

Comparação de dois métodos analíticos para determinação de N total em grãos de soja

NARDO, AMANDA E.^{1*}; MOREIRA, DIOGO A.¹; FARINE, EDUARDA L.¹, CAMARGO, IGOR S.P. de¹; JORDÃO, LUIZ T.²; LEITE, RODRIGO S.³; GERMANO, MARIANA G.³; KLEINERT, JOVIANO J.³; OLIVEIRA JUNIOR, ADILSON³. ¹Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina-UEL. ²Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá-UEM. ³ Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Caixa Postal 231, 86001-970, Paraná.
*e-mail: amandanardo@cnpso.embrapa.br

Introdução

Em amostras de tecido vegetal, quase todo nitrogênio (N) se encontra na forma orgânica, representada em maior proporção por aminoácidos e proteínas (MALAVOLTA et al., 1997). Assim, por se tratar de um elemento essencial na constituição do tecido vegetal, sua determinação é feita por análise química de amostras de tecido (SILVA, 2009). O método tradicionalmente utilizado em laboratório para determinação de N em grãos de soja é o Kjeldahl (AOAC, 1995), baseado em destilação-titulação. Este método é exato e preciso, tendo como princípio destilar em meio fortemente alcalino o NH_4^+ produzido na digestão com H_2SO_4 . O NH_4^+ condensado é coletado na solução de H_3BO_3 e titulado com uma solução de ácido forte (HCl ou H_2SO_4) (SILVA, 2009).

Esta técnica requer uma série de processos, sendo estes a moagem dos grãos de soja, pesagem, digestão, seguido de aquecimento e destilação, e finalmente a titulação das amostras. As desvantagens do processo incluem o uso de reagentes químicos em grande quantidade e, conseqüentemente, a geração de grande aporte de resíduos, que devem ser adequadamente tratados para evitar impactos ambientais negativos.

Alternativamente a esta metodologia, a análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR, do inglês, *Near-Infrared*), cujo equipamento possui bandas de absorção específicas (seletividade espectral), possibilita a determinação de diversos compostos químicos simultaneamente, sem a geração de resíduos e com tempo de análise relativamente reduzido (FOUNTAIN, 2003).

A utilização do NIR para a análise de tecido vegetal em amostras de grãos de soja pode gerar dados que sirvam como parâmetros para estabelecer critérios de avaliação em relação ao método padrão de análise de N (Kjeldahl). A grande vantagem do NIR é a leitura das amostras in-natura (método não-destrutivo), não sendo necessário os processos de preparo, digestão e leitura dos extratos utilizados no método padrão de determinação de N e que, por conseqüência, não gera resíduos. Por outro lado, é necessário ter uma curva de calibração que relacione a leitura do espectro e o teor de N, além de coletar grãos íntegros e devidamente limpos. Além disso, o custo de aquisição do equipamento é bastante elevado e a exatidão dos resultados, no caso da determinação de N, ainda é muito questionada.

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo comparar os métodos de determinação de N total em grãos de soja por destilação titulação (Kjeldahl) e NIR.

Material e Métodos

Para a comparação dos métodos foram utilizadas 96 amostras de grãos de soja coletadas em março de 2011, provenientes de experimento com adubação potássica e fosfatada conduzido na Faz. Experimental da Embrapa Soja, em Londrina-PR.

Para o procedimento padrão (Kjeldahl), foram utilizados balança analítica para pesagem e tubo de digestão de 90 mL. Os reagentes usados na digestão foram a mistura catalítica, composta de sulfato de potássio (K_2SO_4) e sulfato de cobre ($CuSO_4$) a 10:1, além de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado e peróxido de hidrogênio (H_2O_2 a 130 V). Para a destilação-titulação, utilizou-se hidróxido de sódio (NaOH) a 10 mol L^{-1} , ácido bórico (H_3BO_3) a 10 g L^{-1} , além de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ para a titulação. Como equipamentos analíticos foram utilizados blocos digestores e as amostras foram analisadas em AutoKjeldahl Unit K-370 Büchi, com amostrador automático K-371 (Büchi, Switzerland).

No processo de digestão foram usados 0,100g de amostra, em torno de 0,2g da mistura catalisadora, e 1,5 mL de peróxido de hidrogênio. Os tubos foram colocados no bloco digestor e aquecidos lentamente até $350 \text{ }^\circ\text{C}$, até obtenção de um líquido viscoso esverdeado (cerca de 1 hora). Em seguida, foram acrescentados 15mL de água deionizada em cada tubo, e os extratos diluídos foram transferidos para o equipamento AutoKjeldahl K-370 e analisados conforme o manual de operação do equipamento.

Para a análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) foram utilizados grãos de soja inteiros, cubeta de quartzo e equipamento analítico NIR – Antaris II da Termo Scientific (Termo Scientific, Califórnia - USA). Pelo fato desta análise não necessitar da moagem inicial do tecido vegetal, os grãos foram apenas colocado *in natura* em cubeta e analisados de acordo com instruções do fabricante.

Os resultados foram comparados por meio do teste de identidades de métodos, proposto por Leite e Oliveira (2002). Caso não existisse identidade entre os métodos, modelos de regressão linear foram ajustados para relacionar as informações.

Resultados e Discussão

Não houve identidade estatística entre os métodos testados (Figura 1A). Entretanto, em função do bom relacionamento entre os dois métodos foi possível estimar o teor de N em função do teor obtido com o NIR (Figura 1B) obtendo-se valores estatisticamente idênticos pelo teste proposto por Leite e Oliveira (2002).

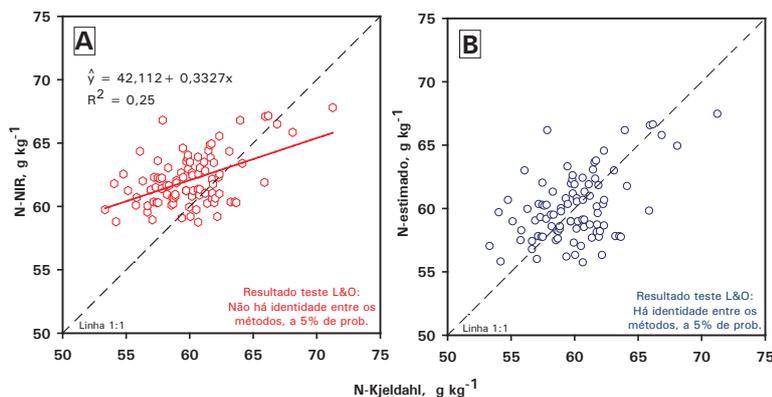


Figura 1. Modelos ajustados para os teores de N nos grãos de soja. A: comparação entre os teores de N pelo NIR (y) em função do teor pelo Kjeldahl (x - método padrão). B: identidade entre os teores de N estimados e corrigidos a partir da leitura do NIR e os determinados pelo método padrão (Kjeldahl).

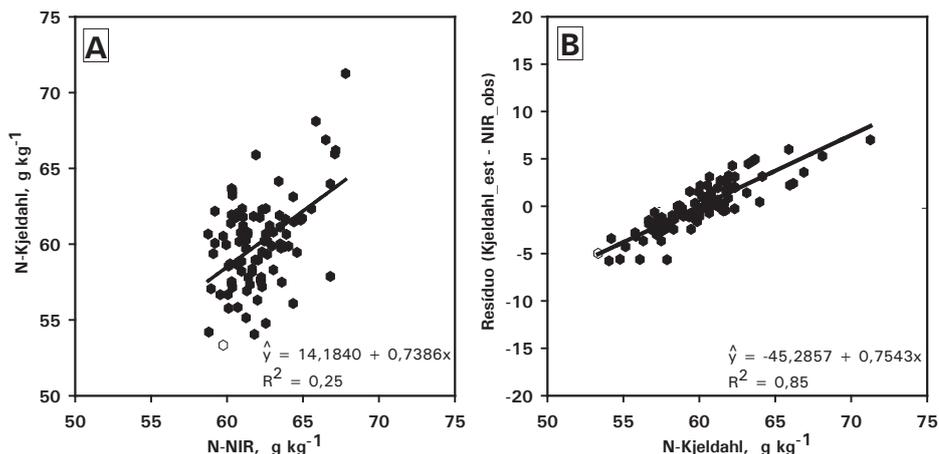


Figura 2. Modelos ajustados para os teores de N nos grãos de soja. A: ajuste entre os teores de N por Kjeldahl (y) em função do N pelo NIR (x). B: distribuição dos resíduos do modelo ajustado para estimar o teor de N (y) em função do teor pelo Kjeldahl (x).

Para realizar essa estimativa foi necessário, primeiramente, relacionar as determinações de N-Kjeldahl (variável dependente – y) em função do N-NIR (variável independente – x) (Figura 2A). Contudo, a partir do estudo de resíduos do modelo ajustado na Figura 2A, verificou-se a existência de um relacionamento entre os valores residuais (y) e os respectivos teores de N-Kjeldahl (x), o que permitiu ajustar um modelo linear que descrevesse a variação sistemática entre os métodos de determinação de N nas amostras de grãos (Figura 2 B). Portanto, a partir das equações ajustadas na Figura 2, os teores de N foram estimados e corrigidos em duas etapas: primeiramente utilizando a equação do modelo ajustado na Figura 2A. Em seguida, o teor estimado foi corrigido a partir da equação do modelo ajustado na Figura 2B. Dessa forma, na Tabela 1 estão apresentadas as equações utilizadas para estimar o teor de N em grãos de soja, a partir da leitura do NIR.

Tabela 1. Equações utilizadas para estimar o teor de N nas amostras de grãos de soja.

Equações
1: N-estimado = 14,184+0,7386*N-NIR
2: N-estimado/corrigido = N-estimado+(-45,288+(0,7543*N-estimado))

Conclusões

O método de análise por NIR pode ser utilizado para substituir a análise convencional de N em grãos de soja, por constituir um método rápido, de boa relação custo-benefício. No entanto, a comparação e a associação entre os resultados desses métodos devem ser realizadas a partir de um maior número de amostras, para refinar os ajustes e obter maior confiabilidade nas estimativas.

Referências

LEITE, H.G.; OLIVEIRA, F.H.T. Statistical Procedure to Test the Identity of Analytical Methods. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.33, n.7-8, 2002.

SILVA, F.C. Análise química de tecido vegetal. In: **Manual de Análises Químicas de Solo, Plantas e Fertilizantes**. 2 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.p.193-204.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. Funções. In: **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba – São Paulo: Universidade de São Paulo, 1997. 67p.

FOUNTAIN, W.; DUMSTORF, K.; LOWELL, A.E.; LODDER, R.A.; MUMPER, R.J. Near-infrared spectroscopy for the determination of testosterone in thin-film composites. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.33, n.2, p.181-189, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16 ed. Arlington: AOAC, 1995, v. 1.