

Otimização da determinação espectrofotométrica de Nitrogênio em feijão como alternativa à metodologia de Kjeldahl

Fernanda R. M. Abreu¹ (IC), Diego A. S. Costa² (IC)*, Diego M. Souza³ (TC), Ivã Matsushige³ (TC), Wesley G. O. Leal³ (TC), Beáta E. Madari³ (PQ), Priscila Z. Bassinello³ (PQ), diego.armando_@hotmail.com

¹UnUCET, Universidade Estadual de Goiás (UEG), BR 15, Km 9, Anápolis /GO, 75001-970

²Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, Goiânia/GO, 74001-970

³EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, GO 462, Km 12, Sto. Antônio de Goiás/GO, 75375-000

Palavras Chave: condições experimentais, operacionalidade, teste *t*, teste *F*.

Introdução

Na determinação de Nitrogênio (N), utilizam-se dois principais métodos: (i) o método de Dumas, que se baseia na combustão seca da amostra, seguida da determinação dos gases nitrogenados formados; atualmente este método é realizado de forma automatizada por equipamentos denominados Analisadores Elementares, (ii) o método de Kjeldahl, que se baseia na digestão úmida da amostra por ação de H₂SO₄ e catalisadores, seguida da destilação do N-NH₃, que é determinado por uma titulação ácido-base.¹ As vantagens do método de Dumas são: possibilidade de automação, propiciar uma análise rápida, gerar pouco resíduo e elevada precisão; contudo, para vários laboratórios o método é inviável pelo alto custo de aquisição e manutenção do equipamento. Assim, mesmo sendo laborioso e gerar grande quantidade de resíduo, o método Kjeldahl é o mais utilizado por não demandar alto investimento e apresentar baixo custo de análise. Recentemente tem sido explorada a determinação espectrofotométrica² do N como uma alternativa mais operacional ao método Kjeldahl.

No Laboratório de Análise Agroambiental (LAA) da Embrapa Arroz e Feijão, por exemplo, foram solicitadas cerca de 4000 determinações de N (em amostras de Feijão e tecido foliar) no ano 2011, destas, apenas 2500 foram realizadas no mesmo período. Por isto, neste estudo, otimizaram-se as condições experimentais da determinação espectrofotométrica de N em Feijão. Comparou-se a operacionalidade, a média dos teores de N, e a precisão entre os métodos de Berthelot (reação com indofenol) e de Kjeldahl.

Resultados e Discussão

Pesou-se 100 mg de amostra moída de Feijão em tubos micro-Kjeldahl, adicionou-se 1 g de K₂SO₄ e 3,0 mL de H₂SO₄. A diferença na digestão entre os métodos de Kjeldahl e o de Berthelot, é que no primeiro utilizou-se como catalisador 0,1 g de CuSO₄, no segundo 35 mg de selênio elementar (Se) e 2,0 mL de H₂O₂ a 30%. Esta substituição foi necessária para obter digeridos incolores. A digestão ocorreu em bloco digital, onde os tubos permaneceram por 3 horas a 360°C.

Os digeridos, para o método de Berthelot, foram diluídos com 40,0 mL de água deionizada e o

volume final determinado pela densidade (1,08 g.cm⁻³) do diluído. Para que os extratos apresentassem absorvâncias na região linear do método, seriam necessárias alíquotas de 50,0 µL para um volume final de 9,5 mL nas cubetas. Isto provocou um alto desvio para o método, por isso, optou-se por uma diluição intermediária dos extratos de 1:10.

A determinação espectrofotométrica dos íons NH₄⁺ baseou-se na reação de Berthelot, na qual é desenvolvida coloração azul de indofenol. As leituras foram realizadas a 685 nm, caminho óptico de 16 mm, e a calibração por ajuste linear apresentou r² = 0,9992 na faixa de 25 a 150 ppm.

Foi necessário a utilização de um tampão para manter o pH na faixa ótima para a reação. Foram utilizados dois reagentes colorimétricos: (i) R1 com 16,7 g.L⁻¹ de salicilato de sódio; 28, 2 g.L⁻¹ de Na₂HPO₄.7H₂O (tampão); 0,5 g de Nitroprussiato de sódio, com pH ajustado para 13,2; e (ii) R2, hipoclorito de sódio 0,006%. Foram misturados 500 µL de extrato diluído, 8,0 mL de R1, e 1,5 mL de R2.

Através do teste *F* e teste *t*, com *v* = 4 e 95% de confiança, não foi observado diferença estatística entre as variâncias e os teores de N_i de 2/3 das amostras utilizadas, obtidos pelos dois métodos, Tabela 1. Substituindo o método de Kjeldahl, estima-se um aumento no rendimento de 80 para 200 determinações semanais/analista e diminuiria o custo dos reagentes de R\$2,20 para R\$1,35/análise.

Tabela 1. Comparação estatística dos métodos estudados

Feijão/Método	N (g.kg ⁻¹) via		Estatística	
	Kjeldahl	Berthelot	<i>t</i> calc.	<i>F</i> calc.
Rudá	29,57	30,56	3,64	-
BRS Esplendor	34,47	35,15	2,46	-
Branco Yoki	38,28	38,43	0,54	-
Variância	0,3	0,46	-	1,51

Conclusões

A determinação de N pelo método de Berthelot em Feijão está sendo utilizada no LAA por demonstrar precisão equivalente e operacionalidade superior ao método de Kjeldahl. Será avaliada esta substituição para outros tipos de tecido vegetal.

¹Kalra, Y. P.; *Handbook of reference methods for plant analysis*, New York: CRC, 1998.

²Raymond, B. W.; Michael, E. M. e Philip R. Allen. *J. Agric. Food. Chem.* 1996, 44, 1804.