

5.01.01 - Agronomia / Ciência do Solo

MICRODESTILAÇÃO DIFUSIVA: UMA NOVA PROPOSTA PARA ANÁLISE DE NITROGÊNIO AMONIACAL EM MATRIZES DE FERTILIZANTESLeandro L. Lavandosque^{1*}, Marcos A. S. Brasil², Marcos Y. Kamogawa³

1. Estudante da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ-USP)
2. Doutor em Ciências pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), com Área de Concentração em “Química na Agricultura e no Ambiente”.
3. Professor da ESALQ-USP - Departamento de Ciências Exatas - Química

Resumo

A técnica de destilação Kjeldahl, metodologia oficial para análise de nitrogênio, apresenta aspectos negativos como extenso tempo de procedimento, elevado volume de reagentes, consumo de água e energia e, conseqüentemente, produção de elevado volume de resíduos. Em vista disso, o presente trabalho propõe uma nova proposta com o emprego de dispositivos de microdestilação difusiva na etapa de destilação Kjeldahl combinado com uma quantificação colorimétrica em 420 nm. O método possui ampla faixa de calibração, com $R^2 = 0,9989$, Limite de Detecção de $0,211 \text{ mg L}^{-1}$ de nitrogênio e Limite de Quantificação de $0,633 \text{ mg L}^{-1}$. A faixa linear foi definida entre o LQ e 100 mg L^{-1} , sendo o valor de até 30 mg L^{-1} considerado ideal e apresentou um coeficiente de variação de 2,56 % em um ensaio de precisão, e exatidão quando comparado aos valores de concentração obtidos através da macrodestilação Kjeldahl.

Palavras-chave: Química analítica; Ciências agrárias; Controle de qualidade.

Apoio financeiro: FEALQ/ESALQ

Trabalho selecionado para a JNIC: USP

Introdução

Com a crescente demanda por fertilizantes, surge a necessidade de realizar quantificações dos componentes dessas matrizes de forma mais ágil e barata, em vista da necessidade de controlar sua composição de forma mais eficiente, dimensionando os processos e aplicações de forma mais inteligente e assegurando a qualidade do produto tanto para comercialização interna quanto para exportação. O método de Kjeldahl, procedimento oficial para determinação de nitrogênio segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) no Brasil para análises de fertilizantes e corretivos agrícolas, visa transformar todas as formas nitrogenadas presentes na amostra em moléculas de amônio, onde estas poderiam ser convertidas em amônia com a alcalinização do meio (KJELDAHL, 1883), que através de um sistema de condensação (SÁEZ-PLAZA et al, 2013), é destinada a uma solução aceptora de ácido bórico onde será titulada com solução de ácido sulfúrico a uma concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (JONES, 1991). Essa metodologia fornece uma grande precisão e confiabilidade em seus resultados, porém a demora no processo de destilação, além do grande volume de hidróxido de sódio empregado inviabiliza a aplicação dessa metodologia para um elevado número de amostras.

Mais recentemente a técnica de microdestilação difusiva começou a ser utilizada em procedimentos analíticos que antes utilizavam a destilação convencional, reduzindo consideravelmente o tempo e o volume de soluções empregadas e resíduos produzidos, como para a determinação de metanol em biodiesel (SOARES; ROCHA, 2019) e álcool em substratos fermentados de cana-de-açúcar (BRASIL et al, 2020) em sistemas de menor escala, concentrando o analito no head-space do tubo com o objetivo de capturar a substância-alvo e promover uma reação colorimétrica, levando a uma rápida quantificação através de um espectrofotômetro UV-VIS, possuindo um alto grau de especificidade em suas reações por conta do próprio processo de destilação e do reagente empregado.

Em vista disso, o presente trabalho propõe o emprego de dispositivos de microdestilação difusiva na etapa de destilação Kjeldahl, onde combinado com uma quantificação colorimétrica ofereça melhorias ao processo, otimizando o tempo de análise e o consumo de reagentes.

Metodologia

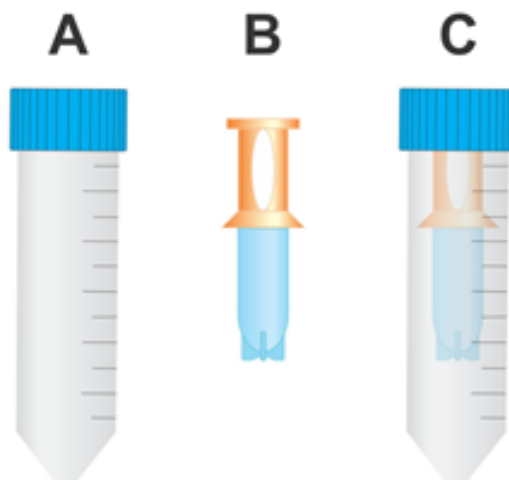
Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água destilada. O reagente de Nessler foi empregado como reagente colorimétrico, Como solução aceptora, foi preparada uma solução de ácido clorídrico (HCl) a $5.10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, e como agente alcalinizante foi preparada uma solução de hidróxido de sódio 500 g L^{-1} . As soluções amostrais utilizadas na validação, compostas por sulfato de amônio, nitrato de amônio, molibdato de amônio, citrato de amônio, acetato de amônio e fosfato de amônio também foram preparadas com reagentes de grau analítico.

O dispositivo para microdestilação difusiva (Figura 1) é composto por um tubo NEST® para centrífuga de 50 mL contendo a amostra (A), com um CrioTube CryoPure® Sarstedt® de 2 mL com rosca, contendo a solução aceptora suspenso em seu interior através de um aparato confeccionado por impressão 3D em plástico

PLA (Ácido poliláctico) (B), fixado a tampa do tubo maior com o auxílio de fita dupla-face 3M VHB® (C).

No CrioTube suspenso foram adicionados 2 mL da solução aceitadora, enquanto no tubo NEST® são colocados 10 mL da amostra a ser analisada, onde são adicionados também 2 mL de solução de hidróxido de sódio a 50 % (m/v) e o tubo é rapidamente fechado em seguida, sendo incubado a $(50 \pm 1) ^\circ\text{C}$ por 30 minutos em um banho-maria (MARCONI MA156), imersos a três centímetros do fundo. Os tubos NEST® podem ser reutilizados após lavagem com água e detergente, bem como os CrioTube, sendo recomendado a utilização de um banho ultrassônico nesse caso. Para a quantificação, foi utilizado um espectrofotômetro de absorção molecular (FEMTO 600 Pµs).

Figura 1: Dispositivo de microdestilação difusiva. A: Vista externa do dispositivo. B: Aparato para captura de amônia. C: Vista interna do dispositivo.



Fonte: Figura elaborada pelos autores (2021).

Após a incubação, todos os tubos da mesma bateria são abertos no mesmo momento e, conforme a sequência de leitura, são adicionados 100 µL do Reagente de Nessler em cada CrioTube, promovendo rapidamente uma reação cromófora formando um composto amarelado, que deve ser lido em seguida em um espectrofotômetro em 420 nm. Além das amostras, uma curva de calibração deve ser incubada e lida com a mesma bateria seguindo os mesmos procedimentos.

A proposta apresentada foi validada através de um teste comparativo entre os resultados obtidos através da microdestilação difusiva e os obtidos pelo método de Kjeldahl para as mesmas amostras. Foram preparadas soluções dos sais sulfato de amônio, nitrato de amônio, molibdato de amônio, citrato de amônio, acetato de amônio e fosfato de amônio, que tiveram uma alíquota digerida pelo procedimento de Kjeldahl (1883), com ácido sulfúrico concentrado, e quantificadas por titulação. Os valores de concentração em mg L^{-1} de nitrogênio, obtidos em relação as seis espécies e as duas metodologias, foram comparados através do teste T de Student bicaudal adotando 10 graus de liberdade, com o objetivo de apontar a correlação entre os dois tipos de análise realizados.

Resultados e Discussão

O método possui ampla faixa de calibração, com $R^2 = 0,9989$, Limite de Detecção (LD) de $0,211 \text{ mg L}^{-1}$ de nitrogênio e Limite de Quantificação (LQ) de $0,633 \text{ mg L}^{-1}$ (GIUDICE, 2016). O volume de Reagente de Nessler empregado foi otimizado para 100 µL, e a faixa linear foi definida entre o LQ e 100 mg L^{-1} (SKOOG, 2006), sendo o valor de até 30 mg L^{-1} considerado ideal (Figura 2).

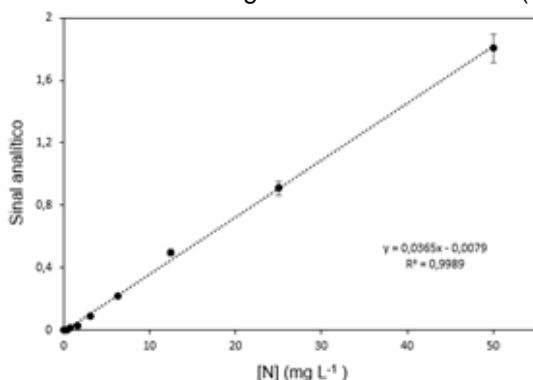


Figura 2: Faixa de calibração para determinação de nitrogênio amoniacal empregando o sistema de destilação difusiva.

O método proposto apresentou um coeficiente de variação de 2,56 % entre 13 replicatas de uma amostra de 25 mg L^{-1} de nitrogênio. Em teste comparativo com o método oficial de Kjeldahl, seus resultados foram comparados pelo Teste T de Student, apontando um valor-p de 0,870, o que indica uma relação entre os valores das análises pelas duas propostas (Tabela 1), apontando que os intervalos de confiança se sobrepõem de forma significativa.

Tabela 1: Comparação entre os métodos de destilação Kjeldahl e o proposto em mg L⁻¹.

Substância na solução	Microdestilação difusiva	Kjeldahl
Sulfato de amônio	9,06 mg L ⁻¹ ± 0,02	9,69 mg L ⁻¹
Nitrato de amônio	9,94 mg L ⁻¹ ± 0,03	10,20 mg L ⁻¹
Molibdato de amônio	9,30 mg L ⁻¹ ± 0,05	9,60 mg L ⁻¹
Citrato de amônio	7,70 mg L ⁻¹ ± 0,01	6,99 mg L ⁻¹
Acetato de amônio	10,82 mg L ⁻¹ ± 0,04	10,11 mg L ⁻¹
Fosfato de amônio	10,03 mg L ⁻¹ ± 0,02	9,60 mg L ⁻¹

Variações de ±5 % no volume de reagente, tempo de incubação e volume de amostra não promoveram impacto significativo no resultado da análise, que além de robusta é específica, não reportando sinal de interferência com a presença de leonardita ou íons sulfato, nitrato, molibdato, citrato, acetato ou fosfato na amostra.

Conclusões

O método de análise de nitrogênio amoniacal por microdestilação difusiva e quantificação pelo método de Nessler se mostra extremamente viável para a análise dessa espécie principalmente em laboratórios de rotina, onde a carga de análises é alta, sendo o tempo e o custo de cada procedimento crucial para o bom andamento do trabalho.

Com a possibilidade de incubar múltiplos dispositivos de forma conjunta, é possível realizar o processo de microdestilação difusiva, dentro das metragens internas da cuba utilizada para os ensaios, de até 60 amostras em um período de 30 minutos, período esse em que, pela metodologia oficial, seria suficiente apenas para destilar 6 amostras, representando uma quantidade 10 vezes maior de destilações em um mesmo intervalo de tempo.

Referências bibliográficas

KJELDAHL. **Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern**. Fresenius, Zeitschrift f. anal. Chemie 22, 366–382. 1883.

SÁEZ-PLAZA, NAVAS, WYBRANIEC, MICHALOWSKI, ASUERO. **An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control**. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 43(4). 2013.

DROWN, MARTIN. **Estimation of Organic Nitrogen in Natural Waters by the Kjeldahl Method**. Journal of Chemical Society, 56. 1889.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo/SP, 2006.

GIUDICE. **Parâmetros de uma validação analítica: Uma revisão bibliográfica**. Revista Acta de Ciências e Saúde, vol. 5, nº1. 130p-134p, 2016.

BRASIL, GOMES, KAMOGAWA, BASSO. **Ethanol determination in fermented sugarcane substrates by a diffusive micro-distillation device**. Journal of Microbiological Methods, v.178, Elsevier. 2020.

SOARES, ROCHA. **A simple and low-cost approach for microdistillation: Application to metanol determination in biodiesel exploiting smartphone-based digital images**. Talanta, v.199, p.285-289, Elsevier. 2019.

JONES. **Kjeldahl method for nitrogen determination**. Micro-MacroPublishing, Inc. Athens, Georgia/USA. 79p. 1991.