

FOR-075-DETERMINAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DE NITROGÊNIO TOTAL, VOLÁTIL E LIGNIFICADO EM AMOSTRAS DE SILAGEM POR INJEÇÃO SEQUENCIAL(1)

FERNANDO V. SILVA(2), GILBERTO B. SOUZA(3), GERALDO M. CRUZ(3), ANA RITA A. NOGUEIRA(3)

(1)Parte de Projeto de Mestrado do primeiro autor. Projeto financiado pela FAPESP e EMBRAPA.

(2)Estudante de Mestrado em Química-IQSC,USP-13560-970-São Carlos-SP

(3)Pesquisador Científico, Embrapa Pecuária Sudeste, C.P. 339, 13.560-970-São Carlos-SP, e-mail: anarita@cppse.embrapa.br

RESUMO: As principais formas nitrogenadas em amostras de silagem foram determinadas potenciométricamente empregando eletrodo tubular seletivo acoplado a sistema por injeção seqüencial. A utilização do procedimento proposto permitiu automatização das determinações, baixo consumo de amostras e reagentes e pequena produção de efluentes, enfatizando a versatilidade e potencialidade do emprego de métodos de análise em fluxo em laboratórios de nutrição animal.

PALAVRAS-CHAVE: eletrodo tubular, fermentação, técnica de laboratório

POTENTIOMETRIC DETERMINATION OF TOTAL, VOLATILE AND ADF NITROGEN IN SILAGE SAMPLES BY SEQUENTIAL INJECTION

ABSTRACT:

The main nitrogen forms in samples of silage were potentiometric determined by using selective tubular electrode coupled to a sequential injection system. The use of the proposed procedure allowed automation of the determinations, low samples and reagents consumption and small waste production, emphasizing the versatility and potentiality of flow analysis methods applied to animal nutrition laboratories.

KEYWORDS: fermentation, laboratory technique, tubular electrode

INTRODUÇÃO

A possibilidade de realizar uma avaliação rápida e confiável das condições de armazenamento do material ensilado é sempre requisitada por laboratórios que se destinam a estudos de nutrição e produção animal. Normalmente esta avaliação exige análises com procedimentos que possuem várias etapas de manipulação das amostras, sujeitas a contaminações externas e a uma maior probabilidade de erros (PARKER, 1978). Com a finalidade de simplificar o processo analítico, métodos de análise em fluxo têm se mostrado adequados. Dentre esses métodos, a análise por injeção seqüencial (SIA, *Sequential Injection Analysis*) proposta por RUZICKA & MARSHALL, em 1990, apresenta grande potencial para aplicação em laboratórios químicos (VAN STADEN & TALJARD, 1996). Baseia-se na aspiração seqüencial de alíquotas de amostra e reagente(s), que são direcionados para uma bobina de reação por meio de uma válvula seletora e uma bomba peristáltica. Apesar de ser um técnica

relativamente nova, tem despertado grande interesse devido às vantagens de sua configuração em linha única, facilidade de automatização e versatilidade.

Diversos procedimentos em fluxo têm sido reportados na literatura para determinação de nitrogênio nos mais variados tipos de matrizes (ALEGRET et al., 1989; LIU & SUN, 1997). Dentre estes procedimentos, o emprego de eletrodos tubulares íons-seletivos tem se destacado devido a simplicidade e versatilidade oferecida por estes sensores potenciométricos. Seu princípio de detecção está baseado na diferença de potencial associada à interação do analito de interesse ao sensor presente na membrana seletiva. O sistema proposto, acoplado a uma unidade de difusão gasosa, permitiu minimizar os problemas relacionados à matriz, possibilitando o monitoramento do N em diversos tipos de amostra e eliminando potenciais interferentes do fluxo onde a medida é realizada.

MATERIAL E MÉTODOS

Todas as soluções utilizadas foram preparadas empregando-se reagentes de pureza analítica e água destilada e desionizada como solvente.

Para as determinações foram necessárias as soluções tampão TRIS 0,01 mol/L (pH 7,5) + 0,10 μ mol NH_4^+ /L e hidróxido de sódio 0,50 mol/L, preparada pela dissolução de 20,0 g de NaOH em 1000 mL de H_2O . A curva analítica de calibração (0,50 - 5,0 mmol NH_4^+ /L), foi preparada através de diluições sucessivas de uma solução estoque 0,10 mol NH_4Cl /L.

Amostras de silagem de milho recém coletadas foram divididas em três subamostras. Imediatamente após a coleta N-volátil foi determinado em uma das alíquotas da amostra *in natura* (PARKER, 1978) e as duas porções restantes foram secas e moídas. Após digestão sulfúrica de uma das alíquotas, foi determinado o teor de N-total (AOAC, 1995), sendo N-lignificado quantificado após digestão sulfúrica do resíduo da determinação da fibra detergente ácido (FDA) (GOERING & VAN SOEST, 1970).

O módulo de análise do sistema por injeção seqüencial empregou duas bombas peristálticas de rotação variável; válvula seletora; microcomputador com interface eletrônica para acionamento da válvula e controle das bombas peristálticas; unidade de difusão gasosa; eletrodo tubular de membrana polimérica seletivo ao íon amônio (ALEGRET et al., 1989); potenciômetro equipado com um eletrodo de referência Ag/AgCl de junção dupla, com solução KNO_3 10 % (m/v) no compartimento externo; suportes de acrílico para adaptação dos eletrodos (tubular e de referência) e registrador potenciométrico (Fig. 1).

O método proposto se baseia no monitoramento potenciométrico da amônia nos extratos resultantes do tratamento das amostras. Em solução alcalina, a amônia se difunde através de uma membrana semi-permeável, sendo coletada pela solução TRIS pH 7,5 convertida a amônio e direcionada ao eletrodo tubular de membrana polimérica seletivo ao íon amônio, acoplado a um potenciômetro.

Para comprovação da exatidão analítica, amostras de silagem de milho (*Zea mays*) e de cama de frango foram determinadas pelo método proposto e paralelamente pelo método de destilação "Kjeldahl" (AOAC, 1995).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esse trabalho apresenta um procedimento por injeção seqüencial para monitoramento dos teores de nitrogênio volátil, total e lignificado em amostras de silagem. O emprego de sistema por injeção seqüencial acoplado a câmara de difusão gasosa, possibilita um aumento na exatidão das medidas, devido à

eliminação dos efeitos indesejáveis de potenciais interferentes iônicos não voláteis. Quando os resultados obtidos pelo método proposto foram comparados ao método oficial, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas (teste $t < 0,05$) ([Quadro 1](#)). O procedimento proposto apresentou consumo de ca de 150 μL de amostra e 6,0 mg NaOH por determinação (Kjeldhal ca de 10,0 mL de amostra e 8,0 g NaOH/determinação), freqüência analítica de 30 A/h, limite de detecção 0,15 mmol NH_4/L e um desvio $< 2,0\%$ entre as medidas.

CONCLUSÕES

O sistema permite a utilização de volumes reduzidos de amostra e reagentes, havendo uma baixa geração de efluentes, diminuição de custos com reagentes, aumento na sensibilidade, repetibilidade e velocidade na obtenção dos resultados. O método proposto, quando aplicado a amostras obtidas a partir de diferentes materiais ensilados, apresentou resultados concordantes ao procedimento analítico oficial (AOAC, 1995), demonstrando a viabilidade de sua aplicação em estudos dessa natureza.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALEGRET, S., ALONSO, J., BARTOLÍ, J., FÀBREGAS, E.M., Flow injection system for on-line potentiometric monitoring of ammonia in freshwater streams, *Analyst*, v-114, p. 1443-1447, 1989.
2. AOAC, Official methods of analysis of AOAC international, 16th ed., cap. 4, v-1, 1995.
3. GOERING, H.K., VAN SOEST, P.J., Forage fiber analysis. USDA Agric. Handbook nº 379, 1970.
4. LIU, R., SUN, B., Determination of ammonium by using a flow system with a diffusion cell coupled to an ammonium ion-selective sensor, *Anal. Letters*, v-30, n.7, p. 1255-1265, 1997.
5. PARKER, R.B., Methodology for determining quality of silage. National Feed Ingredients Association, Des Moines, Iowa, 1978, 33p.
6. RUZICKA, J., MARSHALL, G. D., Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays, *Anal. Chim. Acta*, v-237, p. 329-343, 1990.
7. VAN STADEN, J. F., TALJAARD, R. E., Determination of sulphate in natural waters and industrial effluents by sequential injection analysis, *Anal. Chim. Acta*, v-331, p. 271-280, 1996.

QUADRO 1. Teores de N-volátil, N-total e N-lignificado (N-FDA) em amostras de silagem. Determinados pelo método proposto (SIA) e Kjeldhal (AOAC, 1995), em relação a N total, em % de matéria seca.

Amostra	SIA			Kjeldhal		
	%N-NH ₃ /N-total	% N-FDA/N-total	% N-total	%N-NH ₃ /N-total	% N-FDA/N-total	% N-total
1	11,8 (±2,3)*	7,62 (±4,3)	1,01 (±2,5)	11,24 (±3,8)	7,42 (±1,03)	1,04 (±5,6)
2	16,1 (±1,4)	6,41 (±6,7)	3,82 (±1,8)	18,12 (±1,7)	6,93 (±9,95)	3,75 (±2,9)
3	16,8 (±1,0)	6,89 (±3,3)	2,93 (±7,3)	20,20 (±1,7)	7,31 (±4,65)	3,02 (±11,3)

(1) silagem de milho (*Zea mays*)

(2) silagem de cama de frango 60 % + citrus peletizada 40 %

(3) silagem de cama de frango 30 % + citrus peletizada 15 % + capim tanzânia 55 %

(*) d.p.r. , em %, baseado em três repetições.

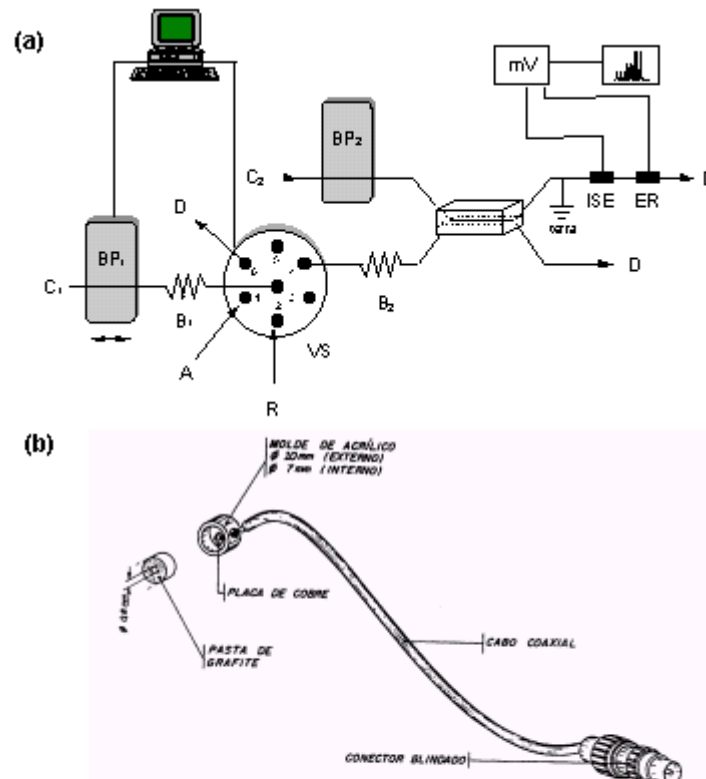


FIGURA 1. (a) Sistema por injeção sequencial utilizado na determinação de N em silagens. **A**, amostra (150 µL); **R**, solução de NaOH 0,50 mol/L (300 µL); **C**₁, fluxo doador (H₂O, 2,0 mL/min); **C**₂, fluxo receptor (solução tampão TRIS 0,01 mol/L + 0,10 µmol NH₄⁺/L, 0,70 mL/min); **VS**, válvula seletora; **BP**₁ e **BP**₂, bombas peristálticas; **B**₁ e **B**₂, bobinas (3,0 e 0,25 mL, respectivamente); **ISE**; eletrodo tubular íon-seletivo; **ER**, eletrodo de referência e **D**, descarte. (b) Detalhe do eletrodo seletivo (ISE).