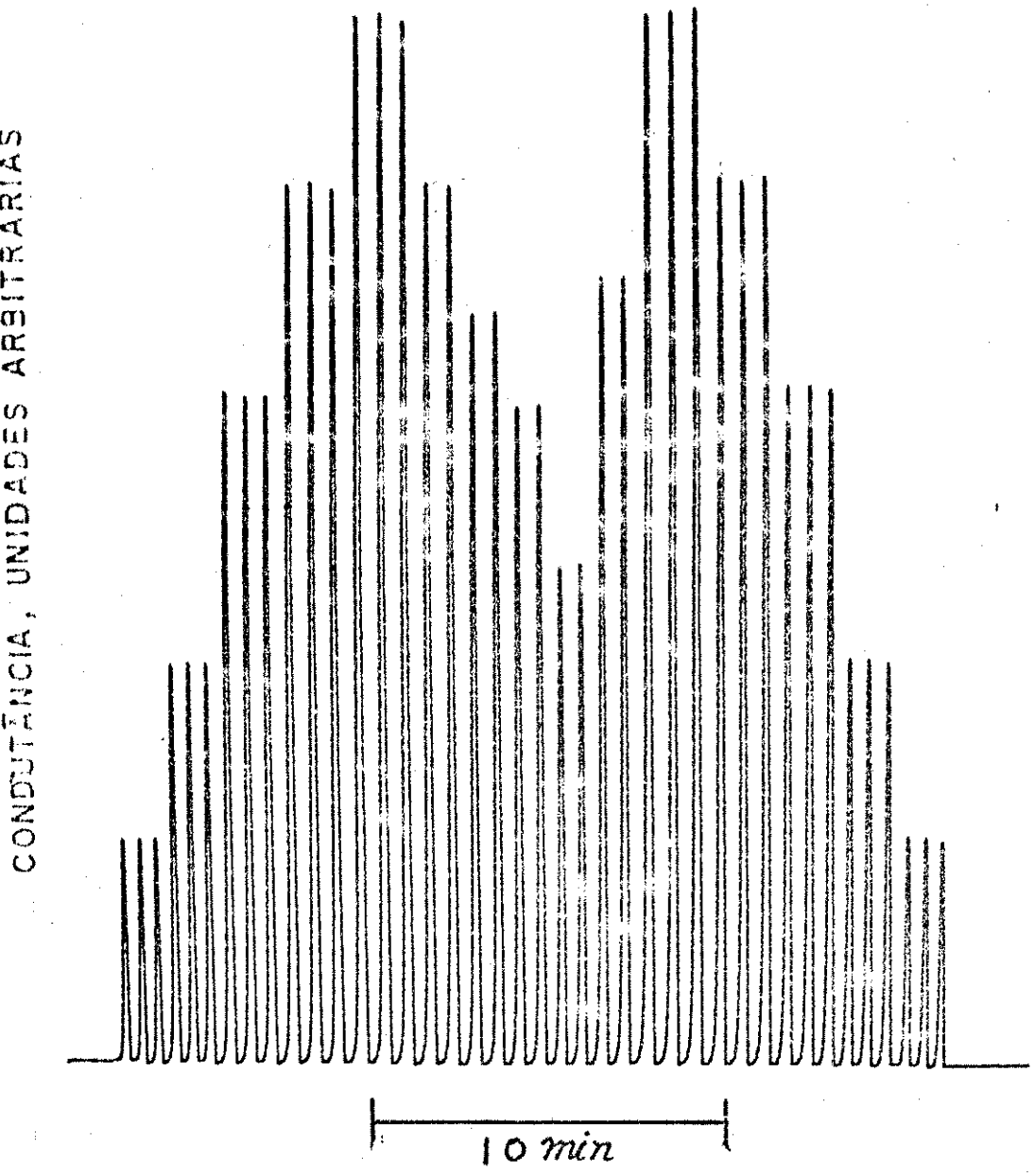

Figura 7 - Sinais de calibração e determinação de amônia em amostras de tecidos vegetais. Da esquerda para a direita 5 soluções padrão de amônia (1,0-2,0-4,0-6,0-8,0 mM), seguida de 5 amostras e as mesmas soluções padrão na ordem decrescente de concentrações.

Tabela 3 - Resultados comparativos para a determinação de nitrogênio total obtidos pelo método FIA-condutométrico e pelo método destilação-titulação em amostras submetidas à digestão Kjeldahl.

Nitrogênio, %		
amostras	*mét. destilação-titulação*	*mét. FIA-condutométrico*
R_1	2,60	2,61
R_2	3,78	3,69
R_3	3,45	3,59
R_4	5,45	5,44
V_1[a]	3,52 ±0,17	3,46 ±0,05
V_2[a]	1,83 ±0,14	1,86 ±0,01
V_3[a]	2,76 ±0,17	2,65 ±0,01
V_4[a]	3,18 ±0,17	3,25 ±0,03
V_5[a]	4,07 ±0,14	4,10 ±0,03
F_1	4,55	4,60
F_2	3,00	3,08
F_3	2,10	2,18
F_4	3,64	3,63
F_5	3,31	3,28

R, rações. **V**, tecido vegetal. **F**, fertilizantes.

a) Os resultados são a média de 13 determinações interlaboratoriais com o desvio padrão encontrado para destilação-titulação e o resultado médio com o desvio padrão de 5 determinações do mesmo digerido pelo método FIA-condutométrico.

CAPÍTULO IV - DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA EM ÁGUAS E SOLOS

IV.1 - INTRODUÇÃO

Baixos teores de amônia são frequentemente determinados por espectrofotometria, pelo método fenato-hipoclorito, onde um composto azul, indofenol, é formado pela reação da amônia, hipoclorito e fenol, catalisada por um sal manganoso[40]. Contudo, amostras coloridas, turbidez e interações entre a amostra e os reagentes podem afetar os resultados. Embora muitas destas interferências possam ser eliminadas por uma etapa de pré-destilação, o procedimento manual consome muito tempo.

A faixa de concentrações do método condutométrico proposto no capítulo anterior pode ser estendida para valores menores, livre de problemas de interferências e de turbidez. Para isto, deve-se variar o volume injetado de 100 para 300 µl e usar uma cela de difusão maior. Também, as vazões podem ser diminuídas para esse propósito. O restante do sistema FIA é o mesmo empregado para os digeridos. Os desvios padrões relativos são, em geral, menores que 1% para faixas de concentrações de amônia entre 2,0 e 6,0 µM de NH_4^+, e 70 determinações podem ser feitas por hora. Para as análises de amônia em águas, a exatidão foi boa quando os resultados foram comparados com o método padrão recomendado[40]. O método condutométrico também mostrou ser útil para determinação de amônia em solos.

IV.2 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

A utilidade do instrumento para determinação de amônia em amostras com baixos teores, depende de sua resposta à baixa concentração de amônio. A condutividade é uma função das concentrações dos íons amônio, hidróxido e hidrogênio. A adição de amônia diminui a concentração do íon hidrogênio, aumentando as concentrações dos íons amônio e hidróxido de acordo com o equilíbrio citado no ítem I.4. O íon hidrogênio apresenta uma mobilidade muito maior que o íon amônio; por isso, a variação na condutividade com a adição inicial de amônia é muito pequena. Isto pode ser visto, calculando a condutividade específica através das mobilidades iônicas dos três íons e do equilíbrio envolvido, amônia-água. O limite inferior da resposta é determinada pela mudança na condutividade elétrica, quando a amônia sofre hidrólise. Quando as vazões foram 3,2; 1,6 e 1,6 ml/min, respectivamente, para a água deionizada, o reagente NaOH-EDTA 1% e o carregador, o limite inferior foi aproximadamente 10^{-6}M de NH_4^+ na amostra. Isto é suficiente para muitas análises de rotina.

Uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M foi usada na análise de amônia em amostras de águas porque essas não apresentam caráter ácido acentuado. Um estudo da concentração do hidróxido de sódio mostrou que um aumento na sua concentração causa um aumento de sensibilidade, porém, a velocidade analítica é bastante reduzida. Uma solução de hidróxido de sódio de concentração semelhante à dos digeridos, afeta a reprodutibilidade dos sinais e, portanto, a precisão das medidas.

A coloração das amostras não interfere no método proposto, embora aminas voláteis que difundem através da membrana afetam significativamente as determinações. Para este teste foram preparadas duas soluções padrão de amônia de mesma concentração, ou seja, $8,0x10^{-6}M$. Em uma delas foi adicionada trietilamina, de concentração $0,36x10^{-3}M$. Ambas as soluções foram diluídas à 100 ml. Foi observado um sinal dez vezes maior para a solução contendo trietilamina, quando comparado com a solução contendo somente amônia.

A determinação de amônia em água do mar é possível, embora haja um decréscimo de 15% na sensibilidade, com a reprodutibilidade dos sinais analíticos também afetada. Para este estudo duas soluções de amônia de mesma concentração foram preparadas. Uma delas foi diluída com água do mar, simulada somente no conteúdo de cloreto de sódio, ou seja, 3,5 g para 100 ml. A outra solução foi diluída a 100 ml com água deionizada. Esse decréscimo de sensibilidade pode ser explicado pela obstrução dos poros da membrana pela solução salina, uma vez que, após sua leitura, o sinal da solução contendo somente amônia vai aumentando até atingir a altura anteriormente registrada. Esse aumento está relacionado com a limpeza da superfície da membrana.

O ajuste de várias curvas de calibração revelou que os pontos experimentais descrevem uma reta, cuja equação é, $Y = A + B\,X$, onde Y é a altura do pico do sinal, X é a concentração da amônia, e A e B são parâmetros ajustáveis. Isto mostra a tendência de que, em soluções muito diluídas, o eletrólito fraco, NH_3, tem de a se ionizar totalmente. Os coeficientes de correla-

ção de vários ajustes das curvas de calibração, variando a concentração de amônia de $2,0x10^{-6}$ a $2,0x10^{-5}$M, são iguais ou maiores que 0,9990.

A porcentagem de amônia difundida através da membrana foi de aproximadamente 15%. Esse valor foi calculado, injetando várias vezes a mesma solução de amônia e medindo a altura do sinal transiente. Após isso, essa solução foi colocada diretamente no fluxo receptor, obtendo um sinal maior que o anterior, isto é, quando a solução de amônia foi injetada. Os desvios padrões relativos de 10 medidas sucessivas de amostras de águas foram menores que 1%, o que reflete uma boa precisão das medidas. A figura 8 mostra os sinais de calibração para determinação de amônia em águas. Os dados contidos na tabela 4 mostram que existe uma boa concordância entre o método proposto e o recomendado.

O método condutométrico também mostrou ser útil para determinação de amônia em amostras de solos. A figura 9 mostra os sinais de calibração para essas amostras. Pode ser observada uma boa precisão das medidas. Note-se também o alto valor do sinal da prova em branco, originado pela difusão de íons provenientes da solução 1 M em KCl, utilizada na extração da amônia das amostras de solo. A tabela 5 mostra os resultados obtidos pelo método FIA-condutométrico e o método destilação-titulação. Não foi obtida boa concordância entre os métodos, quando se comparam esses resultados com os dos digeridos e águas. Isso se deve ao fato de que o método destilação-titulação, quando aplicado em amostras com baixa concentração, não apresenta boa precisão.

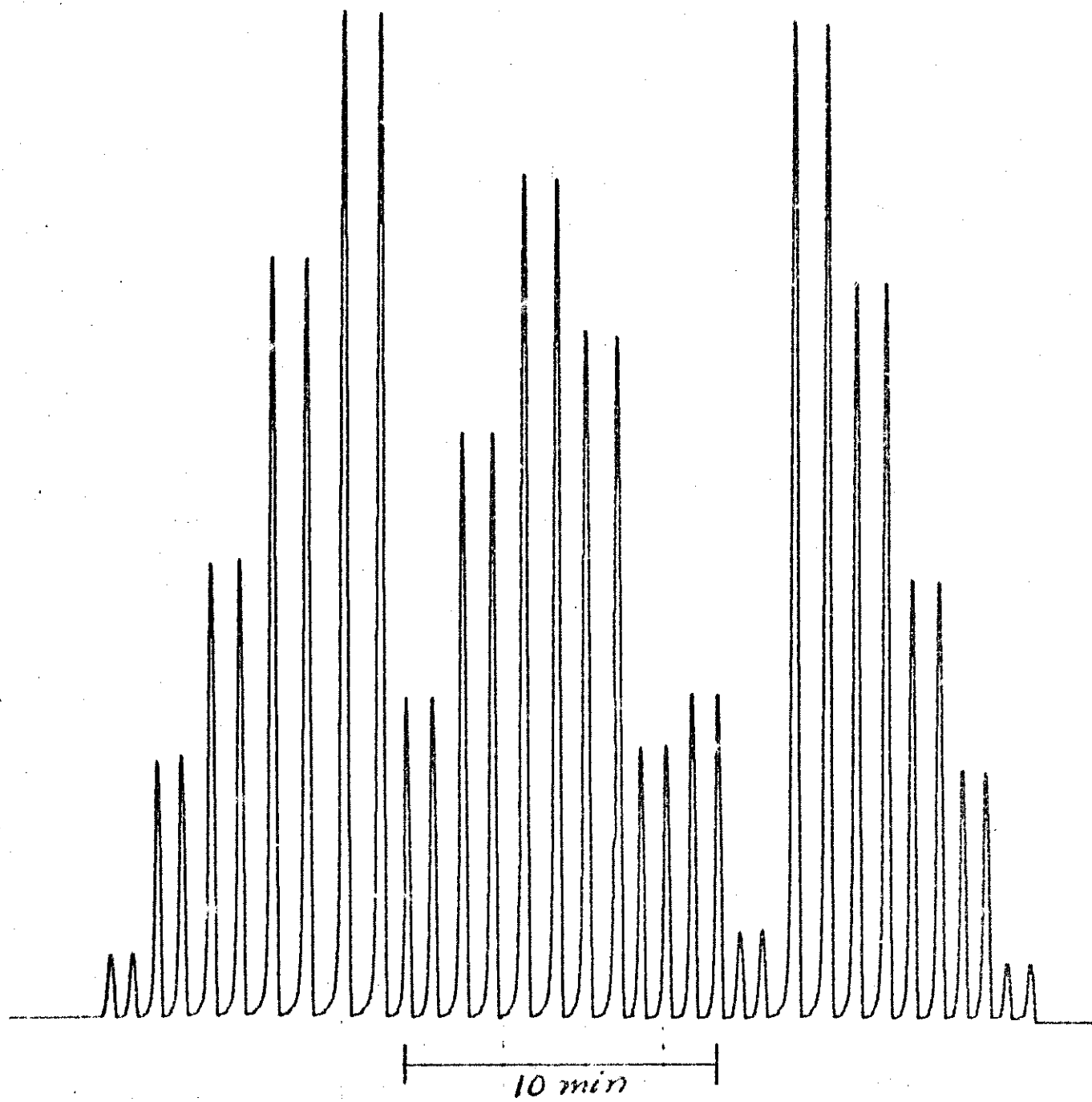

FIGURA 8 - Sinais de calibração e determinação de amônia em águas. Da esquerda para a direita 5 soluções de amônia (2,0-6,0-10,0-15,0-20,0 μM), seguida de 7 amostras e as mesmas soluções padrão na ordem decrescente de concentrações.

TABELA 4 - Resultados comparativos de determinação de amônia em águas pelo método FIA-condutométrico e o método colorimétrico.

- NH_4^+ (µM) -		
amostras	*método colorimétrico*	*método FIA-condutométrico*
D_1	2,6	2,7
D_2	4,1	4,0
C_1	6,6	6,4
C_2	18,8	18,3
R	7,2	7,0
L	15,0	15,0

D_1 e D_2 = destilada; C_1 e C_2 = chuva; R = rio e L = lagoa

TABELA 5 - Resultados comparativos entre os métodos para determinação de amônia em amostras de solos.

- N (µg/g de solo)		
amostras	*destilação-titulação*	*FIA-condutométrico*
S_1	6,8	6,5 ±0,1
S_2	7,9	7,9 ±0,1
S_3	28,6	30,6
S_4	107,7	109,5

S = amostras de solos

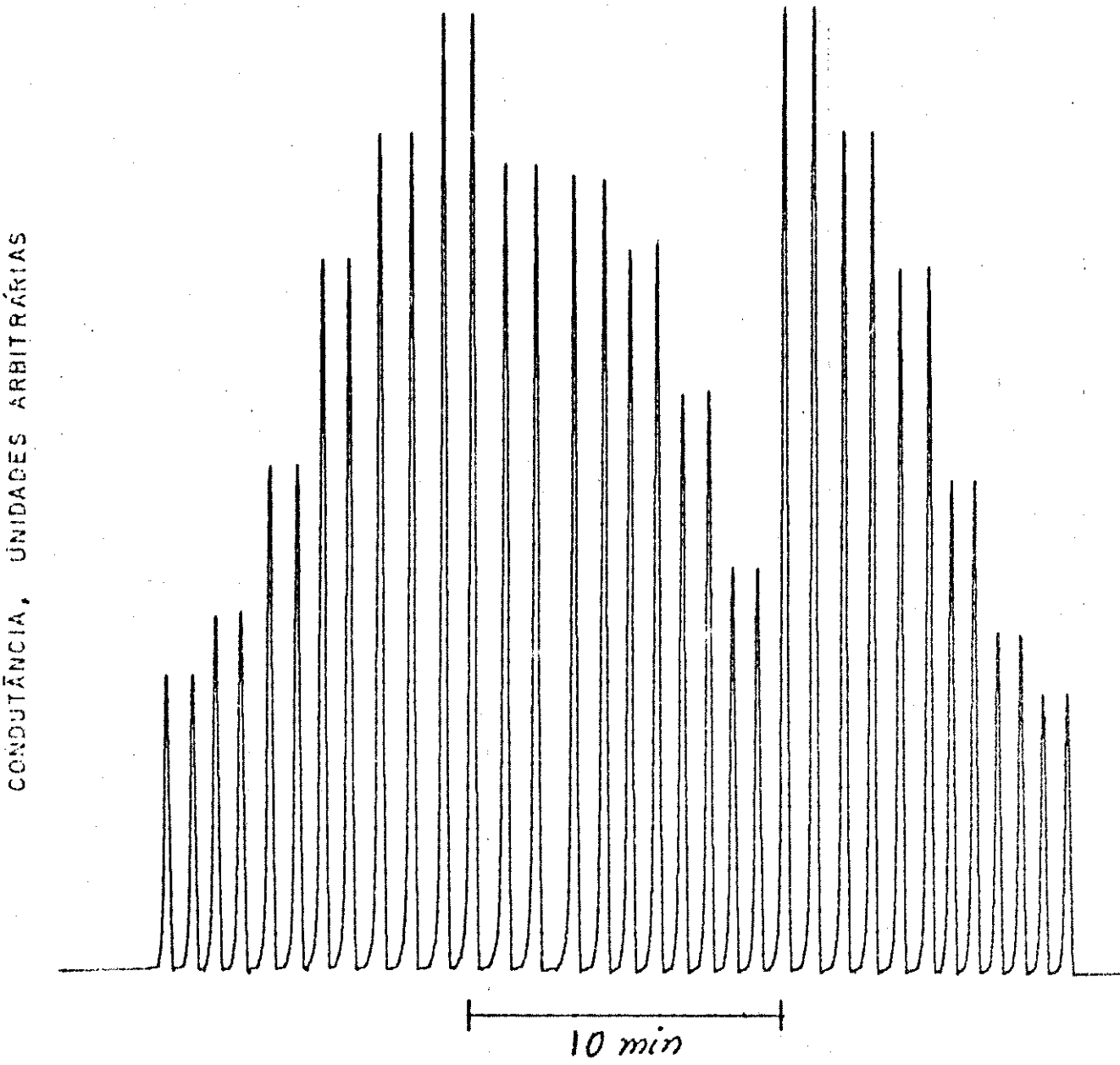

FIGURA 9 - Sinais de calibração e determinação de amônia em solos. Da esquerda para a direita 6 soluções padrão de amônio (0,00-0,01-0,03-0,06-0,08-0,10 mM), seguida de 5 amostras e as mesmas soluções padrão na ordem decrescente de concentrações.

CAPÍTULO V - DISCUSSÃO GERAL

A técnica FIA é uma importante inovação metodológica na química analítica que é caracterizada por sua simplicidade, baixo custo operacional e grande versatilidade. Os resultados obtidos por essa técnica são surpreendentes dadas as suas características de rapidez, precisão e exatidão. A incorporação da detecção condutométrica à técnica de análise por injeção em fluxo, confirma a potencialidade e a versatilidade dos sistemas FIA.

Neste trabalho, foi possível mostrar que os sistemas FIA são indispensáveis não somente na área de química analítica, mas também nas áreas ambiental e agronômica. Assim, os parâmetros estudados forneceram subsídios importantes que possibilitaram a aplicação do método condutométrico na determinação de amônia em digeridos de Kjeldahl, águas e solos. De acordo com suas excelentes características analíticas e, considerando-se a facilidade de implantação deste sistema, aliada a seu baixo custo operacional, espera-se que o método proposto seja empregado intensivamente.

O método FIA-condutométrico proposto neste trabalho mostra algumas vantagens sobre os métodos automáticos correntemente em uso para determinações de amônia, porque ele é de menor custo e emprega um reagente estável composto somente de NaOH e EDTA. Adicionalmente, a aparelhagem do analisador é mais simples do que aquela requerida pelos métodos colorimétrico e potenciométrico. As interferências de turbidez de solução ou espécies metálicas são desprezíveis.

Uma comparação com o trabalho original de Carlson, mostrou que o analisador de amônia desenvolvido neste trabalho, apresenta as seguintes vantagens:

a) Simplificação do instrumento.

b) Maior sensibilidade, uma vez que no método de Carlson o limite de detecção é de $10^{-5}M$, e aqui atingiu-se $10^{-6}M$.

c) maior velocidade analítica, ou seja, 100 determinações por hora, enquanto que no trabalho de Carlson é de, aproximadamente, 40 determinações por hora.

Somente uma precaução foi necessária durante seis meses de operação: uma limpeza periódica da cela de condutância para remover uma camada de material que provavelmente se origina da coluna de resina de troca iônica. Esta camada não afeta a reprodutibilidade dos sinais, mas pode reduzir a velocidade analítica pela metade, devido a adsorção de NH_3 ou NH_4^+ e a posterior liberação num processo lento. A principal desvantagem do método está na grande dependência do sinal analítico em relação à temperatura. Porém, este é um parâmetro que pode ser facilmente mantido sobre controle, pelo uso de um banho estabilizador de temperatura. Nesta situação, o aumento da temperatura de trabalho pode ser usado para se aumentar a sensibilidade do método, conforme mostrado na figura 6.

Observações preliminares indicaram que o método condutométrico, com algumas modificações, pode ser utilizado para determinação de nitrato, passando a amostra por uma coluna de zinco granulado para converter o nitrato à amônia. Essa coluna pode ser

facilmente adaptada no sistema de fluxo da figura 3, após a confluência do reagente com o fluxo carregador da amostra. A determinação de amônia em amostras de urina, leite e vinho é possível, com boa precisão e sensibilidade, sem pré-tratamento das amostras. O método também mostrou ser útil para a monitoração de dióxido de carbono produzido por culturas de bactérias, com a finalidade de se estudar a toxidez de algumas substâncias, tais como mercúrio, cádmio, cobre e compostos orgânicos. Para esse estudo uma única mudança no sistema de fluxo adaptado para a determinação de amônia em amostras de águas, é a substituição do reagente alcalino por um reagente ácido.

1. Skeggs, L.T.; Am.J.Clin.Pathol., *28*(1957)311.
2. Ruzicka, J. and Hansen, E.H.; Anal.Chim.Acta, *78*(1975)145.
3. Bergamin Fº,H.; Reis, B.F. and Zagatto, E.A.G.; Anal.Chim.Acta, *97*(1978)427.
4. Stewart, K.K.; Talanta, *28*(1981)789.
5. Stewart, K.K.; Beecher, G.R. and Hare,P.E.; Fed.Proc.Fed.Am. Soc.Biochem., *33*(1974)1439.
6. Mottola, H.A.; Anal.Chem., *53*(1981)1312A.
7. Valcarcel, M.; Luque de Castro, M.D.; Editora Imprenta San Pablo, Cordoba, Espanha, (1984)450.
8. Stewart, K.K., Beecher, G.R. and Hare, P.E.; Anal.Biochem., *70*(1976)167.
9. Bergamin Fº, H.; Zagatto, E.A.G.; Krug, F.J. and Reis, B.F.; Anal.Chim.Acta, *101*(1978)17.
10. Mindegaard, J.; Anal.Chim.Acta, *104*(1979)185.
11. Ruzicka, J. and Hansen, E.H.; Anal.Chim.Acta, *114*(1980)19.
12. Zagatto, E.A.G.; Jacintho, O.A.; Mortatti, J. and Bergamin Fº, H.; Anal.Chim.Acta, *120*(1980)399.
13. Krug, F.J.; Reis, B.F.; Giné, M.F.; Ferreira, J.R.; Jacintho, A.O. and Zagatto, E.A.G.; Anal.Chim.Acta, *151*(1983)39.
14. Reis, B.J.; Jacintho, A.O.; Mortatti, J.; Krug, F.J.; Zagatto, E.A.G.; Bergamin Fº, H. and Pezzenda, L.C.R.; Anal.Chim. Acta, *123*(1981)221.
15. Keay, J. and Menage, P.M.A.; Analyst, *94*(1969)895.
16. Pasquini, C. and Oliveira, W.A.; Anal.Chem., *57*(1985)2575.

17. Stewart, J.W.B.; Ruzicka, J.; Bergamin Fº, H. and Zagatto, E.A.; Anal.Chim.Acta, *81*(1976)371.

18. Stewart, J.W.B. and Ruzicka, J.; Anal.Chim.Acta, *82*(1976)137.

19. Hansen, E.H.; Krug, F.J.; Ghose, A.K. and Ruzicka, J.; Analyst, *102*(1977)714.

20. Zagatto, E.A.G.; Reis, B.F.; Bergamin Fº, H. and Krug, F.J.; Anal.Chim.Acta, *109*(1979)45.

21. Krug, F.J.; Ruzicka, J. and Hansen, E.H.; Analyst, *104*(1979) 47.

22. Meyerhoff, M.E. and Fraticelli, Y.M.; Anal.Letters, *14*(1981) 415.

23. Bernal, J.L.; del Nozal, M.J.; Deban, L. and Torremocha, I.; Analyst, *111*(1986)631.

24. Crowther, J. and Evans, J.; Analyst, *105*(1980)844.

25. Vijan, P.N. and Wood, G.R.; Anal.Chem., *53*(1981)1447.

26. Oh, M.S.; Phelps, K.R.; Lieberman, R.L. and Carroll, H.J.; Anal.Chem., *51*(1979)2247.

27. Lopes, M.E. and Rechnitz, G.A.; Anal.Chem., *54*(1982)2085.

28. Ruzicka, J. and Hansen, E.H.; " Flow Injection Analysis ", John Wiley and Sons, New York, 1981.

29. Van Der Linden, W.E.; Anal.Chim.Acta, *151*(1983)359.

30. Van Son, M.; Schothorst, R.C. and Den Boef, G.; Anal.Chim.Acta, *153*(1983)271.

31. Willard, H.H.; Merritt Jr., L.L. and Dean, J.A.; Métodos Instrumentales de Analisis, Compañia Editorial Continental, S.A., pg 884, 1977.

32. Ewing, G.W.; " Métodos Instrumentais de Análise Química ", Editora da Universidade de São Paulo, pg 280, 1972.

33. Hendricks, R.H.; Thomas, M.D.; Stout, M.and Tolman, B.; Ind. Eng.Chem., Anal. Ed., *5*(1942)23.

34. Shaw, J. and Staddon, B.W.; J.Exp.Biol., *35*(1958)85.

35. Friedl, F.E.; Anal.Bioch., *46*(1972)300.

36. Miller, T.; Adv. Instrum., *35*(1980)21.

37. Reijn, J.M.; Van Der Linden, W.E. and Poppe, H.; Anal.Chim. Acta, *114*(1980)118.

38. Betteridge, D.; Cheng, W.C.; Dagless, E.L.; David, P.; Goad, T.B.; Deans, D.R.; Newton, D.A. and Pierce, T.B.; Analyst, *108*(1983)1.

39. Bergamin Fº, H.F.; Reis, B.F.; Jacintho, A.O. and Zagatto, E.A.G.; Anal.Chim.Acta, *117*(1980)81.

40. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control federation, " Standard Methods for Examination of water and Wastewater ", 14 ed., New York, 1975, pg. 416.

41. Lowenheim, F.A.; Snell, F.D. and Ettre, L.S.; Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis, John Wiley & Sons, New York, 1972, pg 458.

42. Searle, P.L.; Analyst, *109*(1984)549.

43. Carlson, R.M.; Anal.Chem., *50*(1978)1528.