

DILERMANDO DOURADO PACHECO

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA
DE NITRATO EM EXTRATOS DE SOLO OBTIDOS
COM CLORETO DE POTÁSSIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL**

2002

DILERMANDO DOURADO PACHECO

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA
DE NITRATO EM EXTRATOS DE SOLO OBTIDOS
COM CLORETO DE POTÁSSIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*

APROVADA: 26 de Fevereiro de 2002.

Dr. Sanzio Mollica Vidigal

Prof. Roberto de Aquino Leite

Prof. Reinaldo Bertola Cantarutti
(Conselheiro)

Prof. Victor Hugo Alvarez V.
(Conselheiro)

Prof. Paulo Roberto Gomes Pereira
(Orientador)

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa e ao seu Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade oferecida para a realização do Curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Paulo Roberto Gomes Pereira, pela amizade, atenção, orientação e proposta de pesquisa.

Aos professores Victor Hugo Alvarez V., Reinaldo Bertola Cantarutti e Roberto de Aquino Leite, e ao Pesquisador Sanzio Mollica Vidigal, pela atenção e críticas.

Aos colegas de Curso, pela amizade e pela troca de informações.

Aos amigos Vicente Madaleno, Mara, Domingos Sávio e colegas do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, pelo trabalho e bom convívio.

BIOGRAFIA

DILERMANDO DOURADO PACHECO, filho de Helvécio Caciquinho Pacheco e Emília Cândida Dourado Pacheco, nasceu em Januária, MG, em 10 de novembro de 1969.

Em março de 1989, ingressou no Curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, graduando-se em 20 de agosto de 1993.

Iniciou, em setembro de 1993, nessa mesma Universidade, o Curso de Mestrado em Fitotecnia, área de Nutrição Mineral e Adubação de Plantas, concluindo-o em fevereiro de 1996.

Em março de 1996, iniciou, nessa mesma Universidade, o Curso de Doutorado em Fitotecnia, área de Nutrição Mineral e Adubação de Plantas.

Ingressou-se como pesquisador, na EPAMIG - Centro Tecnológico do Norte Mineiro, em Nova Porteirinha, MG, em dezembro de 2002.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1.INTRODUÇÃO.....	1
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. CAPÍTULO 1: Dosagem de nitrato por espectrofotometria de ultravioleta em extratos de solo obtidos com KCl.....	8
3.1. INTRODUÇÃO.....	8
3.2.1. ENSAIO 1: Espectro de absorção de radiação UV pelo NO_3^- adicionado à água e às soluções de NaHCO_3 e KCl	10
3.2.1.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.2.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	10
3.2.2. ENSAIO 2: Sensibilidade de Cl^- e de NO_3^- à radiação UV.....	12
3.2.2.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13

3.2.3. ENSAIO 3: Avaliação de NO_3^- em soluções com KCl pela utilização da EUV em dois comprimentos de onda e em presença de redutor de NO_3^- a NH_4^+	14
3.2.3.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.2.3.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
3.2.4. ENSAIO 4: Avaliação de NO_3^- por EUV em extratos de solo obtidos com água, NaHCO_3 0,01 mol/L ou KCl 1 mol/L.....	16
3.2.4.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.2.4.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
3.2.5. ENSAIO 5: Determinação de NO_3^- em amostras de solo pela análise de extratos de KCl 1 mol/L com os métodos EUV e Kjeldahl e com a reação de Griess-Ilosvai.....	21
3.2.5.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.2.5.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
3.3. CONCLUSÃO.....	28
4. CAPÍTULO 2: Dosagem indireta de nitrato pelo método Nessler em extratos de solo obtidos com KCl.....	30
4.1. INTRODUÇÃO.....	30
4.2.1. ENSAIO 1: Desenvolvimento da cor de soluções de leitura afetadas pela concentração de reagente Nessler.....	32
4.2.1.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.2.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.2.2. ENSAIO 2: Taxas de redução de NO_3^- a NH_4^+ com a adição de Zn^0 em meios contendo 36, 72 e 108 mmol/L de H_2SO_4	34
4.2.2.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	34

4.2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.2.3. ENSAIO 3: Determinação de NO_3^- em amostras de solo pela análise de extratos de KCl 1 mol/L com os métodos Nessler e Kjeldahl e com a reação de Griess-Ilosvai.....	36
4.2.3.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.2.3.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.3. CONCLUSÃO.....	42
5. CAPÍTULO 3: Dosagem indireta de nitrato pelo método do salicilato em extratos de solo obtidos com KCl.....	45
5.1. INTRODUÇÃO.....	45
5.2.1. ENSAIO 1: Dosagem de NH_4^+ com diferentes ajustes ao método do salicilato.....	47
5.2.1.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	47
5.2.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.2.2. ENSAIO 2: Redução do NO_3^- a NH_4^+ com Zn^0 ou liga de Devarda.....	50
5.2.2.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	50
5.2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.2.3. ENSAIO 3: Determinação de NO_3^- em amostras de solo pela análise de extratos de KCl 1 mol/L com os métodos do salicilato e Kjeldahl e com a reação de Griess-Ilosvai.....	53
5.2.3.1. MATERIAL E MÉTODOS.....	53
5.2.3.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
5.3. CONCLUSÃO.....	59
6. RESUMO E CONCLUSÕES.....	62

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
APÊNDICE.....	69
APÊNDICE A.....	70
APÊNDICE B.....	76
APÊNDICE C.....	79

RESUMO

PACHECO, Dilermando Dourado. D.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2002. **Determinação espectrofotométrica de nitrato em extratos de solo obtidos com cloreto de potássio.** Orientador: Paulo Roberto Gomes Pereira. Conselheiros: Reinaldo Bertola Cantarutti, Victor Hugo Alvarez V. e Paulo César Rezende Fontes.

Objetivou-se, neste trabalho, determinar o NO_3^- em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L, utilizando-se de dosagem direta pelo método de espectrofotometria de ultravioleta (EUV) e indireta pelos métodos Nessler e do salicilato. Na EUV, determinou-se o espectro de absorção de radiação – entre 200 e 300 nm – pelo NO_3^- adicionado à água e a soluções com NaHCO_3 e KCl; e compararam-se as dosagens de NO_3^- em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L, água e NaHCO_3 0,01 mol/L. No método Nessler, foram determinados o espectro de absorção de radiação – entre 400 a 500 nm – pelas soluções de leitura; a concentração de reagente Nessler (RN) favorável a um maior desenvolvimento da cor; e a taxa de redução do NO_3^- a NH_4^+ em meio com H_2SO_4 e zinco metálico (Zn^0). No método do salicilato, determinaram-se o espectro de absorção de radiação – entre 600 e 700 nm – pelas soluções de leitura; ajustes para dosar indiretamente o NO_3^- sem a presença de precipitado na solução de leitura; e a taxa de redução do NO_3^- a NH_4^+ em meios ácidos com Zn^0 e liga de Devarda. Utilizando os ajustes selecionados para os métodos EUV, Nessler e

do salicilato, determinaram-se as concentrações de NO_3^- em extratos de KCl 1 mol/L, obtidos de 27 amostras de solo com ampla variação das características químicas e físicas, as quais foram relacionadas, por análise de regressão, com as quantificações de NO_3^- pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai. Na EUV, as maiores absorvâncias pelo NO_3^- adicionado a água, NaHCO_3 e KCl ocorreram nos λ de 210, 210 e 220 nm, respectivamente; as dosagens do NO_3^- adicionado aos extratos de solo e extratores foram mais semelhante quando se estudou a matriz KCl, demonstrando ser a EUV mais adequada para dosar o NO_3^- em extrato de KCl 1 mol/L que em extratos obtidos com água ou NaHCO_3 0,01 mol/L. No método Nessler, a intensidade da cor foi maior com a alíquota de 1 mL de reagente Nessler (RN) em comparação à com 0,5 mL de RN. As concentrações de 36, 72 e 108 mmol/L de H_2SO_4 em meio com Zn^0 propiciaram taxas de 93,95; 101,52; e 92,75% para a redução do NO_3^- a NH_4^+ , demonstrando que a segunda foi a mais adequada. No método do salicilato, as soluções de leitura absorveram mais radiação a 660 nm; o procedimento original foi ineficaz para dosar indiretamente o NO_3^- devido à formação de precipitados nas soluções de leitura, sendo necessário ajustes, com adição de soluções de NaOH, EDTA ou citrato de sódio, para a obtenção de soluções cristalinas; e o Zn^0 e a liga de Devarda permitiram taxas de 92,91 e 43,94% para a redução do NO_3^- a NH_4^+ , demonstrando que, em meio ácido, o primeiro redutor foi mais eficaz. Com base nas concentrações de NO_3^- em extratos de KCl 1 mol/L de 27 amostras de solo, a quantificação por EUV, em comparação às efetuadas pelos métodos Nessler e do salicilato, foi a que apresentou valores mais semelhantes às realizadas pela reação de Griess-Ilosvai. Portanto, recomenda-se a EUV para dosar o NO_3^- extraído do solo com KCl 1 mol/L, utilizando-se leituras de absorvância em espectrofotômetro regulado para os λ de 225 e 255 nm. A vantagem da EUV, comparada ao método colorimétrico que usa a reação de Griess-Ilosvai, consiste na sua maior simplicidade analítica, rapidez e economia de reagentes.

ABSTRACT

PACHECO, Dilermando Dourado, D.S., Universidade Federal de Viçosa, february 2002. **Spectrophotometric determination of nitrate in soil extracts obtained with potassium chloride.** Adviser: Paulo Roberto Gomes Pereira. Committee Members: Reinaldo Bertola Cantarutti, Victor Hugo Alvarez V. and Paulo César Rezende Fontes.

The objective of this work was to adjust methods of direct dosage of NO_3^- using ultraviolet spectrophotometry (EUV) and indirect using the Nessler or salicylate methods in soil extracts obtained with KCl 1 mol/L. UV spectra absorption between 200 and 300 nm by NO_3^- added in water, NaHCO_3 , and KCl was determined. In the EUV, the dosage of NO_3^- added to the soil extracts obtained from water, NaHCO_3 0,01 mol/L or KCl 1 mol/L was compared with the dosage of NO_3^- added to the respective extractors. The Nessler method provided the determination of the radiation absorption spectrum in solution with NH_4^+ , between 400 and 500 nm; the effect of Nessler reagent (RN) concentration on colour developing; and the effect of H_2SO_4 concentration on the rate of reduction of NO_3^- by NH_4^+ in medium with Zn^0 . The salicylate methods provided the determination of visible spectra absorption by solution with NH_4^+ – between 600 and 700 nm; adjust for obtained indirect dosage NO_3^- without precipitate; the effect of Zn^0 and Devard's alloy on the reduction rate of NO_3^- the NH_4^+ in medium with H_2SO_4 . In extracts of KCl 1 mol/L, obtained from 27 soil samples with a wide range of chemical and physical properties, the determination

of NO_3^- by EUV, Nessler and salicylate methods were compared with the NO_3^- determined by Griess-Ilosvai reaction. In the EUV, the highest absorbance by NO_3^- in water, NaHCO_3 , and KCl were higher in the wavelenghts (λ) of 210, 210, and 220 nm, respectively; the dosage of NO_3^- added to the soil extracts obtained with water, NaHCO_3 0,01 mol/L and KCl 1 mol/L were similar to that of NO_3^- added extractor when the study matrix was KCl. In the Nessler method, the highest absorbance levels were obtained in the λ of 410 nm; colour development was higher with 1 mL of RN in comparison to the 0,5 mL of RN; in medium with Zn^0 , the concentration of 36, 72, and 108 mmol/L of H_2SO_4 favoured the reduction rate of NO_3^- by NH_4^+ respectively of 93.95; 101.52; and 92.75%. In the salicylate method, the highest absorbance levels were obtained in the λ of 660 nm; the adjust with NaOH, EDTA or sodium citrate favoured indirect dosage of NO_3^- without precipitate; the Zn^0 and Devard's alloy favoured the rate of 93.17 and 43.03% of reduction of NO_3^- to NH_4^+ , respectively. In agreement with the concentrations of NO_3^- , determined in extracts of KCl 1 mol/L of 27 soil samples, the quantification of NO_3^- by EUV method, in contrast to quantification of NO_3^- by the Nessler and salicylate methods, presented NO_3^- values which were most similar to those analyzed by the Griess-Ilosvai reaction. Thus, the EUV method is recommended for the analysis of NO_3^- in extracts of soil obtained with KCl 1 mol/L, by the determination of absorbance in espectrophotometer adjusted for λ of 225 and 255 nm. The advantage of the EUV method, as compared to the coulometric method using the Griess-Ilosvai reaction, is its higher simplicity and analysis speed, and reagent economy.

1. INTRODUÇÃO

A dosagem é uma etapa dos métodos analíticos utilizados para quantificar uma espécie química (soluto) em uma solução ou extrato. Antes dela, para amostras de solo, objetiva-se a extração do soluto em quantidade que apresente alta relação com o teor do elemento na planta ou com alguma característica de sua produção.

A dosagem pode ser simples ou difícil, pois vai depender do tempo, dos reagentes e do procedimento de leitura da concentração do soluto. De acordo com o soluto de interesse, vários procedimentos de dosagem são disponíveis, sendo o mais simples, rápido, reprodutível e confiável o recomendado para a utilização em laboratórios de rotina.

Para a determinação do NO_3^- no solo, a espectrofotometria de ultravioleta (EUV) é uma das técnicas disponíveis. Tal técnica apresenta a vantagem de simplificar a quantificação do soluto em comparação à efetuada por espectrofotometria do visível (EVi), uma vez que se tornam desnecessárias as etapas analíticas associadas com o desenvolvimento da cor na EVi.

Apesar de ser uma técnica de rápida dosagem de NO_3^- , a EUV apresenta limitações quando empregada em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L, em razão de o Cl^- também absorver radiação UV. Portanto, numa análise de NO_3^- por

EUV é necessário que a radiação seja absorvida prioritariamente pelo NO_3^- em detrimento de outros solutos, inclusive o Cl^- .

Atualmente, a reação de Griess-Ilosvai tem sido uma das principais técnicas de EVi utilizadas para quantificar o NO_3^- em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L. Entretanto, tal análise, pela morosidade na obtenção do resultado analítico, é pouca adaptada a laboratórios de rotina, uma vez que envolve as etapas de redução do NO_3^- a NO_2^- , e reação de Griess-Ilosvai propriamente dita, que engloba a diazotização do NO_2^- com sufamilamida, e o acoplamento com N-(1-naftil) etilenodiamoniodicloreto.

Além da determinação indireta como NO_2^- , o NO_3^- pode ser reduzido até NH_4^+ e quantificado por Evi, utilizando-se os métodos Nessler ou do salicilato. Tais métodos poderão ser alternativos para determinar o NO_3^- em extratos de solo obtidos com KCl 1 mol/L.

Objetivou-se, neste trabalho, determinar espectrofotometricamente o NO_3^- em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L, utilizando os métodos de EUV, Nessler e do salicilato.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O nitrogênio (N) pode ser quantificado em amostras de solo por meio de vários procedimentos analíticos (BREMNER, 1965). Entretanto, há dois inconvenientes: o primeiro é em razão da elevada dinâmica de N no solo, que dificulta alta correlação do teor de N no solo com o teor do elemento na planta (STANFORD, 1982); o segundo, em virtude de os resultados analíticos poderem ser demorados e pouco reprodutíveis, o que pode ser superado com a seleção de um procedimento de extração, dosagem e leitura rápida e confiável (SAH, 1994).

Para a análise de NO_3^- em amostras de solo, vários extratores podem ser utilizados, inclusive a água. Dentre os extratores, a solução de KCl 1 mol/L é vantajosa do ponto de vista de unificação da extração, pois propicia também as extrações de Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} e NH_4^+ (DEFELIPO e RIBEIRO, 1981).

A dosagem de NO_3^- pode ser feita diretamente por potenciometria ou espectrofotometria do ultravioleta (EUV) e indiretamente por espectrofotometria do visível (EVi), após a conversão do NO_3^- às formas de NO_2^+ , NO_2^- ou NH_4^+ (SAH, 1994). Nas formas de NO_2^+ e de NO_2^- , destacam-se as dosagens por EVi, mediante as reações de nitração e de Griess-Ilosvai, respectivamente. Na forma de NH_4^+ , destaca-se a determinação titulométrica pelo método Kjeldahl.

A reação de nitração envolve a capacidade de definidas formas de N reagir com compostos fenólicos, como o ácido fenoldissulfônico ou ácido

salicílico, o que permite o desenvolvimento de uma cor amarela (BREMNER, 1965). Para a reação de nitratação com os compostos fenólicos indicados, o NO_3^- necessita ser convertido inicialmente a NO_2^+ , que apresenta tal capacidade (SAH, 1994; YANG et al., 1998). Nessa conversão, é necessário um meio extremamente ácido. Em seguida, o NO_2^+ reage com o composto fenólico para o desenvolvimento da cor amarela, cuja intensidade é proporcional à concentração inicial de NO_3^- nos extratos.

A determinação de NO_3^- a partir da reação de nitratação tem sido mais adequada quando se analisam extratos de amostras de tecido vegetal (CATALDO, 1975). A reação não tem sido efetuada para extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L, devido o Cl^- , sob alta concentração, interferir no desenvolvimento da cor a partir da formação de nitrosilcloreto (SAH, 1994; YANG et al., 1998).

Quando efetuada pelo método Kjeldahl, a determinação de NO_3^- nos extratos de amostras de solo obtidos com KCl 1 mol/L requer equipamentos de baixo custo e apresenta resultados reprodutíveis (BREMNER e MULVANEY, 1982). Entretanto, a operacionalização desse método fica comprometida, devido ao baixo rendimento analítico, pois poucas amostras podem ser analisadas ao dia.

A determinação de NO_3^- pelo método Kjeldahl depende de uma etapa inicial de quantificação do NH_4^+ . A quantificação do NH_4^+ em extratos de KCl 1 mol/L envolve a adição de MgO, a conversão do NH_4^+ a NH_3 via destilação no meio básico, a reação do NH_3 com H_3BO_3 formando NH_4^+ e H_2BO_3^- , e a titulação com H_2SO_4 a fim de restaurar o H_3BO_3 (TEDESCO, 1985). A quantificação do NH_4^+ mais NO_3^- e NO_2^- segue o mesmo procedimento anterior, acrescido da adição de liga de Devarda em conjunto com o MgO. Com base na diferença de volume de H_2SO_4 consumido nas duas titulações, são determinadas as concentrações de NO_3^- e NO_2^- nos extratos.

Em comparação à dosagem de NO_3^- pelo método Kjeldahl, as espectrofotometrias do ultravioleta (EUV) e do visível (EVi) fornecem resultados analíticos muito mais rápidos, adaptando, desse ponto de vista, melhor às necessidades de laboratórios de rotina.

A dosagem de NO_3^- por EUV considera o princípio de que tal ânion absorve radiação na faixa UV do espectro. Um aspecto restritivo à dosagem de NO_3^- por EUV é que outros solutos, como Cl^- , NO_2^- , Fe^{3+} e materiais orgânicos solúveis, também absorvem a radiação UV (SAH, 1994). Assim, é necessário que se separe a radiação absorvida pelo NO_3^- da absorvida pelos demais solutos. Para tal, analisam-se os extratos na ausência e na presença de um redutor químico de NO_3^- a NH_4^+ , quantificando, assim, a radiação absorvida respectivamente pelo NO_3^- mais outros solutos e apenas por solutos diferentes do NO_3^- . A partir da diferença de radiação absorvida pelo extrato nessas duas situações, determina-se a concentração de NO_3^- .

Normalmente, reduz-se o NO_3^- à forma química de NH_4^+ , que não absorve radiação UV, mediante a adição de zinco metálico (Zn^0) (HEINZMANN et al., 1984). Também determina-se o NO_3^- por EUV, considerando a leitura de absorvâncias em extratos sem Zn^0 analisados em dois comprimentos de onda (λ). Num primeiro λ , determina-se a radiação absorvida pelo NO_3^- mais os demais solutos e noutro λ , apenas a radiação absorvida por solutos diferentes do NO_3^- (ARMSTRONG, 1963; HEANES, 1982 e MIYAZAWA et al., 1985).

Em geral, a dosagem de NO_3^- por EUV é feita em extratos de CaCl_2 0,0125 mol/L, CaSO_4 0,025 mol/L, NaHCO_3 0,01 mol/L, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 0,025 mol/L ou mesmo água (FOX e PIEKIELEK, 1978; HEINZMANN et al., 1984; HONG et al., 1990; MIYAZAWA et al., 1985; NORMAN e STUCKI, 1981; NORMAN et al., 1985). Não tem sido determinado o NO_3^- por EUV considerando a análise de extratos de KCl 1 mol/L devido à alta concentração de Cl^- . Assim, para extratos de solo obtidos com KCl 1 mol/L, é fundamental um ajuste à EUV, permitindo que a dosagem do NO_3^- não seja limitada pelo Cl^- em alta concentração.

A alta concentração de Cl^- também é um aspecto limitante à determinação de NO_3^- por métodos da EVi. Por exemplo, a determinação de NO_3^- pela reação de nitração com o ácido fenoldissulfônico não é satisfatória em extratos de KCl 1 mol/L.

A reação de Griess-Ilosvai tem sido uma alternativa para determinar indiretamente o NO_3^- em extratos de KCl 1 mol/L, pois não sofre a influência do Cl^- em alta concentração. Antes dessa reação, é necessário que se reduza o NO_3^- a NO_2^- mediante a adição de uma solução redutora de sulfato de hidrazina (SAH, 1994). Em seguida, utiliza-se a reação de Griess-Ilosvai, que dosa o NO_2^- a partir da seqüência de duas reações: a primeira, a diazotização do NO_2^- com sulfanilamida em meio ácido; e a segunda, a reação com o N-(1-naftil) etilenodiamoniodicloreto, desenvolvendo uma cor violeta cuja intensidade é proporcional à concentração de NO_2^- (GUINÉ et al., 1980; KEENEY e NELSON, 1982; ROSÍAS, 1979).

Utilizando a EVi, outras alternativas para quantificar o NO_3^- em extrato de KCl seria a sua determinação indireta na forma de NH_4^+ com base nos métodos Nessler e do salicilato. Para isso, o NO_3^- seria quantificado considerando as diferenças de leituras no extrato com e sem a adição de um redutor do NO_3^- a NH_4^+ .

Na sua forma original, o método Nessler dosa o NH_4^+ por meio de uma reação que se desenvolve em apenas 20 min, utilizando extratos obtidos de pasta de saturação de solo com NaCl 1,7 mol/L a pH 2,5 (JACKSON, 1958). Apesar da vantagem de uma rápida dosagem, há os inconvenientes da laboriosa obtenção do extrato, da pouca estabilidade da cor, ou seja, as soluções de leitura rapidamente perdem a cor após 20 min, e do desenvolvimento do cor sofrer a influência de cátions como Ca^{2+} e Mg^{2+} (KEENEY e NELSON, 1982).

O método do salicilato considera a reação de Berthelot, para dosar o NH_4^+ . Antes da dosagem do NH_4^+ via salicilato, a reação de Berthelot considerava a utilização do reagente indofenol. O método do indofenol gradativamente foi eliminado, devido à liberação do ortoclorofenol, uma substância volátil com característica carcinogênica (ALVES et al., 1994; BAETHENGEN e ALLEY, 1989; KEMPERS e ZWEERS, 1986 e NELSON, 1982). Com o método do salicilato evitou-se a liberação de substâncias com semelhante característica.

A dosagem de NH_4^+ pelo método do salicilato ocorre em meio com pH entre 12 e 13, que permite a transformação do NH_4^+ a NH_3 , a dissociação de H^+ de moléculas do salicilato e o acoplamento da NH_3 ao salicilato (DOYLE e SCHIMEL, 1996; RHINE et al., 1998). É necessária a adição de NaOCl que, ao propiciar a formação de um meio oxidante, permite o desenvolvimento de uma cor azul, cuja intensidade é proporcional à concentração original de NH_4^+ .

3. CAPÍTULO 1 : Dosagem de nitrato por espectrofotometria de ultravioleta em extratos de solo obtidos com KCl

3.1. INTRODUÇÃO

A espectrofotometria de absorção de radiação no ultravioleta (EUV) permite rápida determinação de NO_3^- em amostras de solo, água e tecido vegetal, pois demanda apenas as etapas de extração e leitura, não sendo necessária a adição de reagentes envolvidos com o desenvolvimento de reação de coloração nos métodos que utilizam o princípio da espectrofotometria no visível (EVi).

A condição básica para se dosar o NO_3^- por EUV é em que a intensidade de radiação absorvida pelo extrato seja proporcional à concentração desse soluto. A principal limitação da determinação de NO_3^- por EUV é que esse método não é seletivo, ou seja, outros solutos além do NO_3^- absorvem a radiação UV. Por isso, é necessário que se separe a radiação absorvida pelo NO_3^- da absorvida por outros solutos como NO_2^- , Fe^{2+} , Cl^- e materiais orgânicos solúveis.

Há dois procedimentos de determinação de NO_3^- por EUV: o primeiro considera a análise de extratos sem e com a adição um redutor de NO_3^- a NH_4^+ . Quando se adiciona o redutor, zinco metálico (Zn^0) por exemplo, o NO_3^- é convertido em NH_4^+ , que não absorve radiação UV, tornando a absorção de radiação UV dependente apenas de outros solutos. Quando não se adiciona o redutor, a radiação UV é absorvida por NO_3^- e outros solutos em conjunto. Por diferença, se quantifica a radiação absorvida apenas pelo NO_3^- e, assim, a concentração desse soluto na amostra.

O segundo procedimento de determinação de NO_3^- considera apenas a análise de extratos sem a adição de redutor químico. Neste caso, os extratos são analisados com a determinação de absorvâncias em dois comprimentos de onda (λ), em que num deles o NO_3^- mais outras solutos absorvem a radiação UV e noutro em que apenas os solutos diferentes do NO_3^- absorvem a radiação.

Em geral, a dosagem de NO_3^- por EUV é feita em extratos de CaCl_2 0,0125 mol/L, CaSO_4 0,025 mol/L, NaHCO_3 0,01 mol/L, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 0,025 mol/L ou mesmo água. Não se determina o NO_3^- em extratos de KCl 1 mol/L utilizando a EUV, pois há nesses materiais uma magnitude de concentração de Cl^- muito superior à de NO_3^- . Assim, é fundamental um ajuste à EUV, permitindo que a dosagem do NO_3^- não seja limitada pelo Cl^- em alta concentração.

O objetivo deste trabalho foi ajustar o método de EUV, a fim de se dosar NO_3^- em extratos de solo obtidos com KCl 1 mol/L.

3.2.1. ENSAIO 1: Espectro de absorção de radiação UV pelo NO_3^- adicionado à água e à soluções de NaHCO_3 e KCl

3.2.1.1. MATERIAL E MÉTODOS

Trabalhou-se com oito matrizes nas soluções de leitura: 1 mg/L de N-NO_3^- em água, em NaHCO_3 0,002; 0,004; 0,006; e 0,008 mol/L e em KCl 0,25; 0,5; e 0,75 mol/L. Utilizou-se um espectrofotômetro modelo HITACHI U-2000, com feixe duplo para as leituras de absorvâncias.

O espectro de absorção de radiação pelo NO_3^- foi determinado entre 200 e 300 nm, utilizando-se espectrofotômetro zerado com água ou com NaHCO_3 e KCl , nas concentrações testadas sem o NO_3^- . Com base na determinação do espectro de absorção de radiação UV, foram estabelecidos os λ mais apropriados para a utilização da EUV na quantificação do NO_3^- nas matrizes água, NaHCO_3 e KCl .

3.2.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As maiores absorvâncias pelo NO_3^- adicionado à água e a soluções com NaHCO_3 e com KCl foram obtidas nos λ de 210, 210 e 220 nm, respectivamente (Figura 1). Assim, estes seriam os λ recomendados a fim de se utilizar a EUV na determinação do NO_3^- adicionado à água e a soluções com concentrações de NaHCO_3 0,002; 0,004; 0,006; e 0,008 mol/L e de KCl 0,25; 0,5; e 0,75 mol/L.

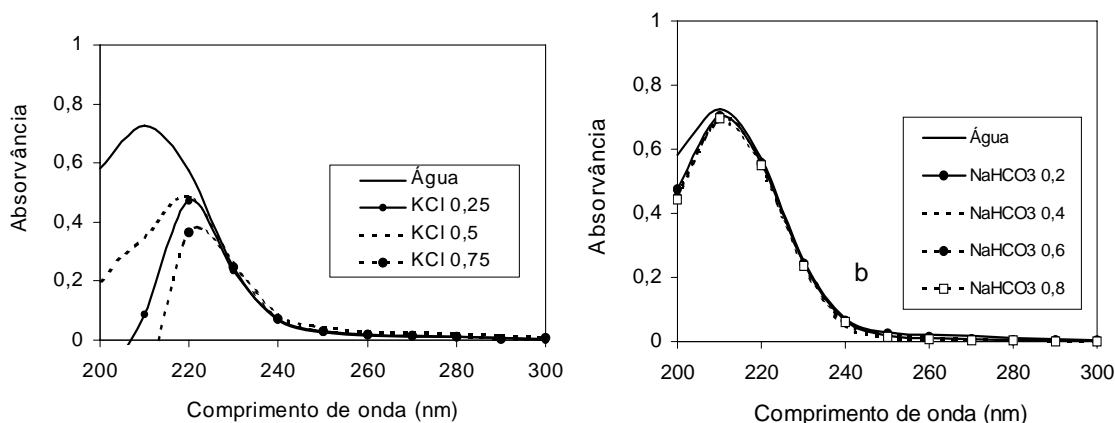


Figura 1 – Espectros de absorção de radiação UV por soluções de leitura contendo 1 mg/L de N-NO₃⁻ em água, em KCl 0,25; 0,5; e 0,75 mol/L (a); e em NaHCO₃ 0,002; 0,004; 0,006; e 0,008 mol/L (b).

Com base no espectro de absorção de radiação pelo NO₃⁻ adicionado a soluções com KCl, verifica-se que o λ de 220 nm difere da faixa do UV normalmente utilizada para a análise do NO₃⁻ extraído do solo com água ou soluções salinas distintas de KCl. Normalmente, analisa-se o NO₃⁻ em extratos obtidos com água a 205 nm (LINDEN et al., 1993), com NaHCO₃ 0,01 mol/L a 205 nm (FOX e PIEKIELEK, 1978) ou a 200 nm (HONG et al., 1990), com CaCl₂ 0,0125 mol/L a 210 nm (HEINZMANN et al., 1984 e MIYAZAWA et al., 1985), com CaSO₄ 0,025 mol/L a 210 nm (NORMAN e STUCKI, 1981 e NORMAN et al., 1985). Nesses λ , constatou-se que a radiação absorvida pelo NO₃⁻ em KCl 0,75 mol/L apresentou acentuada redução em comparação à análise com 220 nm.

Ao contrário da análise de NO₃⁻ em extratos de solo, os procedimentos recomendados para utilizar a EUV na determinação de NO₃⁻ em água e em extratos de tecido vegetal envolvem a utilização de λ com valores próximos ou iguais a 220 nm. Avaliando o NO₃⁻ em água de consumo, ARMSTRONG (1962) recomendou que se fizessem leituras de absorvância a 220 nm. Já HEANES (1982), avaliando extratos de tecido vegetal obtidos com Al₂SO₄ 0,025 mol/L, recomendou a análise com 225 nm. Como nos dois λ indicados a EUV apresentou elevada sensibilidade para quantificar NO₃⁻ em soluções com KCl (Figura 1), a análise de NO₃⁻ em extratos de solo obtidos com KCl 1 mol/L deve

ser feita com λ semelhantes aos indicados por ARMSTRONG (1962) ou HEANES (1982).

3.2.2. ENSAIO 2: Sensibilidade de Cl^- e de NO_3^- à radiação UV

3.2.2.1. MATERIAL E MÉTODOS

Trabalhou-se com soluções com concentrações crescentes de Cl^- e de NO_3^- . As concentrações avaliadas foram: 0; 0,04; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8; e 1 mol/L de Cl^- , a partir de diluições de soluções de KCl 1 mol/L. Para o NO_3^- , trabalhou-se com as concentrações de 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,5; 0,75; 1; 1,5; e 2 mg/L de N- NO_3^- em água e em soluções com KCl 0,8 mol/L.

As absorvâncias do Cl^- foram determinadas a 210, 220 e 225 nm; do NO_3^- em água, a 215, 220 e 225 nm; do NO_3^- em KCl 0,8 mol/L, a 210, 215, 220 e 225 nm. Para as leituras de absorvância, o espectrofotômetro foi zerado com água para analisar o Cl^- e o NO_3^- adicionados à água, e com KCl 0,8 mol/L para analisar o NO_3^- adicionado à solução de KCl 0,8 mol/L.

Procedeu-se à análise de regressão, considerando os valores de absorvâncias como variáveis dependentes das concentrações de Cl^- e de NO_3^- nas soluções de leitura. As equações de regressão foram selecionadas com base na significância dos coeficientes dos parâmetros da regressão a 0,1% de probabilidade e no coeficiente de determinação tendendo a 1.

As equações de regressão, relacionando as absorvâncias com as concentrações de Cl^- ou de NO_3^- adicionados a água, foram utilizadas para determinar o ânion que mais absorveu radiação UV. Para tal, determinou-se a concentração de Cl^- necessária para resultar em igual valor de absorvância detectado com 1 mg/L de N- NO_3^- .

Procedeu-se ao teste de identidade de modelos das equações de regressão de absorvâncias do NO_3^- adicionado à água e à solução de KCl 0,8 mol/L para determinar se as quantidades de radiação UV absorvidas pelo NO_3^- a 215, 220 e 225 nm apresentaram alterações significativas com a presença de Cl^- .

3.2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sensibilidade da EUV na detecção do Cl^- foi muito mais acentuada quando efetuou-se a leitura de absorvância com 210 nm em comparação a 220 ou 225 nm (Quadro 1).

Nas análises de absorvâncias efetuadas a 210, 220 e 225 nm para o Cl^- e o NO_3^- adicionados à água (Quadros 1 e 2), constatou-se a necessidade de as soluções de leitura apresentarem, respectivamente, as concentrações de 618, 10.561 e 29.465 mg/L de Cl^- para permitir os mesmos valores de absorvâncias detectados com 1 mg/L de N- NO_3^- . Esse dado é um forte indicador, a exemplo da determinação do espectro de absorção de radiação pelo NO_3^- (Ensaio 3.2.1.), de que na análise de NO_3^- por EUV deve-se desconsiderar o λ de 210 nm quando o material analisado possui alta concentração de Cl^- .

Quadro 1 – Equações de regressão das absorvâncias a 210 (ν), 215 (σ) e 220 nm (λ) em função das concentrações de Cl^-

ν	$\hat{Y}_{\text{abs}} = -0,079 + 6,6441^{***}X^{0,5} - 4,3965^{***}X$	$R^2 = 0,9683$
σ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,001 + 1,9306^{***}X - 0,4806^{***}X^2$	$R^2 = 1,0000$
λ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = -0,003 + 0,5355^{***}X - 0,1021^{***}X^2$	$R^2 = 0,9999$

Quadro 2 – Equações de regressão das absorvâncias a 210 (ν), 215 (σ), 220 (λ) e 225 nm (υ) em função das concentrações de N- NO_3^- em água (1) e em KCl 0,8 mol/L (2)

	1		2	
ν	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,038 + 0,6822^{***}X$	$R^2 = 0,9988$		
σ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,012 + 0,6362^{***}X$	$R^2 = 0,9994$	σ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,013 + 0,2437^*X$ $R^2 = 0,9510$
λ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,005 + 0,5301^{***}X$	$R^2 = 0,9993$	λ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,002 + 0,4786^{***}X$ $R^2 = 0,9998$
υ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,001 + 0,3700^{***}X$	$R^2 = 0,9999$	υ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = -0,001 + 0,3520^{***}X$ $R^2 = 0,9998$

Nas soluções de leitura com NO_3^- em água e em KCl 0,8 mol/L, os valores dos coeficientes angulares das equações de regressão e o teste de identidade de modelos (Quadros 2 e 3), indicam que, na matriz água, a radiação absorvida pelo NO_3^- foi significativamente maior. O quadrado médio do erro experimental (Quadro 3) indicou que esse efeito foi maior nas leituras

de absorvâncias com o λ de 215 nm em comparação às análises com 220 e 225 nm.

Quadro 3 – Resumo da análise de variância para testar a identidade dos modelos das equações de regressão para as absorvâncias devido ao NO_3^- em água e em KCl 0,8 mol/L avaliadas a 215, 220 e 225 nm

Fonte de variação	gl	Quadrados médios		
		QM215	QM220	QM225
Parâmetro	4	1,0109	1,0671	0,5396
Redução (B)	2	1,7263	2,1281	1,0785
Redução (Ho)	2	0,2955***	$6,16 \times 10^{-3}$ ***	$7,82 \times 10^{-4}$ ***
Resíduo	16	$8,29 \times 10^{-4}$	$6,38 \times 10^{-5}$	$9,51 \times 10^{-6}$
Total	20	0,2028	0,2135	0,1079

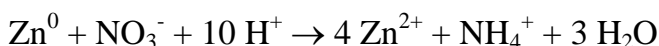
***, os modelos de equações de regressão de absorvância devido ao NO_3^- em água e em KCl 0,8 mol/L diferem significativamente entre si a 0,1% de probabilidade

3.2.3. ENSAIO 3: Avaliação de NO_3^- em soluções com KCl pela utilização da EUV em dois comprimentos de onda e em presença de redutor de NO_3^- a NH_4^+

3.2.3.1. MATERIAL E MÉTODOS

Quando considerou-se a diferença entre as absorvâncias de soluções de leitura avaliadas em dois λ , foram utilizados os λ de 220 e 275 nm e os λ de 225 e 255 nm, seguindo respectivamente as recomendações de ARMSTRONG (1963) para quantificar o NO_3^- em água de consumo e de HEANES (1982) para o NO_3^- em extrato obtido de tecido vegetal.

Quando considerou-se a ação de redutor do NO_3^- a NH_4^+ , foi usado o Zn^0 , atribuindo as absorvâncias devido ao NO_3^- a partir da diferença entre as leituras nas soluções sem e com a adição de Zn^0 . Segundo HEINZMANN et al. (1984), a redução do NO_3^- a NH_4^+ pelo Zn^0 , em meio ácido, pode ser representada pela seguinte equação:



Trabalhou-se com as seguintes concentrações: 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; e 1 mg/L de N- NO_3^- em soluções de KCl 0,75 mol/L sem H_2SO_4 , com H_2SO_4 72 mmol/L e com H_2SO_4 72 mmol/L mais 0,5 g de Zn^0 . Para isso, foram utilizadas alíquotas de 15 mL de KCl 1 mol/L mais 2 mL de 0, 2, 4, 6, 8, ou

10 mg/L de N-NO_3^- às quais foram adicionadas 3 mL de água, ou 2 mL de água e 1 mL de H_2SO_4 1,44 mol/L; ou 2 mL de água, 1 mL de H_2SO_4 1,44 mol/L e 0,5 g de Zn^0 . As soluções de leitura foram mantidas em repouso por 16 h, a fim de que, nesse período, ocorresse a redução do NO_3^- a NH_4^+ nos meios ácidos com Zn^0 .

As absorvâncias foram determinadas a 220, 225, 255 e 270 nm nas soluções de leitura sem a adição de Zn^0 , e a 220 e 225 nm nas soluções contendo Zn^0 . Para a leitura de absorvância nas matrizes sem H_2SO_4 , com H_2SO_4 e com H_2SO_4 mais Zn^0 , o espectrofotômetro foi zerado com soluções nas respectivas matrizes sem NO_3^- .

Nas soluções de leitura sem Zn^0 , atribuiu-se às absorvâncias devido ao NO_3^- pelas diferenças entre as leituras a 220 e 275 nm e a 225 e 255 nm. Quando consideraram-se as análises efetuadas nos λ de 220 e 225 nm, as absorvâncias devido ao NO_3^- foram atribuídas às diferenças entre as leituras nas soluções sem e com Zn^0 . Em cada cálculo de absorvância devido ao NO_3^- , ajustou-se equação de regressão linear em função das concentrações de NO_3^- adicionadas às soluções de leitura.

Os modelos de regressão linear foram selecionados com base na significância dos coeficientes angular e nos valores de coeficiente de determinação. Os modelos foram adequados para expressar as absorvâncias em função do NO_3^- adicionado a meio com KCl quando apresentaram coeficientes angulares significativos a 0,1% e coeficientes de determinação tendendo a 1.

3.2.3.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As absorvâncias devido ao NO_3^- adicionado em soluções com KCl 0,75 mol/L ajustaram-se a modelos de regressão linear com coeficientes angulares significativos a 0,1% de probabilidade e coeficientes de determinação tendendo a 1 (Quadros 4 e 5). Assim, soluções de leitura contendo KCl 0,75 mol/L mais concentrações crescentes de NO_3^- podem calibrar o NO_3^- em soluções de leitura contendo 75% de extrato de solo obtido com KCl 1 mol/L.

Quadro 4 – Equações de regressão das absorvâncias, considerando as diferenças entre leituras a 220 e 275 nm (ν) e a 225 e 255 nm (σ), em função das concentrações de N-NO_3^- adicionadas a KCl 0,75 mol/L sem (1) e com H_2SO_4 72 mmol/L (2)

	1		2	
ν	$\hat{Y}_{\text{abs}} = -0,002 + 0,4726^{***}X$	$R^2 = 0,9987$	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,005 + 0,4439^{***}X$	$R^2 = 0,9921$
σ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,006 + 0,3899^{***}X$	$R^2 = 0,9991$	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,004 + 0,3810^{***}X$	$R^2 = 0,9963$

Quadro 5 – Equações de regressão das absorvâncias a 220 (1) e 225 nm (2), considerando as diferenças entre as leituras nas soluções sem (ν) ou com H_2SO_4 (σ) em relação às soluções com Zn^0 , em função das concentrações de N-NO_3^- adicionadas a KCl 0,75 mol/L

	1		2	
ν	$\hat{Y}_{\text{abs}} = -0,003 + 0,4689^{***}X$	$R^2 = 0,9990$	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,010 + 0,3870^{***}X$	$R^2 = 0,9978$
σ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,009 + 0,4370^{***}X$	$R^2 = 0,9912$	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,001 + 0,3775^{***}X$	$R^2 = 0,9951$

Entre os princípios para o cálculo de absorvância devido ao NO_3^- em KCl 0,75 mol/L, a análise com dois λ mostrou-se mais vantajosa em comparação à análise de soluções de leitura com e sem Zn^0 , porque com dois λ não foi necessária a adição de Zn^0 e nem o intervalo de 16 h requeridos para a ação desse redutor na conversão do NO_3^- a NH_4^+ .

3.2.4. ENSAIO 4: Avaliação de NO_3^- por EUV em extratos de solo obtidos com água, NaHCO_3 0,01 mol/L ou KCl 1 mol/L

3.2.4.1. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se a técnica de adição de concentrações conhecidas de NO_3^- aos extratos de solo e aos extratores, para determinar absorvâncias devido ao NO_3^- nas matrizes água, KCl 1 mol/L e NaHCO_3 0,01 mol/L.

Na extração do NO_3^- , trabalhou-se com a relação 10 g de solo : 100 mL de extrator (água, NaHCO_3 0,01 mol/L ou KCl 1 mol/L) em quatro repetições. As amostras de solo usadas foram: S1, S2, S3, S4, S5 e S6 (Quadro 6). Os copos de extração, contendo solo e extrator, foram agitados em agitador horizontal por 30 min e, em seguida, mantidos em repouso por 16 h. Os sobrenadantes foram

transferidos dos copos de extração para béqueres de 100 mL. Os extratos foram obtidos mediante a adição de carvão ativado e filtração lenta dos conteúdos dos béqueres (extrato-água); ou apenas filtração lenta (extrato-NaHCO₃ ou extrato-KCl).

Quadro 6 - Características químicas e físicas de amostras de solo secadas à sombra e passadas em peneira de malha de 2 mm (TFSA), empregadas nas dosagens de NO₃⁻ por EUV

Amostra de solo	C.O. ⁽¹⁾ dag/kg	pH H ₂ O	P ⁽²⁾ mg/dm ³	K ⁽²⁾	Al ³⁺ ⁽³⁾	Ca ²⁺ ⁽³⁾	Mg ²⁺ ⁽³⁾	H+Al ⁽⁴⁾	Textura ⁽⁵⁾			
									Ag	Af	S	A
S1	1,71	5,0	1,50	48	0,7	0,50	0,20	6,6	15	10	7	68
S2	0,69	6,2	20,80	184	0,0	2,80	0,70	3,1	39	24	10	27
S3	0,69	5,8	4,90	53	0,0	1,70	0,50	2,5	41	24	10	25
S4	1,40	4,8	1,80	35	0,3	0,30	0,10	6,9	4	39	8	49
S5	1,20	5,2	1,20	30	1,5	0,10	0,40	4,5	42	22	6	30
S6	0,60	4,9	1,60	27	0,4	0,10	0,00	2,9	30	55	2	13
S7	3,20	4,7	3,40	80	1,0	1,00	0,20	9,6	9	5	5	81
S8	1,08	5,7	58,40	109	0,0	3,30	0,50	3,8	33	19	10	38
S9	1,17	5,6	68,50	107	0,0	3,50	0,60	4,1	33	19	10	38
S10	1,55	5,6	71,10	91	0,0	3,20	0,50	4,1	33	19	10	38
S11	1,55	5,5	71,10	69	0,0	3,50	0,50	4,1	33	19	10	38
S12	1,55	5,5	63,40	68	0,0	3,20	0,50	3,5	33	19	10	38
S13	1,32	5,3	73,70	88	0,0	3,30	0,50	4,8	33	19	10	38
S14	1,55	5,1	56,00	102	0,0	3,00	0,40	5,0	33	19	10	38
S15	1,57	5,8	22,10	93	0,0	1,45	0,64	2,0	31	41	6	22
S16	0,60	5,6	5,85	50	0,1	1,27	0,51	2,0	38	37	4	21
S17	2,99	5,2	0,56	60	0,1	0,83	0,44	4,0	12	6	29	53
S18	2,86	6,8	39,70	259	0,0	6,84	0,91	2,3	12	9	31	48
S19	7,68	4,9	2,49	38	1,3	0,14	0,11	12,9	45	10	13	32
S20	4,42	4,7	18,24	184	0,4	2,17	0,99	10,9	27	12	15	46
S21	2,71	4,6	13,50	264	1,0	2,61	0,66	7,9	10	9	21	60
S22	1,49	6,2	17,27	48	0,0	1,93	0,51	0,7	77	16	1	6
S23	1,28	6,3	16,34	50	0,0	2,00	0,45	0,7	75	16	2	7
S24	2,39	5,2	0,56	32	0,1	0,75	0,21	3,3	8	28	15	49
S25	2,74	5,9	5,80	62	0,1	3,87	0,23	5,6	10	9	21	60
S26	12,60	4,3	3,5	25	2,1	0,49	0,15	12,5	45	11	21	23
S27	4,55	4,5	2,90	49	1,6	0,27	0,64	10,9	14	6	7	73

1/ Método de Walkley-Black (DEFELIPO e RIBEIRO, 1981); 2/ Extrator Mehlich - 1 (VETTORI, 1969); 3/ Extrator KCl 1 mol/L (VETTORI, 1969); 4/ Extrator Ca(OAc)₂ 0,5 mol/L, pH 7,00 (VETTORI, 1969); 5/ Método da Pipeta (EMBRAPA, 1979); Ag - Areia grossa; Af - Areia fina; S - Silte; A - Argila.

Para o preparo das soluções de leitura foram utilizadas alíquotas de 8 mL dos extratos de solos às quais foram adicionadas 9 mL de água, 2 mL de soluções contendo 0; 2,5; 5; ou 10 mg/L de N-NO₃⁻ e 1 mL de H₂SO₄ 1,44 mol/L, perfazendo volume de 20 mL. Também prepararam-se soluções com 8 mL de extratos, 11 mL de água, 1 mL de H₂SO₄ 1,44 mol/L e 0,5 g de Zn⁰. A partir de matrizes semelhantes às anteriores obtiveram-se os brancos.

Para determinar o NO₃⁻ adicionado aos extratores, trabalhou-se com soluções de leitura contendo 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; e 1 mg/L de N-NO₃⁻ em água,

NaHCO₃ 0,004 mol/L ou KCl 0,4 mol/L. Para o propósito, utilizaram-se alíquotas de 8 mL de extrator (água, NaHCO₃ 0,01 mol/L ou KCl 1 mol/L) às quais foram adicionadas 2 mL de soluções com 0, 2, 4, 6, 8, ou 10 mg/L de N-NO₃⁻ e 1 mL de H₂SO₄ 1,44 mol/L. Noutra matriz, utilizou-se procedimento semelhante ao anterior, combinado com a adição final de 0,5 g de Zn⁰.

Todas as soluções de leitura foram mantidas em repouso por 16 h, a fim de que, nesse período, ocorresse a redução do NO₃⁻ a NH₄⁺ nos meios ácidos com Zn⁰

As leituras de absorvância foram efetuadas em espectrofotômetro zerado com as soluções contendo os extratores sem NO₃⁻. Utilizou-se a regulagem do aparelho para os λ de 210, 213 e 220 nm, a fim de ler as absorvâncias nas matrizes água, NaHCO₃ e KCl, respectivamente. As absorvâncias ocorridas em razão do NO₃⁻ foram calculadas a partir da diferença entre as leituras nas soluções sem e com Zn⁰ (Equações 1 e 2).

Equação 1. $Abs = (A_{Es}/Zn - A_{Ec}/Zn) - (A_{Bs}/Zn - A_{Bc}/Zn)$

Equação 2. $Abs = A_{Rs}/Zn - A_{Rc}/Zn$

em que: A_{Es}/Zn, absorvâncias nas soluções com extratos de solos (água, NaHCO₃ ou KCl) sem Zn⁰; A_{Ec}/Zn, absorvâncias nas soluções com extratos mais Zn⁰; A_{Bs}/Zn, absorvâncias nos brancos (água, NaHCO₃ ou KCl) sem Zn⁰; A_{Bc}/Zn, absorvâncias nos brancos mais Zn⁰; A_{Rs}/Zn, absorvâncias nas soluções com extratores (água, NaHCO₃ ou KCl) sem Zn⁰; A_{Rc}/Zn, absorvâncias nas soluções com extratores mais Zn⁰.

Ajustou-se equações de regressão linear, considerando as absorvâncias pelo NO₃⁻ como variável dependente das concentrações de NO₃⁻ adicionadas às soluções de leitura com extratos de solo e com extratores. Em seguida, procedeu-se ao teste de identidade de modelos, entre as equações ajustadas para cada extrato de solo em relação às ajustadas para extrator, a fim de determinar o extrato mais apropriado para dosar o NO₃⁻. Para tal teste, houve a necessidade de que apenas as absorvâncias que seriam estimadas com a adição de 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; e 1 mg/L de N-NO₃⁻ aos extratos de solo e aos extratores fossem consideradas, ou seja, o NO₃⁻ proveniente do solo não foi levado em conta.

3.2.4.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As equações de regressão das absorvâncias pelo NO_3^- nos extratos de solo apresentaram valores de coeficientes angulares mais próximos dos determinados nas soluções com os extratores quando a matriz estudada foi a de KCl (Quadro 7). Entretanto, o teste de identidade de modelos indicou que os coeficientes angulares das equações para extratos de solo diferiram significativamente dos estimados nas soluções com os extratores água, NaHCO_3 ou KCl (Quadro 8). A única exceção ocorreu na equação estabelecida para o NO_3^- adicionado ao extrato KCl do solo S2, cujo coeficiente angular para absorvância não diferiu significativamente do estimado no extrator.

Quadro 7 – Equações de regressão das absorvâncias em função das concentrações de N-NO_3^- adicionadas aos extratores (CP) e aos extratos de solo (S1 (v); S2 (σ), S3 (λ), 4 (+), 5 (x) e 6 (υ)) obtidos com água, NaHCO_3 0,01 mol/L e KCl 1 mol/L

Matriz – Água					
CP	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,018 + 0,7120^{***}X$	$R^2 = 0,9974$	x	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,052 + 0,7516^{***}X$	$R^2 = 0,9902$
v	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,035 + 0,7477^{***}X$	$R^2 = 0,9917$	+	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,100 + 0,7391^{***}X$	$R^2 = 0,9885$
σ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,062 + 0,7458^{***}X$	$R^2 = 0,9907$	υ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,167 + 0,7593^{***}X$	$R^2 = 0,9927$
λ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,048 + 0,7479^{***}X$	$R^2 = 0,9915$			
Matriz – NaHCO_3					
CP	$\hat{Y}_{\text{abs}} = -0,002 + 0,6535^{***}X$	$R^2 = 0,9996$	+	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,149 + 0,5883^{***}X$	$R^2 = 0,9986$
v	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,062 + 0,6057^{***}X$	$R^2 = 0,9966$	x	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,060 + 0,6035^{***}X$	$R^2 = 0,9972$
σ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,075 + 0,6034^{***}X$	$R^2 = 0,9974$	υ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,290 + 0,5714^{***}X$	$R^2 = 0,9986$
λ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,033 + 0,6027^{***}X$	$R^2 = 0,9978$			
Matriz – KCl					
CP	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,000 + 0,5184^{***}X$	$R^2 = 0,9998$	+	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,126 + 0,5130^{***}X$	$R^2 = 0,9996$
v	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,004 + 0,5102^{***}X$	$R^2 = 0,9999$	x	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,028 + 0,5153^{***}X$	$R^2 = 1,0000$
σ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,055 + 0,5202^{***}X$	$R^2 = 0,9999$	υ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,264 + 0,5092^{***}X$	$R^2 = 0,9999$
λ	$\hat{Y}_{\text{abs}} = 0,020 + 0,5068^{***}X$	$R^2 = 0,9999$			

Quadro 8 – Resumo da análise de variância para testar a identidade dos modelos das equações de regressão para as absorvâncias devido ao NO_3^- adicionado aos extratos de solo (S1, S2, S3, S4, S5 e S6 obtidos com água, NaHCO_3 e KCl) em relação ao adicionado aos extratores

Extração com água							
Quadrados médios							
Fonte de variação	gl	QMS1	QMS2	QMS3	QMS4	QMS5	QMS6
Parâmetro	4	0,5863	0,5847	0,5865	0,5895	0,5793	0,5959
Redução (B)	2	1,1720	1,16885	1,1720	1,1782	1,1582	1,1906
Redução (Ho)	2	$7,00 \times 10^{-4}$ ***	$6,30 \times 10^{-4}$ ***	$7,10 \times 10^{-4}$ ***	$8,65 \times 10^{-4}$ ***	$4,04 \times 10^{-4}$ ***	$1,23 \times 10^{-3}$ ***
Resíduo	8	$1,08 \times 10^{-9}$	$1,21 \times 10^{-7}$	$1,22 \times 10^{-7}$	$1,28 \times 10^{-7}$	$1,20 \times 10^{-7}$	$1,17 \times 10^{-7}$
Total	12	0,1954	0,1949	0,1955	0,1965	0,1931	0,1986

Extração com NaHCO_3 0,01 mol/L							
Quadrados médios							
Fonte de variação	gl	QMS1	QMS2	QMS3	QMS4	QMS5	QMS6
Parâmetro	4	0,4367	0,4351	0,4347	0,4352	0,4252	0,4145
Redução (B)	2	0,8721	0,8689	0,8679	0,8691	0,8482	0,8252
Redução (Ho)	2	$1,26 \times 10^{-3}$ ***	$1,38 \times 10^{-3}$ ***	$9,20 \times 10^{-4}$ ***	$1,38 \times 10^{-3}$ ***	$2,33 \times 10^{-3}$ ***	$3,71 \times 10^{-3}$ ***
Resíduo	8	$1,18 \times 10^{-7}$	$1,06 \times 10^{-7}$	$1,18 \times 10^{-7}$	$1,10 \times 10^{-7}$	$1,11 \times 10^{-7}$	$1,18 \times 10^{-7}$
Total	12	0,1456	0,1450	0,1449	0,1451	0,1417	0,1382

Extração com KCl 1 mol/L							
Quadrados médios							
Fonte de variação	gl	QMS1	QMS2	QMS3	QMS4	QMS5	QMS6
Parâmetro	4	0,2910	0,2967	0,2891	0,2927	0,2926	0,2904
Redução (B)	2	0,8190	0,5933	0,5781	0,5854	0,5851	0,5808
Redução (Ho)	2	$3,71 \times 10^{-5}$ ***	$1,79 \times 10^{-6}$ ns	$7,40 \times 10^{-5}$ ***	$1,44 \times 10^{-5}$ ***	$1,61 \times 10^{-5}$ ***	$4,65 \times 10^{-5}$ ***
Resíduo	8	$1,16 \times 10^{-7}$	$1,18 \times 10^{-7}$	$1,15 \times 10^{-7}$	$1,19 \times 10^{-7}$	$1,16 \times 10^{-7}$	$1,18 \times 10^{-7}$
Total	12	0,0970	0,0989	0,0964	0,0976	0,0975	0,0968

***, os modelos de equações de regressão de absorvância devido ao N-NO_3^- adicionado aos extratos de solos e extratores diferem significativamente a 0,1% de probabilidade

Na matriz KCl ocorreu que a diferença significativa entre as equações de regressão, detectada pelo teste de identidade de modelos, foi constatada em condições que os coeficientes angulares para absorvância nos extratos de solo e no extrator apresentaram valores próximos. Porém, pela aproximação desses coeficientes, considerou-se a matriz KCl , em comparação às matrizes água e NaHCO_3 , mais apropriada para a utilização da EUV na análise de NO_3^- em amostras de solo.

3.2.5. ENSAIO 5: Determinação de NO_3^- em amostras de solo pela análise de extratos de KCl 1 mol/L com os métodos EUV e Kjeldahl e com a reação de Griess-Ilosvai

3.2.5.1. MATERIAL E MÉTODOS

Na extração do NO_3^- , trabalhou-se com a relação 10 g de solo : 100 mL de extrator KCl 1 mol/L em quatro repetições. As amostras de solo usadas foram os 27 materiais indicados no Quadro 6 do Ensaio 3.2.4. Os copos de extração, contendo solo e extrator, foram agitados em agitador horizontal por 30 min e, em seguida, mantidos em repouso por 16 h. Os sobrenadantes foram transferidos dos copos de extração para béqueres de 100 mL. Os extratos foram obtidos mediante a filtração lenta dos conteúdos dos béqueres.

As concentrações de NO_3^- nas amostras de solo foram determinadas por EUV considerando as leituras de absorvância nos extratos de solo e em soluções com o extrator mais concentrações crescentes de NO_3^- .

Quando foram considerados os extratos de amostras de solo, trabalhou-se com soluções de leitura contendo alíquotas de 15 mL de extratos de KCl 1 mol/L, às quais foram adicionadas 5 mL de água, ou 4 mL de água e 1 mL de H_2SO_4 1,44 mol/L, ou 4 mL de água, 1 mL de H_2SO_4 1,44 mol/L e 0,5 g de Zn^0 . A partir de matrizes semelhantes às anteriores, obtiveram-se os brancos.

Para as soluções com extrator, trabalhou-se com as concentrações de 0; 0,2, 0,4; 0,6; 0,8; e 1 mg/L de N- NO_3^- em soluções de KCl 0,75 ml/L. Para tal, foram utilizadas alíquotas de 15 mL do extrator KCl 1 mol/L e 2 mL de soluções com 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 mg/L de N- NO_3^- às quais adicionaram-se 3 mL de água; ou 2 mL de água e 1 mL de H_2SO_4 1,44 mol/L; ou 2 mL de água, 1 mL de H_2SO_4 1,44 mol/L e 0,5 g de Zn^0 .

Todas as soluções de leitura foram mantidas em repouso por 16 h, a fim de que, nesse período, ocorresse a redução do NO_3^- a NH_4^+ nos meios ácidos com Zn^0

As absorvâncias das soluções de leitura foram quantificadas em espectrofotômetro zerado com água destilada. Utilizou-se a regulagem do aparelho com os λ de 220, 225, 255 e 270 nm, para ler as absorvâncias nas

soluções sem a adição de Zn^0 ; e com os λ de 220 e 225 nm, para as soluções em que se adicionou Zn^0 .

Para obter as curvas de calibração, ajustaram-se equações de regressão de absorvância, pelas diferenças entre as leituras, a 220 e 275 nm, e a 225 e 255 nm, em função das concentrações de NO_3^- nas soluções com o extrator sem Zn^0 ; e equações de regressão, a 220 e 225 nm, pelas diferenças entre as leituras nas soluções com extrator sem e com Zn^0 , em função das concentrações de NO_3^- .

As concentrações de NO_3^- nas soluções de leitura sem Zn^0 foram determinadas considerando as diferenças entre os valores de absorvâncias quantificados a 220 e 275 nm (Equações 3 e 4) e a 225 e 255 nm (Equações 5 e 6), ajustadas às curvas de calibração.

Utilizando as análises efetuadas a 220 e 225 nm, as concentrações de NO_3^- também foram determinadas considerando as diferenças entre as leituras de absorvância nas soluções sem H_2SO_4 e com H_2SO_4 mais Zn^0 (Equações 7 e 8) ou entre as leituras de absorvância nas soluções com H_2SO_4 e com H_2SO_4 mais Zn^0 (Equações 9 e 10), ajustadas às curvas de calibração.

Curvas de calibração:

$$\begin{aligned} \text{A. } A_{220/275}H_2O &= b_0 + b_1(N-NO_3^-); & \text{B. } A_{220/275}H_2SO_4 &= b_0 + b_1(N-NO_3^-) \\ \text{C. } A_{225/255}H_2O &= b_0 + b_1(N-NO_3^-); & \text{D. } A_{225/255}H_2SO_4 &= b_0 + b_1(N-NO_3^-) \end{aligned}$$

$$\text{Eq3. A - } N-NO_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(AEH_2O_{220} - AEH_2O_{275}) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(ABH_2O_{220} - ABH_2O_{275}) - (b_0)]}{b_1}$$

$$\text{Eq4. B - } N-NO_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(AEH_2SO_4_{220} - AEH_2SO_4_{275}) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(ABH_2SO_4_{220} - ABH_2SO_4_{275}) - (b_0)]}{b_1}$$

$$\text{Eq5. C - } N-NO_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(AEH_2O_{225} - AEH_2O_{255}) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(ABH_2O_{225} - ABH_2O_{255}) - (b_0)]}{b_1}$$

$$\text{Eq6. D - } N-NO_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(AEH_2SO_4_{225} - AEH_2SO_4_{255}) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(ABH_2SO_4_{225} - ABH_2SO_4_{255}) - (b_0)]}{b_1}$$

em que: b_0 e b_1 , respectivamente, interceptos e coeficientes angular das curvas de calibração calculadas pelas diferenças entre os valores de absorvância a 220 e 275 ($A_{220/275}$) e a 225 e 255 nm ($A_{225/255}$) nas soluções com extratores e $N-NO_3^-$ sem H_2SO_4 (H_2O) e com H_2SO_4 ; $\underline{AEH_2O}$, absorvâncias nas soluções com extratos sem H_2SO_4 ; $\underline{ABH_2O}$, absorvâncias nos brancos sem H_2SO_4 ; $\underline{AEH_2SO_4}$, absorvâncias nas soluções com extratos e H_2SO_4 e $\underline{ABH_2SO_4}$, absorvâncias nos brancos com H_2SO_4 .

Curvas de calibração:

$$\begin{aligned} \text{A. } A_{220}H_2OZn^0 &= b_0 + b_1(N-NO_3^-); & \text{B. } A_{225}H_2OZn^0 &= b_0 + b_1(N-NO_3^-) \\ \text{C. } A_{220}H_2SO_4Zn^0 &= b_0 + b_1(N-NO_3^-); & \text{D. } A_{225}H_2SO_4Zn^0 &= b_0 + b_1(N-NO_3^-) \end{aligned}$$

$$\text{Eq7 } A - N-NO_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(AEH_2O_{220} - AEZn_{220}) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(ABH_2O_{220} - ABZn_{220}) - (b_0)]}{b_1}$$

$$\text{Eq8 } A - N-NO_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(AEH_2O_{225} - AEZn_{225}) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(ABH_2O_{225} - ABZn_{225}) - (b_0)]}{b_1}$$

$$\text{Eq9 } B - N-NO_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(AEH_2SO_4_{220} - AEZn_{220}) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(ABH_2SO_4_{220} - ABZn_{220}) - (b_0)]}{b_1}$$

$$\text{Eq10 } B - N-NO_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(AEH_2SO_4_{225} - AEZn_{225}) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(ABH_2SO_4_{225} - ABZn_{225}) - (b_0)]}{b_1}$$

em que: b_0 e b_1 , respectivamente, interceptos e coeficientes angular das curvas de calibração calculadas pelas diferenças entre os valores de absorvância, a 220 ou 225 nm, nas soluções com extratores sem (H_2OZn^0) e com H_2SO_4 ($H_2SO_4Zn^0$) em relação às soluções com extrator, H_2SO_4 e Zn^0 ; $\underline{AEH_2O}$, absorvâncias nas soluções com extratos sem H_2SO_4 ; \underline{AEZn} , absorvâncias nas soluções com extratos, H_2SO_4 e Zn^0 ; $\underline{ABH_2O}$, absorvâncias nos brancos sem H_2SO_4 ; \underline{ABZn} , absorvâncias nos brancos com H_2SO_4 e Zn^0 ; $\underline{AEH_2SO_4}$, absorvâncias nas soluções com extratos e H_2SO_4 ; $\underline{ABH_2SO_4}$, absorvâncias nos brancos com H_2SO_4

Para a determinação do NO_3^- com o método Kjeldahl de destilação e titulação em H_2SO_4 0,0025 mol/L e com a reação de Griess-Ilosvai foram utilizados os procedimentos recomendados por TEDESCO (1985) e GUINÉ et al. (1980), respectivamente. Todas as concentrações de NO_3^- nos extratos de amostras de solo avaliados por EUV, Kjeldahl e Griess-Ilosvai foram expressas considerando-se a unidade mg/kg de $N-NO_3^-$ no solo seco a 105 °C.

Ajustaram-se equações de regressão linear para as concentrações de NO_3^- nas amostras de solo avaliadas por EUV em função dos valores quantificados pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai. Com base nos valores de intercepto, coeficiente angular e de coeficiente de determinação de cada equação, identificou-se a forma em que a análise de NO_3^- pelo método EUV mostrou-se mais bem relacionada com as quantificações pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai.

3.2.5.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de NO_3^- , determinadas pelos métodos EUV e Kjeldahl, apresentaram valores de interceptos, coeficientes angulares e coeficientes de determinação divergentes de 0, 1 e 1, respectivamente (Figuras 2, 3, 4 e 5). Pelas

valores dos parâmetros das equações, depreende-se que os dois métodos não foram igualmente capazes de indicar as variações de NO_3^- nas amostras de solo estudadas.

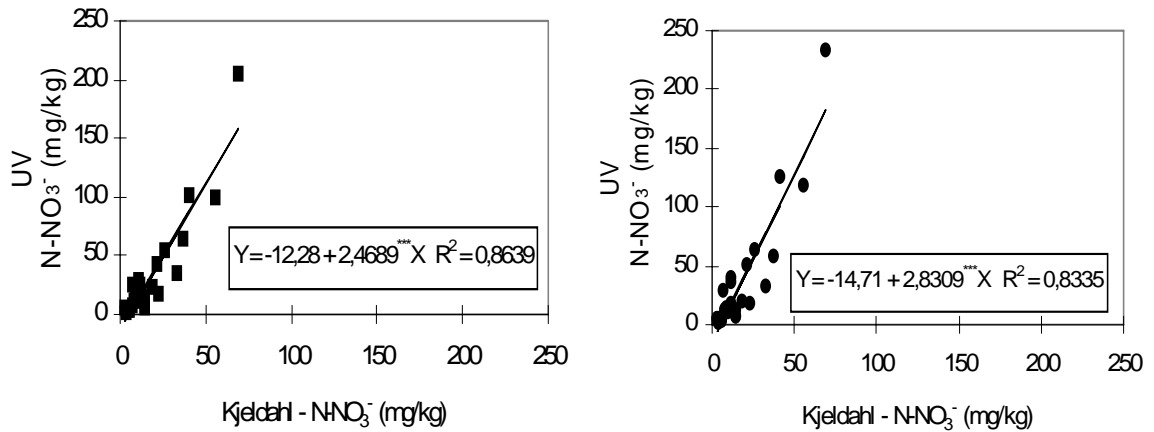


Figura 2 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelos métodos EUV (extratos de KCl sem (v) ou com H_2SO_4 (λ) - λ 220 e 275 nm) e Kjeldahl.

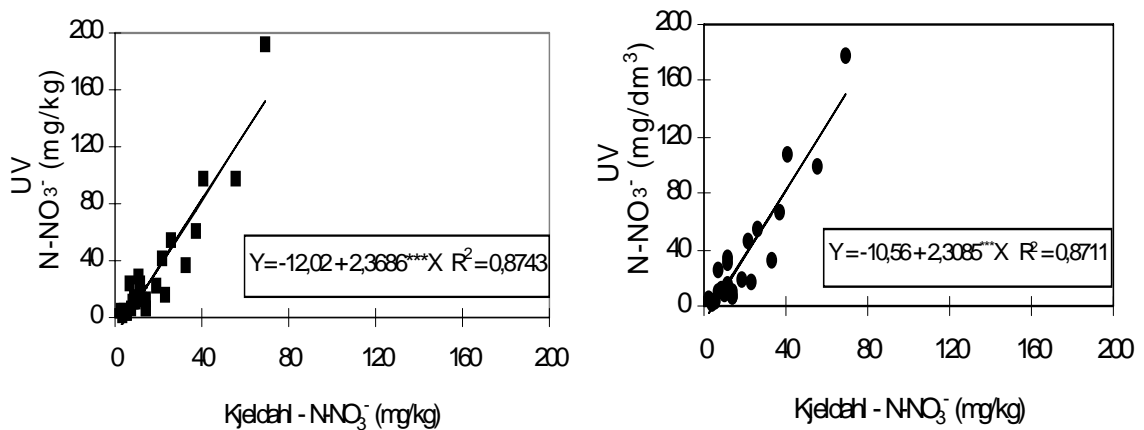


Figura 3 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelos EUV (extratos de KCl sem (v) ou com H_2SO_4 (λ) - λ 225 e 255 nm) e Kjeldahl.

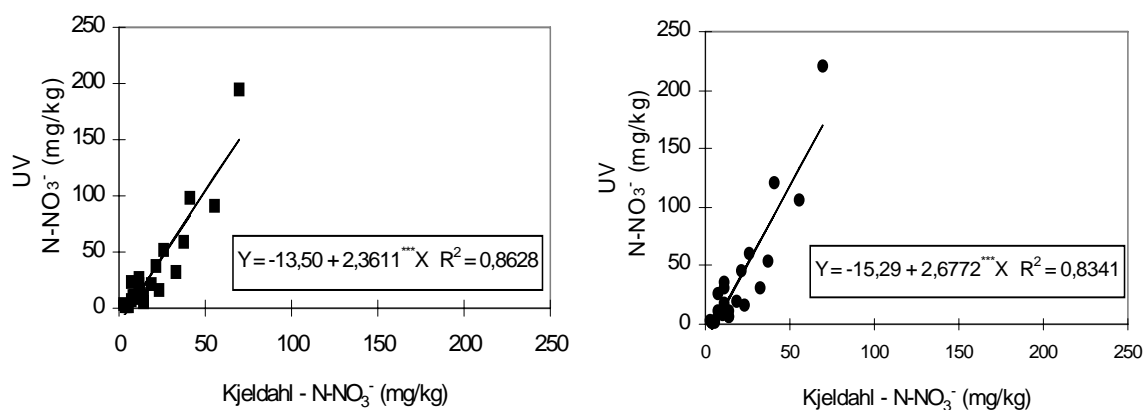


Figura 4 - Relações entre as concentrações de $N-NO_3^-$ em amostras de solo analisadas pelos métodos EUV a 220 nm (extratos de KCl sem H_2SO_4 e com Zn^0 (v) ou extratos de KCl com H_2SO_4 e com Zn^0 (λ) e Kjeldahl.

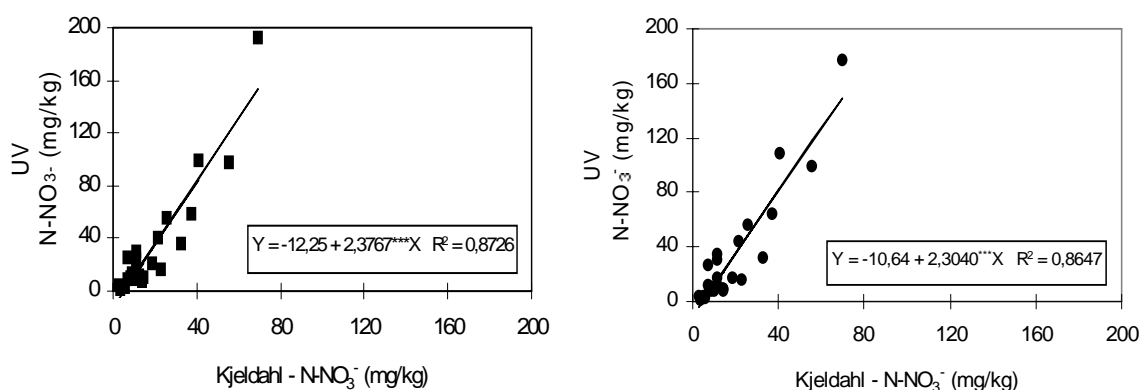


Figura 5 - Relações entre as concentrações de $N-NO_3^-$ em amostras de solo analisadas pelos métodos EUV a 225 nm (extratos de KCl sem H_2SO_4 e com Zn^0 (v) ou extratos de KCl com H_2SO_4 e com Zn^0 (λ) e Kjeldahl.

Ao contrário das avaliações de NO_3^- com os métodos EUV e Kjeldahl, o método EUV e a reação de Griess-Ilosvai explicaram, de forma mais semelhante, as variações nas concentrações de NO_3^- das amostras de solo estudadas. Isto ficou demonstrado pelas equações de regressão que, relacionando o NO_3^- detectado pelo método EUV e a reação de Griess-Ilosvai, apresentaram interceptos, coeficientes angulares e coeficientes de determinação, em sua maioria, com valores próximos de 0, 1 e 1, respectivamente (Figuras 6, 7, 8 e 9).

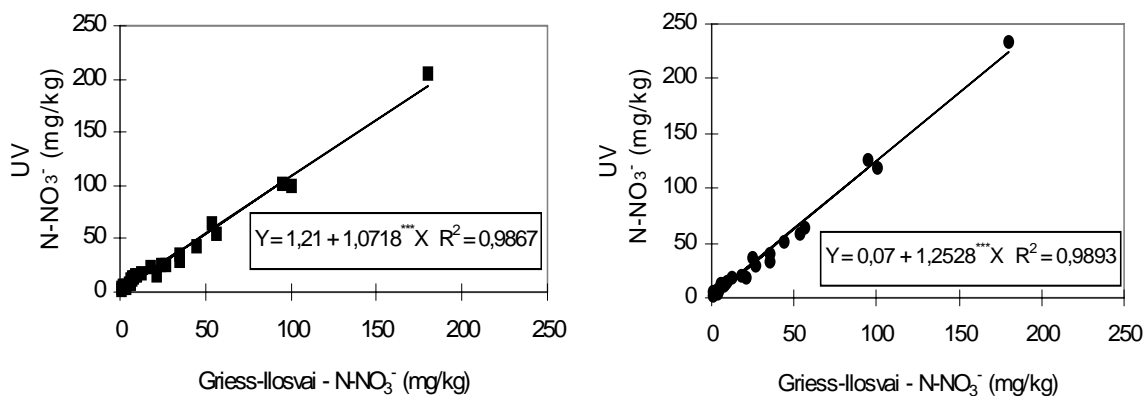


Figura 6 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelo método EUV (extratos de KCl sem (ν) ou com H_2SO_4 (λ) - λ 220 e 275 nm) e pela reação de Griess-Ilosvai.

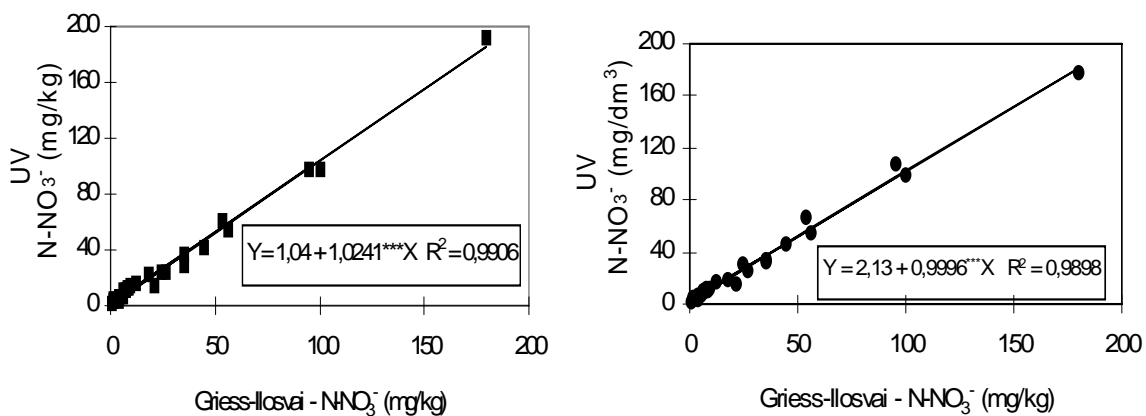


Figura 7 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelo método EUV (extratos de KCl sem (ν) ou com H_2SO_4 (λ) - λ 225 e 255 nm) e pela reação de Griess-Ilosvai.

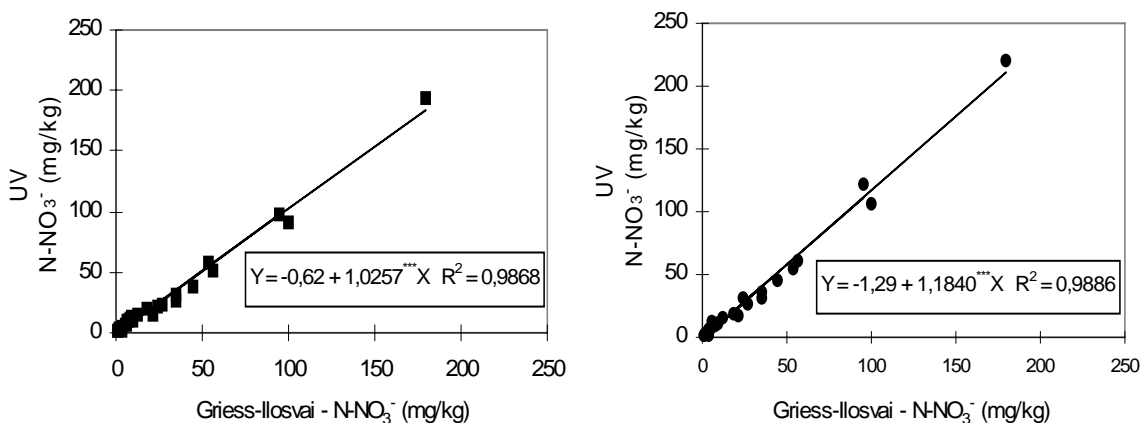


Figura 8 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelo método EUV a 220 nm (extratos de KCl sem H_2SO_4 e com Zn^0 (ν) ou extratos de KCl com H_2SO_4 e com Zn^0 (λ) e pela reação de Griess-Ilosvai.

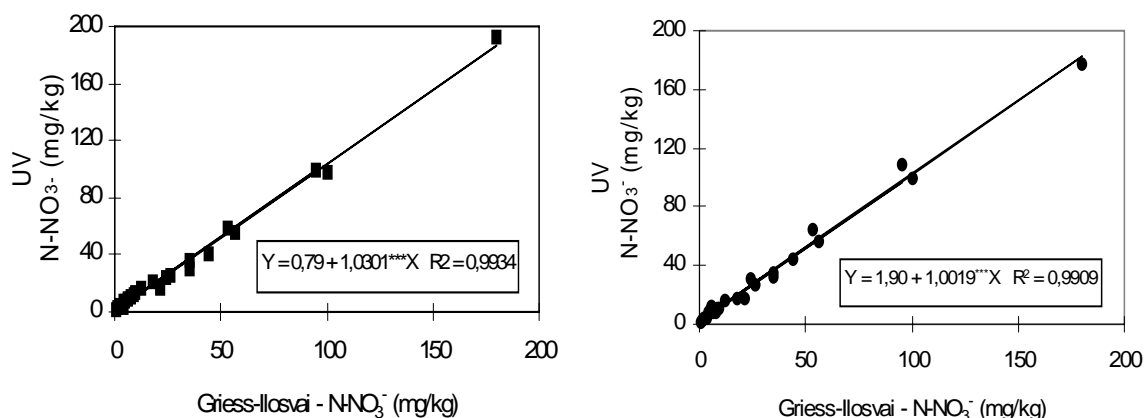


Figura 9 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelo método EUV a 225 nm (extratos de KCl sem H_2SO_4 e com Zn^0 (v) ou extratos de KCl com H_2SO_4 e com Zn^0 (λ) e pela reação de Griess-Ilosvai.

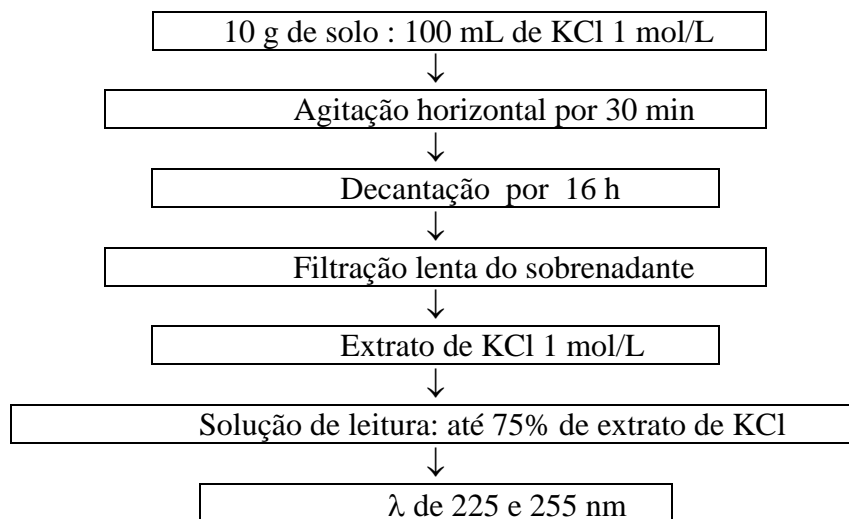
Com base nos termos das equações de regressão relacionando as concentrações de NO_3^- determinadas por EUV e pela reação de Griess-Ilosvai, constatou-se que a determinação do NO_3^- por EUV a partir de leituras de absorvância a 225 e 255 nm foi melhor em comparação às análises de absorvância com 220 e 275 nm. Também as leituras de absorvância a 225 e 255 nm foram mais adequadas para se determinar o NO_3^- em comparação às análises de absorvâncias em extratos sem e com adições de Zn^0 .

Tendo em vista a capacidade de detectarem semelhantes variações nas concentrações de NO_3^- nas amostras de solo estudadas, o método EUV pode satisfatoriamente substituir o método que considera a reação de Griess-Ilosvai na quantificação do NO_3^- . A vantagem da substituição da reação de Griess-Ilosvai pelo método EUV é que a análise de NO_3^- na faixa UV apresenta maior simplicidade analítica devido à rapidez e à economia de reagentes em comparação à dosagem colorimétrica com a reação de Griess-Ilosvai.

3.3. CONCLUSÃO

A espectrofotometria de absorção de radiação no ultravioleta (EUV) pode dosar o NO_3^- em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L. Para tal propósito, devem ser seguidos os procedimentos de extração, de preparo das soluções e das leituras indicados no fluxograma:

A. Dosagem de NO_3^- por EUV em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L



Preparam-se as soluções de leitura com até 75% de extrato de KCl 1 mol/L, dependendo da concentração de NO_3^- nas amostras de solo. São utilizadas soluções de leitura contendo o extrator KCl mais concentrações crescentes de NO_3^- (Quadro 9), para a obtenção da curva de calibração.

Quadro 9 – Alíquotas dos reagentes para o preparo de soluções com concentrações crescentes de NO_3^- adicionadas a KCl

N- NO_3^- mg/L	Solução ¹ mL	KCl 1 mol/L ² mL	Água destilada ³ mL
0,0	2	15	3
0,1	2	15	3
0,2	2	15	3
0,4	2	15	3
0,6	2	15	3
0,8	2	15	3
1,0	2	15	3

1/ Alíquota de soluções: 0, 1, 2, 4, 6, 8, e 10 mg/L de N- NO_3^- , respectivamente; 2/ Alíquota de KCl 1 mol/L que pode ser diminuída com concomitante aumento da alíquota de água destilada; 3/ Alíquota de água destilada que pode ser aumentada com concomitante diminuição da alíquota de KCl.

As soluções de leitura que contêm o extrator e concentrações crescentes de NO_3^- e aquelas com os extratos de solo são analisadas por EUV, determinando-se as suas absorvâncias a 225 e 255 nm, com espectrofotômetro zerado com água destilada.

Para obter a curva de calibração, ajusta-se uma equação de regressão para as diferenças entre as absorvâncias lidas a 225 e 255 nm em função das concentrações de NO_3^- nas soluções de leitura com o extrator.

As concentrações de NO_3^- nas soluções de leitura com os extratos de solo são determinadas pelo ajuste de suas absorvâncias à curva de calibração.

Curva de calibração

$$A = b_0 + b_1(\text{N-NO}_3^-)$$

$$\text{N-NO}_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(\text{AE}225 - \text{AE}255) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(\text{AB}225 - \text{AB}255) - (b_0)]}{b_1}$$

sendo: A, absorvâncias devido ao N- NO_3^- nas soluções com extrator e concentrações crescentes de N- NO_3^- ; b_0 e b_1 , respectivamente, interceptos e coeficientes angular calculados pelas diferenças entre as leituras de absorvâncias a 225 e 255 nm nas soluções com extrator e concentrações crescentes de N- NO_3^- ; AE225, absorvâncias nos extratos de KCl a 225 nm; AE255, absorvâncias nos extratos de KCl a 255 nm; AB225, absorvâncias nos brancos a 225 nm; AB255, absorvâncias nos brancos a 255 nm.

4. CAPÍTULO 2: Dosagem indireta de nitrato pelo método Nessler em extratos de solo obtidos com KCl

4.1. INTRODUÇÃO

O método Nessler permite rápida dosagem de NH_4^+ em amostras de tecido vegetal e de solo, uma vez que o desenvolvimento da cor nas soluções de leitura atinge maior intensidade em apenas 20 min.

No caso de amostras de solo, há duas principais limitações para se quantificar o NH_4^+ mediante o método Nessler: a estabilidade da cor é baixa, ou seja, as soluções de leitura perdem rapidamente a cor após o intervalo de 20 min; o procedimento originalmente recomendado por JACKSON (1958) é laborioso uma vez que envolve a análise de extratos de solos obtidos de pasta de saturação com NaCl 1,7 mol/L a um pH 2,5. A análise de NH_4^+ em extratos de KCl 1 mol/L teria a vantagem de simplificar a etapa de extração.

Além de quantificar o NH_4^+ , o método Nessler pode ser viável para determinar indiretamente o NO_3^- . Para isso, numa etapa anterior à dosagem é necessária a presença de um meio redutor em que NO_3^- seja convertido a NH_4^+ , o que pode ser obtido com a adição de H_2SO_4 e Zn^0 ao extrato. No extrato sem a adição do redutor determina-se o NH_4^+ , enquanto no extrato com o redutor determina-se o NH_4^+ mais NO_3^- . Pela diferença entre as concentrações de N dos extratos nas duas situações determina-se a concentração de NO_3^- .

Objetivou-se neste trabalho ajustar o método Nessler para dosar indiretamente o NO_3^- em amostras de solo com base na análise de extratos de KCl 1 mol/L contendo H_2SO_4 e Zn^0 .

4.2.1. ENSAIO 1: Desenvolvimento da cor de soluções de leitura afetadas pela concentração de reagente Nessler

4.2.1.1. MATERIAL E MÉTODOS

O reagente Nessler foi preparado em béquer de 1.000 mL pela dissolução de 45,6 g de HgI_2 e 35 g de KI em aproximadamente 100 mL de água. Em seguida, foram adicionados ao béquer 112 g de KOH e água, para se ter um volume próximo de 800 mL. A solução foi agitada em agitador magnético por 2 min e, em seguida, colocada em um balão volumétrico de 1.000 mL, completando o volume com água. A solução foi transferida para béquer de 1.000 mL e mantida no escuro por três dias, quando coletou-se o sobrenadante como reagente Nessler.

No presente ensaio, trabalhou-se com as concentrações de 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; e 1,0 mg/L de N-NH_4^+ . Para isso, consideraram-se alíquotas de 0,5 mL de soluções com 0, 2, 4, 6, 8 ou 10 mg/L de N-NH_4^+ às quais foram adicionadas 3,5 mL de água, 0,5 mL de tartarato de sódio 10 dag/L (TS) e 0,5 mL de RN, totalizando 5 mL. Noutra dosagem, foram consideradas alíquotas de 0,5 mL das soluções de N-NH_4^+ às quais foram adicionadas 2,5 mL de água, 0,5 mL de NaOH 10 dag/L, 0,5 mL de TS e 1 mL de RN. Nas duas dosagens, as soluções de leitura foram mantidas em repouso por 20 min para ocorrer o desenvolvimento da cor.

Para as leituras de absorvância, empregou-se um espectrofotômetro HITACHI modelo U-2000 com feixe duplo. As soluções de leitura, contendo

0,6 mg/L N-NH₄⁺, foram analisadas em espectrofotômetro, determinando-se o espectro de absorção de radiação visível entre 400 e 500 nm. O λ de 410 nm, em que se constatou maior absorção de radiação na concentração de 0,6 mg/L de N-NH₄⁺, foi empregado para determinar as absorvâncias em todas as demais soluções de leitura.

Às absorvâncias das soluções de leitura, ajustaram-se equações de regressão em função das concentrações de NH₄⁺ dosadas com 0,5 e 1 mL de RN. Obtiveram-se duas equações de regressão, as quais foram submetidas ao teste de identidade de modelos, para determinar se a cor apresentou, ao se desenvolver, variação significativa com o aumento da alíquota de 0,5 para 1 mL de RN.

4.2.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os coeficientes angulares das equações de regressão das absorvâncias (Quadro 1) e o teste de identidade de modelo das referidas equações (Quadro 2), a intensidade da cor nas soluções de leitura foi significativamente superior quando utilizou-se a alíquota de 1 mL de RN ao invés de 0,5 mL de RN. Assim, nos ensaios seguintes, empregou-se a relação de 1 mL de RN para 5 mL de soluções de leitura.

Quadro 1 – Equações de regressão das absorvâncias devido ao N-NH₄⁺ em soluções de leitura dosadas com 0,5 (ν) e 1 mL de RN (σ)

ν	$\hat{Y}_{abs} = 0,431 + 0,2843^{***}X$	$R^2 = 0,9993$	σ	$\hat{Y}_{abs} = -0,012 + 0,3464^{***}X$	$R^2 = 0,9947$
---	---	----------------	---	--	----------------

Quadro 2 – Resumo da análise de variância para testar a identidade dos modelos das equações de regressão para as absorvâncias devido ao N-NH₄⁺ em soluções de leitura dosadas com 0,5 e 1 mL de RN

Fonte de variação	gl	Quadrados Médios
		QM
Parâmetro	4	0,5668
Redução (B)	2	0,8794
Redução (H ₀)	2	0,2543***
Resíduo	8	5,95x10 ⁻⁵
Total	12	0,1890

***, os modelos de equações de regressão de absorvância devido ao N-NH₄⁺ em soluções de leitura dosadas com 0,5 e 1 mL de RN diferem significativamente entre si a 0,1% de probabilidade

4.2.2. ENSAIO 2: Taxas de redução de NO_3^- a NH_4^+ com a adição de Zn^0 em meios contendo 36, 72 e 108 mmol/L de H_2SO_4

4.2.2.1. MATERIAL E MÉTODOS

Trabalhou-se com as concentrações de 0, 1, 2, 3, 4, e 5 mg/L de N em soluções de KCl 0,75 mol/L acrescidas de H_2SO_4 e Zn^0 . As concentrações ácidas utilizadas foram: 36, 72 e 108 mmol/L de H_2SO_4 . No preparo dessas soluções, foram consideradas alíquotas de 2 mL de soluções com 0, 10, 20, 30, 40, ou 50 mg/L de N- NH_4^+ ou de N- NO_3^- às quais foram adicionadas 15 mL de KCl 1 mol/L, 2 mL de água, 1 mL de H_2SO_4 (0,72; 1,44 ou 2,16 mol/L) e 0,5 g de Zn^0 .

As soluções contendo NH_4^+ (solA) e NO_3^- (solB) foram mantidas em repouso por 16 h, a fim de que, nesse período, ocorresse a redução do NO_3^- a NH_4^+ nas solB.

As soluções de leitura contiveram alíquotas de 1 mL de solA ou solB, às quais foram adicionados 2 mL de água, 0,5 mL de NaOH 10 dag/L, 0,5 mL de TS e 1 mL de RN, totalizando 5 mL. Assim, as concentrações avaliadas nas soluções de leitura foram: 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; e 1 mg/L de N. As soluções de leitura foram mantidas em repouso por 20 min para ocorrer o desenvolvimento da cor.

As absorvâncias nas soluções de leitura foram determinadas em espectrofotômetro regulado no λ de 410 nm. Ajustaram-se regressões lineares, para a variação de absorvância em função das concentrações de NH_4^+ .

Para cada concentração de H_2SO_4 , os valores de absorvâncias determinadas nas soluções contendo solB foram ajustadas às equações de regressão obtidas de solA. Assim, por esse procedimento, quantificaram-se as concentrações de NH_4^+ nas soluções de leitura contendo solB e solA que resultaram em mesmos valores de absorvâncias. Para determinar a taxa de redução de NO_3^- a NH_4^+ , efetuou-se o ajuste de regressão das concentrações de NH_4^+ provenientes de solA e solB. O coeficiente angular da referida regressão indicou a taxa de redução de NO_3^- a NH_4^+ .

4.2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As equações de regressão para as absorvâncias nas soluções de leitura contendo solA e solB com 108 mmol/L de H₂SO₄ apresentaram coeficientes angulares inferiores aos estimados em soluções com 36 e 72 mmol/L de H₂SO₄ (Quadro 3). Entretanto, considerando o teste de identidade de modelos, constatou-se que as leituras de absorvâncias não diferiram significativamente quando se utilizaram 36, 72 e 108 mmol/L de H₂SO₄ (Quadro 4). Assim, a análise de regressão conjunta (Quadro 3) foi suficiente para explicar a variação das absorvâncias em função das concentrações de NH₄⁺ nas três concentrações ácidas.

Quadro 3 – Equações de regressão das absorvâncias devido ao N-NH₄⁺ em soluções de leitura contendo solA e solB com as concentrações de 36 (ν), 72 (σ) e 108 mmol/L de H₂SO₄ (λ) na presença de Zn⁰; e análise de regressão conjunta (+)

solA		SolB	
ν	$\hat{Y}_{abs} = -0,035 + 0,5123^{***}X$ R ² = 0,9787	ν	$\hat{Y}_{abs} = -0,026 + 0,4813^{***}X$ R ² = 0,9849
σ	$\hat{Y}_{abs} = -0,016 + 0,4787^{***}X$ R ² = 0,9938	σ	$\hat{Y}_{abs} = -0,021 + 0,4870^{***}X$ R ² = 0,9929
λ	$\hat{Y}_{abs} = -0,034 + 0,4627^{***}X$ R ² = 0,9830	λ	$\hat{Y}_{abs} = -0,032 + 0,4291^{***}X$ R ² = 0,9745
+	$\hat{Y}_{abs} = -0,028 + 0,4849^{***}X$ R ² = 0,9876	+	$\hat{Y}_{abs} = -0,026 + 0,4658^{***}X$ R ² = 0,9886

Quadro 4 – Resumo da análise de variância para testar a identidade dos modelos das equações de regressão para as absorvâncias devido ao N-NH₄⁺ em soluções de leitura contendo solA (QMsolA) e solB (QMsolB) com as concentrações de 36 (ν), 72 (σ) e 108 mmol/L de H₂SO₄ (λ) na presença de Zn⁰

Fonte de variação	gl	Quadrados médios	
		QMsolA	QMsolB
Parâmetro	6	0,2205	0,2051
Redução (B)	2	0,6597	0,6118
Redução (Ho)	4	8,80x10 ⁻⁴ ns	1,72x10 ⁻³ ns
Resíduo	12	6,34x10 ⁻⁴	5,88x10 ⁻⁴
Total	18	0,0739	0,0688

ns, os modelos de equações de regressão de absorvância devido ao N-NH₄⁺ em soluções de leitura contendo solA e solB com as concentrações de 36, 72 e 108 mmol/L de H₂SO₄ na presença de Zn⁰ não diferem significativamente a 0,1% de probabilidade

A ausência de diferença significativa entre as equações de regressão das absorvâncias, combinada à presença de coeficientes angular com valores

relativamente discrepantes nas relações ácidas testadas, indica que o erro experimental foi elevado no ensaio, reduzindo a confiabilidade dos resultados analíticos.

Com base nas equações de regressão relacionando as concentrações de NH_4^+ nas soluções de leitura contendo solA e solB, a concentração de 72 mmol/L de H_2SO_4 , em comparação às de 36 e 108 mmol/L de H_2SO_4 , permitiu maior taxa de redução do NO_3^- a NH_4^+ , ou seja, possibilitou coeficientes angulares mais próximos de 1 (Figura 1). Assim, no ensaio seguinte, visando a determinação indireta de NO_3^- com o método Nessler, foram preparadas soluções com 15 mL de extratos de KCl 1 mol/L, 1 mL de H_2SO_4 1,44 mol/L e 0,5 g de Zn^0 , a fim de reduzir o NO_3^- a NH_4^+ durante 16 h.

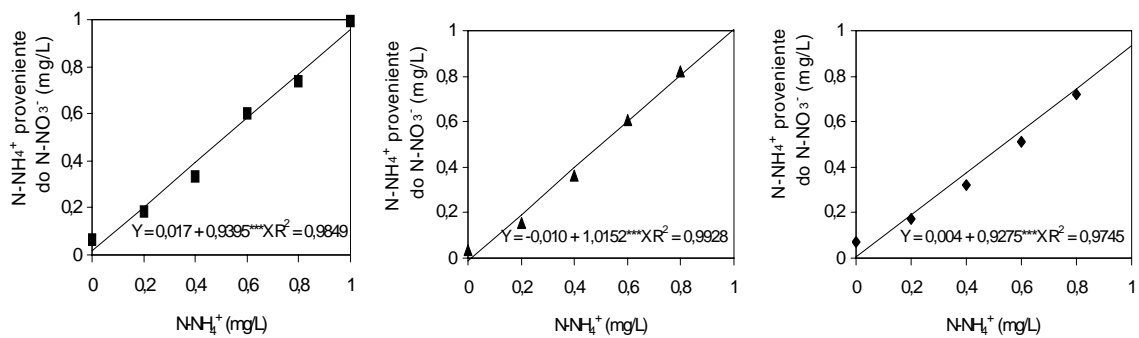


Figura 1 – Concentrações de N-NH_4^+ provenientes da redução do N-NO_3^- necessárias para repetirem as absorvâncias estimadas em soluções provenientes de N-NH_4^+ com 36 (+), 72 (σ) e 108 mmol/L de H_2SO_4 (v).

4.2.3. ENSAIO 3: Determinação de NO_3^- em amostras de solo pela análise de extratos de KCl 1 mol/L com os métodos Nessler e Kjeldahl e com a reação de Griess-Ilosvai

4.2.3.1. MATERIAL E MÉTODOS

Na extração do NO_3^- , trabalhou-se com a relação 10 g de solo : 100 mL de extrator KCl 1 mol/L, em quatro repetições. As amostras de solo usadas foram os 27 materiais indicados no Quadro 5. Os copos de extração, contendo solo e

extrator, foram agitados em agitador horizontal por 30 min e, em seguida, mantidos em repouso por 16 h. Transferiram-se os sobrenadantes dos copos de extração para béqueres de 100 mL. Os extratos foram obtidos mediante a filtração lenta dos conteúdos dos béqueres.

Quadro 5 - Características químicas e físicas de amostras de solo secadas à sombra e passadas em peneira de malha de 2 mm (TFSA), empregadas nas dosagens indiretas de NO_3^- pelo método Nessler

Amostra de solo	C.O. ⁽¹⁾ dag/kg	pH H ₂ O	P ⁽²⁾ mg/dm ³	K ⁽²⁾	Al ³⁺ ⁽³⁾	Ca ²⁺ ⁽³⁾	Mg ²⁺ ⁽³⁾	H+Al ⁽⁴⁾	Textura ⁽⁵⁾			
									Ag	Af	S	A
S1	1,71	5,0	1,50	48	0,7	0,50	0,20	6,6	15	10	7	68
S2	0,69	6,2	20,80	184	0,0	2,80	0,70	3,1	39	24	10	27
S3	0,69	5,8	4,90	53	0,0	1,70	0,50	2,5	41	24	10	25
S4	1,40	4,8	1,80	35	0,3	0,30	0,10	6,9	4	39	8	49
S5	1,20	5,2	1,20	30	1,5	0,10	0,40	4,5	42	22	6	30
S6	0,60	4,9	1,60	27	0,4	0,10	0,00	2,9	30	55	2	13
S7	3,20	4,7	3,40	80	1,0	1,00	0,20	9,6	9	5	5	81
S8	1,08	5,7	58,40	109	0,0	3,30	0,50	3,8	33	19	10	38
S9	1,17	5,6	68,50	107	0,0	3,50	0,60	4,1	33	19	10	38
S10	1,55	5,6	71,10	91	0,0	3,20	0,50	4,1	33	19	10	38
S11	1,55	5,5	71,10	69	0,0	3,50	0,50	4,1	33	19	10	38
S12	1,55	5,5	63,40	68	0,0	3,20	0,50	3,5	33	19	10	38
S13	1,32	5,3	73,70	88	0,0	3,30	0,50	4,8	33	19	10	38
S14	1,55	5,1	56,00	102	0,0	3,00	0,40	5,0	33	19	10	38
S15	1,57	5,8	22,10	93	0,0	1,45	0,64	2,0	31	41	6	22
S16	0,60	5,6	5,85	50	0,1	1,27	0,51	2,0	38	37	4	21
S17	2,99	5,2	0,56	60	0,1	0,83	0,44	4,0	12	6	29	53
S18	2,86	6,8	39,70	259	0,0	6,84	0,91	2,3	12	9	31	48
S19	7,68	4,9	2,49	38	1,3	0,14	0,11	12,9	45	10	13	32
S20	4,42	4,7	18,24	184	0,4	2,17	0,99	10,9	27	12	15	46
S21	2,71	4,6	13,50	264	1,0	2,61	0,66	7,9	10	9	21	60
S22	1,49	6,2	17,27	48	0,0	1,93	0,51	0,7	77	16	1	6
S23	1,28	6,3	16,34	50	0,0	2,00	0,45	0,7	75	16	2	7
S24	2,39	5,2	0,56	32	0,1	0,75	0,21	3,3	8	28	15	49
S25	2,74	5,9	5,80	62	0,1	3,87	0,23	5,6	10	9	21	60
S26	12,60	4,3	3,5	25	2,1	0,49	0,15	12,5	45	11	21	23
S27	4,55	4,5	2,90	49	1,6	0,27	0,64	10,9	14	6	7	73

1/ Método de Walkley-Black (DEFELIPO e RIBEIRO, 1981); 2/ Extrator Mehlich - 1 (VETTORI, 1969); 3/ Extrator KCl 1 mol/L (VETTORI, 1969); 4/ Extrator Ca(OAc)₂ 0,5 mol/L, pH 7,00 (VETTORI, 1969); 5/ Método da Pipeta (EMBRAPA, 1979); Ag - Areia grossa; Af - Areia fina; S - Silte; A - Argila.

Os extratos de solo foram utilizados no preparo de soluções sem H₂SO₄, com H₂SO₄ e com H₂SO₄ mais Zn⁰. Para isso, foram utilizadas alíquotas de 15 mL de extratos dos solos, às quais foram adicionadas 5 mL de água (solA), ou 4 mL de água e 1 mL de H₂SO₄ 1,44 mol/L (solB); ou 4 mL de água, 1 mL de H₂SO₄ 1,44 mol/L e 0,5 g de Zn⁰ (solC).

Também obtiveram-se as concentrações de 0, 1, 2, 3, 4, e 5 mg/L de N-NH₄⁺ sem (solD) e com H₂SO₄ (solE), e as concentrações de 0, 1, 2, 3, 4, e 5 mg/L de N-NO₃⁻ com H₂SO₄ e Zn⁰ (solF). Para o propósito, utilizaram-se

soluções contendo 15 mL do extrator KCl 1 mol/L mais concentrações crescentes de NH_4^+ ou de NO_3^- , conforme a matriz estudada.

Todas as soluções, de solA a solF, foram mantidas em repouso por 16 h, a fim de que, nesse período, ocorresse a redução do NO_3^- a NH_4^+ nos meios ácidos com Zn^0 .

As soluções de leitura contiveram alíquotas de 1 mL de solA, solB, solC, solD, solE ou solF, às quais foram adicionadas, seqüencialmente, 2 mL de água, 0,5 mL de NaOH 10 dag/L, 0,5 mL de TS e 1 mL de RN, totalizando 5 mL.

As absorvâncias nas soluções de leitura foram determinadas em espectrofotômetro regulado no λ de 410 nm. Ajustaram-se regressões lineares, para a variação de absorvância em função das concentrações de NH_4^+ nas soluções de leitura contendo solD, solE e solF, obtendo-se, assim, as curvas de calibração.

As concentrações de NH_4^+ , nas soluções de leitura contendo solA e solB, foram determinadas pelo ajuste de suas absorvância às curvas de calibração obtidas de soluções de leitura com solD e solE, respectivamente. As concentrações de NH_4^+ mais NO_3^- , nas soluções de leitura contendo solC, foram determinadas levando-se em conta o ajuste de suas absorvâncias às curvas de calibração obtidas de soluções com solF. Pela diferença entre os teores de N nas soluções com solC em relação às com solA e solB, quantificou-se o NO_3^- .

Para a determinação do NO_3^- com o método Kjeldahl de destilação e titulação em H_2SO_4 0,0025 mol/L e com a reação de Griess-Ilosvai utilizaram-se os procedimentos recomendados por TEDESCO (1985) e GUINÉ et al. (1980), respectivamente. Todas as concentrações de NO_3^- , nos extratos de amostras de solo avaliados pelos métodos Nessler e Kjeldahl, e pela reação de Griess-Ilosvai, foram expressas considerando a unidade mg/kg de N- NO_3^- no solo seco a 105 °C.

Ajustaram-se equações de regressão linear para as concentrações de NO_3^- nas amostras de solo avaliadas pelo método Nessler em função dos valores quantificados pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai. Com base nos valores de intercepto, coeficiente angular e de coeficiente de determinação de cada equação, identificou-se a forma em que a análise de NO_3^- pelo método

Nessler melhor relacionou-se com as quantificações pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai.

Ajustaram-se equações de regressão linear para as concentrações de NO_3^- nas amostras de solo avaliadas pelo método Nessler em função dos valores quantificados pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai. Com base nos valores de intercepto, coeficiente angular e de coeficiente de determinação de cada equação, identificou-se a forma em que a análise de NO_3^- pelo método Nessler mostrou-se mais bem relacionada com as quantificações pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai.

4.2.3.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As equações de regressão das concentrações de NO_3^- , determinadas pelos métodos Nessler e Kjeldahl, apresentaram valores de interceptos, coeficientes angulares e coeficientes de determinação divergentes de 0, 1 e 1, respectivamente (Figura 2). Assim, pelos valores dos parâmetros das equações, depreende-se que os dois métodos não foram igualmente capazes de indicar as variações de NO_3^- nas amostras de solo estudadas.

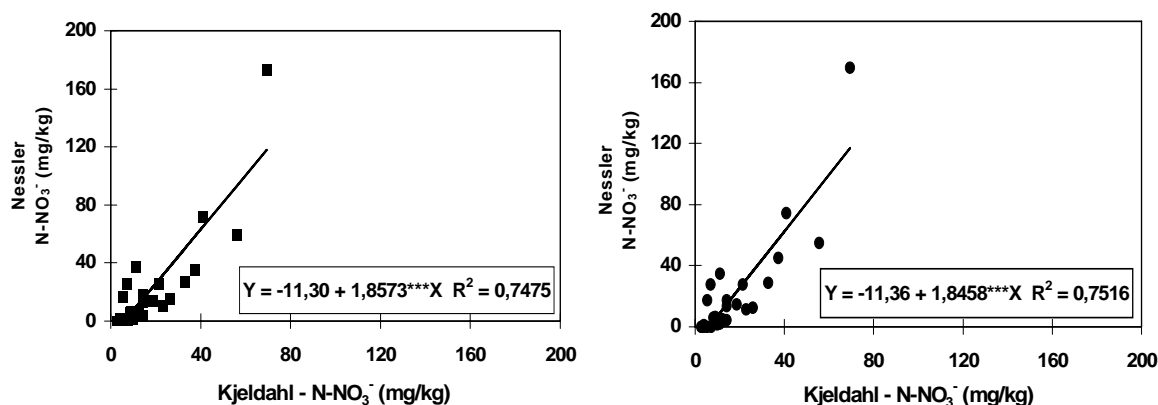


Figura 2 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelos métodos Nessler (extratos de KCl tratados com Zn^0 em relação a extratos com Zn^0 (ν) ou extratos de KCl com Zn^0 em relação a extratos com H_2SO_4 (λ)) e Kjeldahl.

Ao contrário das avaliações de NO_3^- com os métodos Nessler e Kjeldahl, as equações de regressão para as concentrações de NO_3^- determinadas pelo método Nessler e pela reação de Griess-Ilosvai demonstram que os dois métodos explicam, de forma mais semelhante, as variações nas concentrações de NO_3^- das amostras de solo estudadas. Isto se explica em razão de as equações de regressão para o NO_3^- determinado pelo método Nessler e pela reação de Griess-Ilosvai terem apresentado interceptos, coeficientes angulares e coeficientes de determinação mais próximos de 0, 1 e 1 (Figura 3) em comparação às quantificações de NO_3^- pelos métodos Nessler e Kjeldahl (Figura 2).

Considerando que as concentrações de NO_3^- determinadas pelo método Nessler foram em média 0,8341 e 0,8223 vezes os valores quantificados pela reação de Griess-Ilosvai, a utilização do método Nessler com o ajuste proposto não se mostrou adequada para determinar indiretamente o NO_3^- em extratos de solo obtidos com KCl 1 mol/L. Assim, novos ajustes são necessários para que a quantificação de NO_3^- pelo método Nessler possa atender ao objetivo.

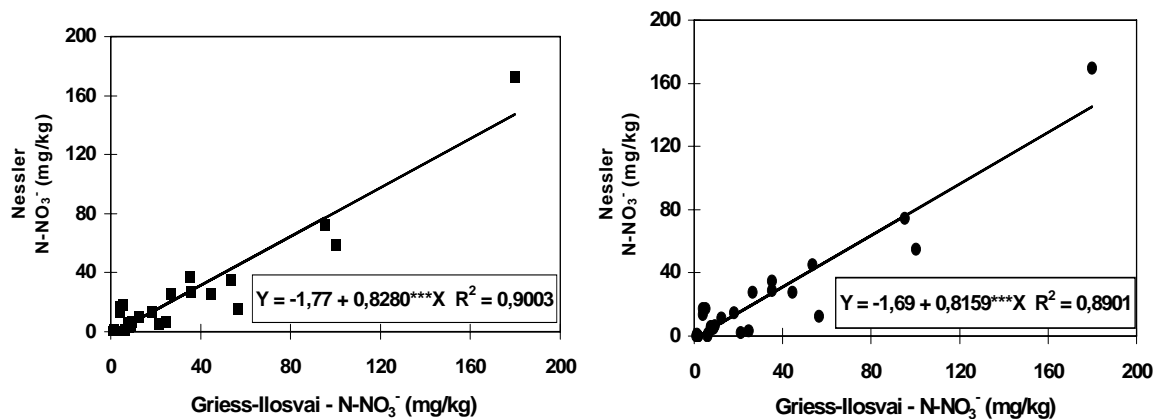
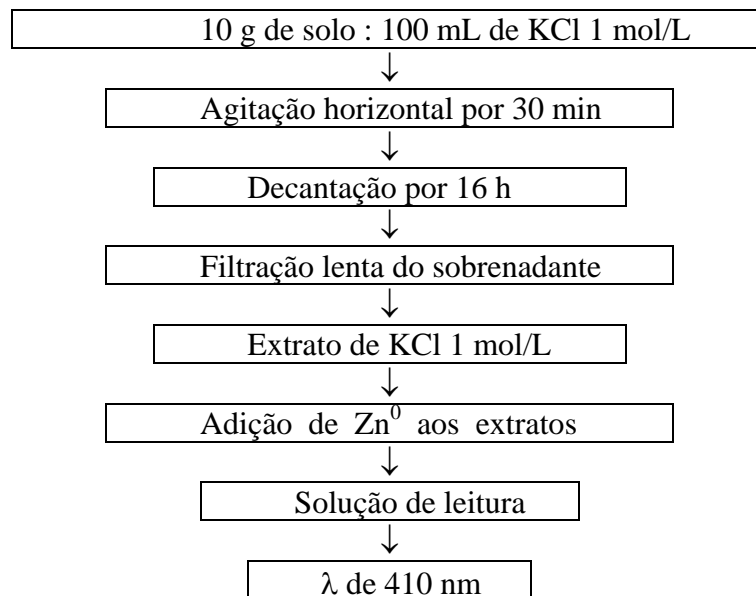


Figura 3 - Relações entre as concentrações de N-NO₃⁻ em amostras de solo analisadas pelo método Nessler (extratos de KCl tratados com Zn⁰ em relação a extratos com Zn⁰ (v) ou extratos de KCl com Zn⁰ em relação a extratos com H₂SO₄ (λ)) e pela reação de Griess-Ilosvai.

4.3. CONCLUSÃO

Recomenda-se a utilização do método Nessler para dosar indiretamente o NO_3^- em extratos de KCl 1 mol/L de acordo com o fluxograma a seguir:

B. Dosagem indireta de NO_3^- pelo método Nessler em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L



Os extratos de KCl 1 mol/L são subdivididos efetuando-se o preparo de soluções sem e com a adição de Zn^0 , redutor que converte o NO_3^- a NH_4^+ (Quadro 6). Também utiliza-se o extrator KCl acrescido de soluções com

concentrações crescentes de NH_4^+ (solA) ou de NO_3^- (solB) (Quadro 7), a fim de se obter as posteriores curvas de calibração das concentrações de NH_4^+ e de NO_3^- nas amostras de solo. Todas as soluções detalhadas nos Quadros 6 e 7 devem ser mantidas em repouso por 16 h, para que ocorra a efetiva redução do NO_3^- a NH_4^+ nos meios ácidos contendo Zn^0 .

Quadro 6 - Alíquotas dos reagentes para o preparo das soluções com extratos de solos obtidos com KCl sem e com Zn^0

Extrato de KCl	sem Zn^0		Zn^0		
	H_2O	H_2SO_4	H_2O	H_2SO_4	Zn^0
mL	mL	mL	mL	mL	g
15	4	1	4	1	0,5

Quadro 7 - Alíquotas dos reagentes para o preparo de solA e solB

Conc. N- NH_4^{+1}	solA				solB				
	N- NH_4^{+2}	H_2O	KCl 1 mol/L	H_2SO_4 1,44 mol/L	N- NO_3^{-3}	H_2O	KCl 1 mol/L	H_2SO_4 1,44 mol/L	Zn^0
mg/L	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	g
0	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
1	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
2	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
3	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
4	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
5	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5

1/Corresponderá às concentrações equivalentes de N- NH_4^+ ; 2/Alíquota das soluções: 0, 10, 20, 30, 40, e 50 mg/L de N- NH_4^+ , respectivamente; 3/Alíquota das soluções: 0, 10, 20, 30, 40, e 50 mg/L de N- NO_3^- , respectivamente.

As soluções de leitura são preparadas com 1 mL dos sobrenadantes das solA, solB ou das soluções com extratos, às quais adicionam-se seqüencialmente 2 mL de água, 0,5 mL de NaOH 10 dag/L, 0,5 mL do tartarato de sódio 10 dag/L e 1 mL do reagente Nessler (RN), totalizando 5 mL. Após a adição do RN, as soluções de leitura são mantidas em repouso por 20 min para o desenvolvimento da cor.

Para a leitura de absorvância, utiliza-se a regulagem do espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm. Ajustam-se regressões lineares, para a variação de absorvância em função das concentrações de NH_4^+ nas soluções de leitura contendo solA e solB para se obter as curvas de calibração.

As concentrações de NH_4^+ , nas soluções de leitura com extratos de solo sem Zn^0 , são determinadas pelo ajuste de suas absorvância à curva de calibração obtidas de soluções de leitura contendo solA. As concentrações de NH_4^+ mais NO_3^- , nas soluções de leitura com extratos e Zn^0 , são determinadas pelo ajuste de suas absorvâncias às curvas de calibração obtidas de soluções contendo solB.

Pela diferença entre os teores de N nas soluções contendo extratos com e sem Zn^0 , quantifica-se indiretamente o NO_3^- pelo método Nessler.

Curva de calibração

$$A = b_0 + b_1(\text{N-NH}_4^+) \quad s/\text{Zn}^0$$

$$A = b_0 + b_1(\text{N-NH}_4^+) \quad c/\text{Zn}^0$$

$$\text{N-NH}_4^+ \text{ (mg/L)} = \frac{[(\underline{AE} - \underline{AB}) - (b_0)]}{b_1} \quad s/\text{Zn}^0$$

$$\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(\underline{AE} - \underline{AB}) - (b_0)]}{b_1} \quad c/\text{Zn}^0$$

$$\text{N-NO}_3^- \text{ (mg/L)} = (\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-) - (\text{N-NH}_4^+)$$

sendo: A, absorvâncias devido ao N-NH_4^+ nas soluções de leitura contendo solA (s/Zn^0) e solB (c/Zn^0); b_0 e b_1 , respectivamente, interceptos e coeficientes angulares das curvas de calibração; \underline{AE} , absorvâncias nas soluções de leitura contendo soluções com extratos sem ou com Zn^0 ; \underline{AB} , absorvâncias nos brancos sem ou com Zn^0 .

5. CAPÍTULO 3: Dosagem indireta de nitrato pelo método do salicilato em extratos de solo obtidos com KCl

5.1. INTRODUÇÃO

O método do salicilato é utilizado para dosar o NH_4^+ em extrato de amostra de solo obtido com KCl 1 mol/L, por meio de uma reação que se desenvolve em pH entre 12 e 13. Nesta faixa de pH desencadeiam-se a conversão de NH_4^+ a NH_3 e a dissociação de H^+ de moléculas de salicilato. Tal procedimento permite a reação da NH_3 com o salicilato, que, em presença de NaOCl (agente oxidante), desenvolve uma coloração azul, cuja intensidade é proporcional à concentração de NH_4^+ no extrato.

A dosagem de NH_4^+ pelo método do salicilato é afetada por cátions, como Ca^{2+} e Mg^{2+} , que, na faixa de pH de 12 a 13, podem ser convertidos em hidróxidos, os quais são responsáveis pela formação de precipitado nas soluções de leitura. Por isto, na dosagem utilizam-se complexantes como citrato de sódio, EDTA ou tartarato de sódio, que complexam os cátions interferentes e viabilizam a formação de soluções cristalinas.

Aplicado ao extrato de KCl de 1 mol/L, o método do salicilato também pode dosar indiretamente o NO_3^- , gerando alternativas para analisar o NO_3^- , considerando que outros métodos específicos de dosagem de NO_3^- são afetados pela alta concentração de Cl^- . Para tal propósito, anterior à dosagem pelo método do salicilato, o NO_3^- deverá ser reduzido a NH_4^+ .

O zinco metálico (Zn^0) em meio com H_2SO_4 é um dos redutores recomendados para converter o NO_3^- em NH_4^+ . No entanto, trabalhos iniciais, conduzidos no laboratório de nutrição mineral de plantas/UFV, demonstraram que o método do salicilato descrito por KEMPERS e ZWEERS (1986) foi inadequado para dosar indiretamente o NO_3^- devido à formação de precipitado nas soluções de leitura.

Objetivou-se, neste trabalho, ajustar o método do salicilato para dosar indiretamente o NO_3^- extraído de amostras com KCl 1 mol/L.

5.2.1. ENSAIO 1: Dosagem de NH_4^+ com diferentes ajustes ao método do salicilato

5.2.1.1. MATERIAL E MÉTODOS

De acordo com trabalhos iniciais, a dosagem indireta de NO_3^- com o método do salicilato descrito por KEMPERS e ZWEERS (1986) foi inadequada devido à formação de um precipitado de consistência leitosa nas soluções de leitura. Alguns ajustes permitiram soluções de leitura cristalinas para a dosagem indireta de NO_3^- mediante o método do salicilato.

O objetivo deste ensaio foi determinar o efeito de diferentes ajustes ao método do salicilato sobre o desenvolvimento da cor nas soluções de leitura.

Na dosagem do NH_4^+ , foram utilizadas quatro soluções reagentes: Ra, Rb, Rc e NaOCl. A solução Ra consistiu da mistura de 33 g de salicilato de sódio com 0,02 g de nitroprussiato de sódio; a Rb, de 9,33 g de citrato de sódio com 4 g de NaOH; e a Rc, de 8,4 g de EDTA com 5,6 g de NaOH dissolvidos com água destilada e diluídas em volume de 100 mL. As soluções Ra e Rb foram misturadas numa relação de uma parte de Ra com duas partes de Rb, a fim de se obter a solução R(a+b) utilizada no preparo das soluções de leitura.

A solução R(a+b) foi mantida sob refrigeração e utilizada dentro de, no máximo, uma semana. O NaOCl 2 cL/L, reagente que favoreceu as condições oxidantes para o desenvolvimento da cor das soluções de leitura, foi preparado imediatamente antes da utilização, a partir de diluição de uma solução de NaOCl 10 cL/L mantida sob refrigeração.

Neste ensaio, trabalhou-se com as concentrações de 0; 0,5; 1; 2; 3; e 4 mg/L de N-NH_4^+ em soluções de KCl 0,75 mol/L. Para tal, utilizaram-se alíquotas de 2 mL de soluções com 0, 5, 10, 20, 30, ou 40 mg/L de N-NH_4^+ , às quais foram adicionadas 3 mL de água e 15 mL de KCl 1 mol/L, totalizando 20 mL.

As concentrações nas soluções de leitura foram 0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; e 0,8 mg/L de N-NH_4^+ . Para esta finalidade, trabalhou-se com alíquotas de 1 mL das soluções com 0; 0,5; 1; 2; 3; ou 4 mg/L de N-NH_4^+ , às quais foram adicionadas sequencialmente 3 mL de água, 0,9 mL de R(a+b) e 0, 1 mL de NaOCl 2 cL/L (KEMPERS e ZWEERS); ou 2,5 mL de água, 0,9 mL de R(a+b), 0, 1 mL de NaOCl e 0,5 mL de NaOH 20 dag/L (Ajuste-NaOH); ou 2,1 mL de água, 1,8 mL de R(a+b) e 0, 1 mL de NaOCl (Ajuste-Rab); ou 2,5 mL de água, 0,9 mL de R(a+b), 0, 1 mL de NaOCl e 0,5 mL de Rc (Ajuste-Rc); ou 2,5 mL de água, 0,5 mL de Rb, 0,9 mL de R(a+b) e 0, 1 mL de NaOCl (Ajuste-Rb), totalizando 5 mL.

Quando trabalhou-se com o Ajuste-Rc, foi considerado um intervalo de 30 min entre a adição de NaOCl 2 cL/L e a solução Rc, pois testes iniciais indicaram que a adição de Rc imediatamente após ou em intervalos inferiores a este tempo comprometia o desenvolvimento da cor das soluções de leitura.

As soluções de leitura em todos os procedimentos de dosagens foram mantidas em repouso por 2 h para que ocorresse o desenvolvimento da cor.

As absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro regulado para 660 nm. A utilização deste λ ao invés de 646 nm recomendado por KEMPERS e ZWEERS (1986), deveu-se em razão de os testes preliminares de determinação do espectro de absorção de radiação visível indicarem picos de absorção de radiação a 660 nm nas soluções de leitura dosadas com o método do salicilato.

Ajustaram-se regressões para a variação das absorvâncias em função das concentrações de NH_4^+ , dentro de cada um dos procedimentos de dosagens. As equações de regressão de absorvâncias nas soluções de leitura com os ajustes propostos ao método do salicilato foram submetidas ao teste de identidade de modelos em relação à dosagem com o procedimento descrito por KEMPERS e

ZWEERS (1986) para determinar se os ajustes propiciaram alterações na sensibilidade do método do salicilato.

5.2.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com as equações de regressão (Quadro 1) e o teste de identidade de modelos (Quadro 2) para as absorvâncias de soluções de leitura dosadas com o Ajuste-NaOH, Ajuste-Rab e Ajuste-Rb, a intensidade da cor azul não diferiu significativamente da dosagem com o procedimento descrito por KEMPERS e ZWEERS (1986). Ainda de acordo com as equações e o teste de identidade modelos, apenas o Ajuste-Rc propiciou aumento significativo na sensibilidade do método do salicilato em comparação à dosagem recomendada por KEMPERS e ZWEERS (1986).

Quadro 1 – Equações de regressão das absorvâncias devido ao $N-NH_4^+$ dosado pelo método do salicilato com o procedimento descrito por KEMPERS e ZWEERS (1986) (v) e com o Ajuste-NaOH (σ), Ajuste-Rab (λ), Ajuste-Rc (v) Ajuste-Rb ($+$)

v	$\hat{Y}_{abs} = -0,031 + 1,3066^{***}X$	$R^2 = 0,9920$	v	$\hat{Y}_{abs} = -0,011 + 1,6711^{***}X$	$R^2 = 0,9997$
σ	$\hat{Y}_{abs} = -0,012 + 1,1783^{***}X$	$R^2 = 0,9982$	$+$	$\hat{Y}_{abs} = -0,022 + 1,5242^{***}X$	$R^2 = 0,9985$
λ	$\hat{Y}_{abs} = -0,033 + 1,2365^{***}X$	$R^2 = 0,9899$			

Quadro 2 – Resumo da análise de variância para testar a identidade dos modelos das equações de regressão para as absorvâncias devido ao $N-NH_4^+$ dosado pelo método do salicilato com os Ajuste-NaOH (QM1), Ajuste-Rab (QM2), Ajuste-Rc (QM3) ou Ajuste-Rb (QM4) em relação à dosagem com o procedimento descrito por KEMPERS e ZWEERS (1986)

Fonte de variação	gl	Quadrados Médios			
		QM1	QM2	QM3	QM4
Parâmetro	4	0,9914	1,0631	1,3762	1,2847
Redução (B)	2	1,9746	2,1248	2,7269	2,5582
Redução (Ho)	4	$8,15 \times 10^{-3}$ ns	$1,39 \times 10^{-3}$ ns	0,0254 *	0,0112 ns
Resíduo	8	$3,06 \times 10^{-3}$	$3,19 \times 10^{-3}$	$5,99 \times 10^{-3}$	$4,64 \times 10^{-3}$
Total	12	0,3325	0,3565	0,4627	0,4313

ns, os modelos de equações de regressão de absorvância devido ao $N-NH_4^+$ em soluções de leitura dosadas pelo método do salicilato com o Ajuste-NaOH, Ajuste-Rab, Ajuste-Rb em comparação à dosagem recomendada por KEMPERS e ZWEERS (1986) não diferem significativamente a 10% de probabilidade.

*, o modelo de equação de regressão de absorvância devido ao $N-NH_4^+$ em soluções de leitura dosadas pelo método do salicilato com o Ajuste-Rc em comparação à dosagem recomendada por KEMPERS e ZWEERS (1986) difere significativamente a 10% de probabilidade.

Tendo em vista o aumento significativo na sensibilidade do método e o coeficiente de determinação próximo de 1, utilizou-se, para os ensaios seguintes, o método do salicilato com o Ajuste-Rc.

5.2.2. ENSAIO 2: Redução do NO_3^- a NH_4^+ com Zn^0 ou liga de Devarda

5.2.2.1. MATERIAL E MÉTODOS

Trabalhou-se com as concentrações de 0; 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 5; 7,5; e 10 mg/L de N acrescidas de H_2SO_4 e redutor. Os redutores utilizados foram: Zn^0 e liga de Devarda. No preparo dessas soluções, consideraram-se alíquotas de 2 mL de soluções com 0; 2,5; 5; 10; 15; 20; 25; 50; 75; e 100 mg/L de N-NH_4^+ ou de N-NO_3^- às quais foram adicionadas 15 mL de KCl 1 mol/L, 2 mL de água, 1 mL de H_2SO_4 1,44 mol/L e 0,5 g de agente redutor, ou seja, Zn^0 ou liga de Devarda.

As soluções contendo NH_4^+ (solA) e NO_3^- (solB) foram mantidas em repouso por 16 h para que ocorresse a redução do NO_3^- a NH_4^+ nas solB.

As soluções de leitura, 5 mL, contiveram alíquotas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,5; ou 2 mL de solA ou de solB, as quais foram dosadas pelo método do salicilato com o Ajuste-Rc (Quadro 3). As soluções de leitura foram mantidas em repouso por 90 min para que ocorresse o desenvolvimento da cor.

Quadro 3 - Alíquotas dos reagentes para o preparo de soluções de leitura contendo 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,5; e 2 mL de sol-A ou de sol-B, tratadas com Zn^0 ou liga de Devarda

Alíquota de sol-A ou sol-B (mL)									R(a+b)	NaOCl 2 c/L/L	Rc
0,2			0,4			0,6					
Conc. N-NH_4^{+1}	Soluções N-NH_4^{+2}	H_2O	Conc. N-NH_4^{+1}	Soluções N-NH_4^{+3}	H_2O	Conc. N-NH_4^{+1}	Soluções N-NH_4^{+4}	H_2O			
mg/L	mL	mL	mg/L	ML	mL	mg/L	mL	mL			
0,00	0,2	3,3	0,00	0,4	3,1	0,00	0,6	2,9	0,9	0,1	0,5
0,08	0,2	3,3	0,16	0,4	3,1	0,12	0,6	2,9	0,9	0,1	0,5
0,20	0,2	3,3	0,40	0,4	3,1	0,24	0,6	2,9	0,9	0,1	0,5
0,30	0,2	3,3	0,60	0,4	3,1	0,60	0,6	2,9	0,9	0,1	0,5
0,40	0,2	3,3	0,80	0,4	3,1	0,90	0,6	2,9	0,9	0,1	0,5

Quadro 3 – Continuação...

Alíquota de sol-A ou sol-B (mL)														
0,8			1,0			1,5			2,0			R(a+b) NaOCl Rc		
Conc. N-NH ₄ ⁺ 1	Soluções N-NH ₄ ⁺ 5	H ₂ O	Conc. N-NH ₄ ⁺ 1	Soluções N-NH ₄ ⁺ 6	H ₂ O	Conc. N-NH ₄ ⁺ 1	Soluções N-NH ₄ ⁺ 7	H ₂ O	Conc. N-NH ₄ ⁺ 1	Soluções N-NH ₄ ⁺ 8	H ₂ O	2 cL/L		
mg/L	mL	mL	mg/L	mL	mL	mg/L	mL	mL	mg/L	mL	mL	mL	mL	mL
0,00	0,8	2,7	0,0	1	2,5	0,000	1,5	2	0,0	2	1,5	0,9	0,1	0,5
0,08	0,8	2,7	0,1	1	2,5	0,075	1,5	2	0,1	2	1,5	0,9	0,1	0,5
0,16	0,8	2,7	0,2	1	2,5	0,150	1,5	2	0,2	2	1,5	0,9	0,1	0,5
0,24	0,8	2,7	0,3	1	2,5	0,300	1,5	2	0,4	2	1,5	0,9	0,1	0,5
0,40	0,8	2,7	0,4	1	2,5	0,450	1,5	2	0,6	2	1,5	0,9	0,1	0,5
0,80	0,8	2,7	0,5	1	2,5	0,750	1,5	2	1,0	2	1,5	0,9	0,1	0,5

1/Concentrações equivalentes de N-NO₃⁻ ou de N-NH₄⁺ antes da adição do redutor; 2/Alíquota das soluções de N-NH₄⁺: 0; 2; 7,5; e 10 mg/L, respectivamente; 3/Alíquota das soluções de N-NH₄⁺: 0; 2; 5; 7,5; e 10 mg/L; 4/Alíquota das soluções de N-NH₄⁺: 0; 1; 2; 5; e 7,5 mg/L; 5/Alíquota das soluções de N-NH₄⁺: 0; 0,5; 1; 1,5; 2,5; e 5 mg/L; 6/Alíquota das soluções de N-NH₄⁺: 0; 0,5; 1; 1,5; 2; e 2,5 mg/L; 7/Alíquota das soluções de N-NH₄⁺: 0; 0,25; 0,5; 1; 1,5; e 2,5 mg/L; 8/Alíquota das soluções de N-NH₄⁺: 0; 0,25; 0,5; 1; 1,5; e 2,5 mg/L.

As absorvâncias nas soluções de leitura foram determinadas em espectrofotômetro regulado no λ de 660 nm. Ajustaram-se regressões lineares, para a variação de absorvância em função das concentrações de NH₄⁺ nas soluções de leitura contendo solA e solB.

Para cada redutor, os valores de absorvâncias determinadas nas soluções contendo solB foram ajustadas às equações de regressão obtidas de solA. Assim, por esse procedimento, quantificaram-se as concentrações de NH₄⁺ nas soluções de leitura contendo solB e solA que resultaram em mesmos valores de absorvâncias. Para determinar a taxa de redução de NO₃⁻ a NH₄⁺, efetuou-se o ajuste de regressão das concentrações de NH₄⁺ provenientes de solA e solB. O coeficiente angular da referida regressão indicou a taxa de redução de NO₃⁻ a NH₄⁺.

5.2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As equações de regressão das absorvâncias em função das concentrações de NH₄⁺ nas soluções de leitura estão listadas no Quadro 4. Com base nos coeficientes angulares das referidas equações, constatou-se que a intensidade da cor nas soluções de leitura contendo solB foi menor quando se utilizou a liga de Devarda em comparação ao Zn⁰.

Quadro 4 - Absorvâncias em função de concentrações de N-NH_4^+ nas soluções de leitura contendo alíquotas de 0,2 (a); 0,4 (b); 0,6 (c); 0,8 (d); 1 (e); 1,5 (f); e 2 mL (g) de solA ou de solB tratadas com Zn^0 ou com liga de Devarda

Zn^0			
solA		solB	
$\hat{Y}_a = 0,002 + 1,5795***X$	$R^2 = 0,9990$	$\hat{Y}_a = -0,013 + 1,3294***X$	$R^2 = 0,9976$
$\hat{Y}_b = -0,002 + 1,4506***X$	$R^2 = 0,9990$	$\hat{Y}_b = 0,007 + 1,4001***X$	$R^2 = 0,9998$
$\hat{Y}_c = 0,009 + 1,4776***X$	$R^2 = 0,9971$	$\hat{Y}_c = 0,018 + 1,3692***X$	$R^2 = 0,9985$
$\hat{Y}_d = 0,003 + 1,3506***X$	$R^2 = 0,9967$	$\hat{Y}_d = 0,009 + 1,3041***X$	$R^2 = 0,9992$
$\hat{Y}_e = 0,008 + 1,4554***X$	$R^2 = 0,9981$	$\hat{Y}_e = 0,019 + 1,2801***X$	$R^2 = 0,9993$
$\hat{Y}_f = -0,009 + 1,4296***X$	$R^2 = 0,9981$	$\hat{Y}_f = 0,006 + 1,1856***X$	$R^2 = 0,9944$
$\hat{Y}_g = 0,002 + 1,3690***X$	$R^2 = 0,9994$	$\hat{Y}_g = 0,028 + 1,2667***X$	$R^2 = 0,9965$

Liga de Devarda			
solA		solB	
$\hat{Y}_a = 0,006 + 1,4908***X$	$R^2 = 0,9979$	$\hat{Y}_a = -0,001 + 0,6860***X$	$R^2 = 0,9902$
$\hat{Y}_b = -0,003 + 1,5886***X$	$R^2 = 0,9975$	$\hat{Y}_b = -0,008 + 0,5933***X$	$R^2 = 0,9905$
$\hat{Y}_c = 0,036 + 1,3823***X$	$R^2 = 0,9967$	$\hat{Y}_c = 0,027 + 0,5747***X$	$R^2 = 0,9862$
$\hat{Y}_d = 0,046 + 1,4755***X$	$R^2 = 0,9937$	$\hat{Y}_d = 0,021 + 0,5787***X$	$R^2 = 0,9782$
$\hat{Y}_e = 0,030 + 1,4149***X$	$R^2 = 0,9978$	$\hat{Y}_e = 0,021 + 0,5956***X$	$R^2 = 0,9746$
$\hat{Y}_f = 0,035 + 1,3907***X$	$R^2 = 0,9968$	$\hat{Y}_f = 0,005 + 0,6619***X$	$R^2 = 0,9997$
$\hat{Y}_g = 0,029 + 1,3770***X$	$R^2 = 0,9980$	$\hat{Y}_g = 0,004 + 0,7181***X$	$R^2 = 0,9965$

As equações de regressão que relacionam as concentrações de NH_4^+ nas soluções de leitura contendo solA e solB indicam que o Zn^0 , em comparação à liga de Devarda, foi responsável por maior redução do NO_3^- a NH_4^+ , ou seja, possibilitou coeficiente angular mais próximo de 1 (Figura 1). Assim, o agente redutor Zn^0 foi o recomendado para converter o NO_3^- a NH_4^+ em meio ácido no ensaio seguinte.

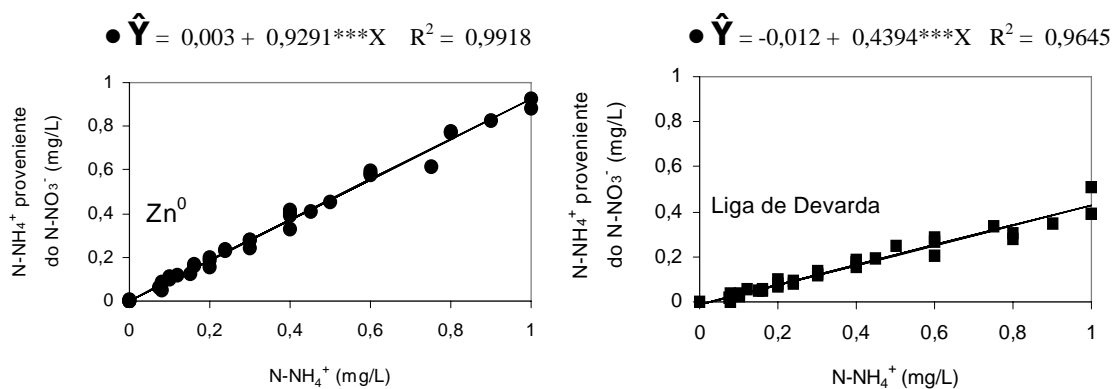


Figura 1 - Concentrações de N-NH_4^+ provenientes da redução do N-NO_3^- necessárias para repetirem as absorvâncias estimadas em soluções provenientes de N-NH_4^+ com Zn^0 (●) ou com liga de Devarda (+).

Ao se utilizar também a liga de Devarda em meio ácido, NORMAN e STUCKI (1981) constataram pouca redução do NO_3^- a NH_4^+ . Já MORITA e ASSUMPÇÃO (1976) recomendam a utilização da liga de Devarda em meio básico.

5.2.3. ENSAIO 3: Determinação de NO_3^- em amostras de solo pela análise de extratos de KCl 1 mol/L com os métodos do salicilato e Kjeldahl e com a reação de Griess-Ilosvai

5.2.3.1. MATERIAL E MÉTODOS

Na extração do NO_3^- , trabalhou-se com a relação 10 g de solo : 100 mL de extrator KCl 1 mol/L em quatro repetições. As amostras de solo usadas foram os 27 materiais indicados no Quadro 5. Os copos de extração, contendo solo e extrator, foram agitados em agitador horizontal por 30 min e, em seguida, mantidos em repouso por 16 h. Transferiram-se os sobrenadantes dos copos de extração para béqueres de 100 mL. Os extratos foram obtidos mediante a filtração lenta dos conteúdos dos béqueres.

Quadro 5 - Características químicas e físicas de amostras de solo secadas à sombra e passadas em peneira de malha de 2 mm (TFSA) empregadas nas dosagens de indireta de NO_3^- pelo método do salicilato

Amostra de solo	C.O. ⁽¹⁾ dag/kg	pH H ₂ O	P ⁽²⁾ mg/dm ³	K ⁽²⁾	Al ³⁺ ⁽³⁾ cmolc/dm ³	Ca ²⁺ ⁽³⁾	Mg ²⁺ ⁽³⁾	H+Al ⁽⁴⁾	Textura ⁽⁵⁾			
									Ag	Af	S	A
S1	1,71	5,0	1,50	48	0,7	0,50	0,20	6,6	15	10	7	68
S2	0,69	6,2	20,80	184	0,0	2,80	0,70	3,1	39	24	10	27
S3	0,69	5,8	4,90	53	0,0	1,70	0,50	2,5	41	24	10	25
S4	1,40	4,8	1,80	35	0,3	0,30	0,10	6,9	4	39	8	49
S5	1,20	5,2	1,20	30	1,5	0,10	0,40	4,5	42	22	6	30
S6	0,60	4,9	1,60	27	0,4	0,10	0,00	2,9	30	55	2	13
S7	3,20	4,7	3,40	80	1,0	1,00	0,20	9,6	9	5	5	81
S8	1,08	5,7	58,40	109	0,0	3,30	0,50	3,8	33	19	10	38
S9	1,17	5,6	68,50	107	0,0	3,50	0,60	4,1	33	19	10	38
S10	1,55	5,6	71,10	91	0,0	3,20	0,50	4,1	33	19	10	38
S11	1,55	5,5	71,10	69	0,0	3,50	0,50	4,1	33	19	10	38
S12	1,55	5,5	63,40	68	0,0	3,20	0,50	3,5	33	19	10	38
S13	1,32	5,3	73,70	88	0,0	3,30	0,50	4,8	33	19	10	38
S14	1,55	5,1	56,00	102	0,0	3,00	0,40	5,0	33	19	10	38
S15	1,57	5,8	22,10	93	0,0	1,45	0,64	2,0	31	41	6	22
S16	0,60	5,6	5,85	50	0,1	1,27	0,51	2,0	38	37	4	21
S17	2,99	5,2	0,56	60	0,1	0,83	0,44	4,0	12	6	29	53

Quadro 5 – Continuação...

S18	2,86	6,8	39,70	259	0,0	6,84	0,91	2,3	12	9	31	48
S19	7,68	4,9	2,49	38	1,3	0,14	0,11	12,9	45	10	13	32
S20	4,42	4,7	18,24	184	0,4	2,17	0,99	10,9	27	12	15	46
S21	2,71	4,6	13,50	264	1,0	2,61	0,66	7,9	10	9	21	60
S22	1,49	6,2	17,27	48	0,0	1,93	0,51	0,7	77	16	1	6
S23	1,28	6,3	16,34	50	0,0	2,00	0,45	0,7	75	16	2	7
S24	2,39	5,2	0,56	32	0,1	0,75	0,21	3,3	8	28	15	49
S25	2,74	5,9	5,80	62	0,1	3,87	0,23	5,6	10	9	21	60
S26	12,60	4,3	3,5	25	2,1	0,49	0,15	12,5	45	11	21	23
S27	4,55	4,5	2,90	49	1,6	0,27	0,64	10,9	14	6	7	73

1/ Método de Walkley-Black (DEFELIPO e RIBEIRO, 1981); 2/ Extrator Mehlich - 1 (VETTORI, 1969); 3/ Extrator KCl 1 mol/L (VETTORI, 1969); 4/ Extrator Ca(OAc)₂ 0,5 mol/L, pH 7,00 (VETTORI, 1969); 5/ Método da Pipeta (EMBRAPA, 1979); Ag - Areia grossa; Af - Areia fina; S - Silte; A - Argila.

Os extratos de solo foram utilizados no preparo de soluções sem H₂SO₄, com H₂SO₄ e com H₂SO₄ mais Zn⁰. Para este propósito, utilizaram-se alíquotas de 15 mL de extratos dos solos, às quais foram adicionados 5 mL de água (solA); ou 4 mL de água e 1 mL de H₂SO₄ 1,44 mol/L (solB); ou 4 mL de água, 1 mL de H₂SO₄ 1,44 mol/L e 0,5 g de Zn⁰ (solC).

Também obtiveram-se as concentrações de 0, 1, 2, 3, 4, e 5 mg/L de N-NH₄⁺ sem (solD) e com H₂SO₄ (solE), e as concentrações de 0, 1, 2, 3, 4, e 5 mg/L de N-NO₃⁻ com H₂SO₄ e Zn⁰ (solF). Para tal, foram utilizadas soluções com 15 mL do extrator KCl 1 mol/L mais concentrações crescentes de NH₄⁺ ou de NO₃⁻, conforme a matriz estudada.

Todas as soluções, de solA a solF, foram mantidas em repouso por 16 h, para que ocorresse a redução do NO₃⁻ a NH₄⁺ naquelas com Zn⁰.

As soluções de leitura contiveram alíquotas de 1 mL de solA, solB, solC, solD, solE ou solF, às quais foram adicionadas sequencialmente 2,5 mL de água, 0,5 mL de Rb, 0,9 mL de R(a+b) e 0,1 mL de NaOCl 2 cL/L (Ajuste-Rb); ou 2,5 mL de água, 0,9 mL de R(a+b), 0,1 mL de NaOCl 2 cL/L e 0,5 mL de Rc (Ajuste-Rc), totalizando 5 mL.

As absorvâncias nas soluções de leitura foram determinadas em espectrofotômetro regulado no λ de 660 nm. Ajustaram-se regressões lineares, para a variação de absorvância em função das concentrações de NH₄⁺ nas soluções de leitura contendo solD, solE e solF, obtendo-se, assim, as curvas de calibração.

As concentrações de NH_4^+ , nas soluções de leitura contendo solA e solB, foram determinadas pelo ajuste de suas absorvância às curvas de calibração obtidas de soluções de leitura com solD e solE, respectivamente. As concentrações de NH_4^+ mais NO_3^- , nas soluções de leitura contendo solC, foram determinadas levando-se em conta o ajuste de suas absorvâncias às curvas de calibração obtidas de soluções com solF. Pela diferença entre os teores de N nas soluções com solC em relação às com solA e solB, quantificou-se o NO_3^- .

Para a determinação do NO_3^- com o método Kjeldahl de destilação e titulação em H_2SO_4 0,0025 mol/L e com a reação de Griess-Ilosvai, utilizaram-se os procedimentos recomendados por TEDESCO (1985) e GUINÉ et al. (1980), respectivamente. Todas as concentrações de NO_3^- nos extratos de amostras de solo avaliados pelos métodos do salicilato e Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai foram expressas considerando-se a unidade mg/kg de N- NO_3^- no solo seco a 105°C.

Ajustaram-se equações de regressão linear para as concentrações de NO_3^- nas amostras de solo avaliadas pelo método do salicilato nos Ajuste-Rb e Ajuste-Rc em função dos valores quantificados pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai. Com base nos valores de intercepto, coeficiente angular e de coeficiente de determinação de cada equação, identificou-se a forma em que a análise de NO_3^- pelo método salicilato, ou seja, Ajuste-Rb ou Ajuste-Rc, mostrou-se mais bem relacionada com as quantificações pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai.

5.3.3.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As equações de regressão das concentrações de NO_3^- , determinadas pelos métodos do salicilato e Kjeldahl, apresentaram valores de interceptos, coeficientes angulares e coeficientes de determinação divergentes de 0, 1 e 1, respectivamente (Figuras 2 e 3). Pelas equações, constatou-se que os dois métodos não foram eficazes para explicar semelhantes variações nas

concentrações de NO_3^- das amostras de solo estudadas. Tal comportamento foi válido quando utilizou-se o método do salicilato no Ajuste-Rb e Ajuste-Rc, para quantificar as concentrações de NO_3^- a partir da análise de extratos tratados com Zn^0 em relação a extratos sem H_2SO_4 ou a partir da análise de extratos tratados com Zn^0 em relação a extratos com H_2SO_4 .

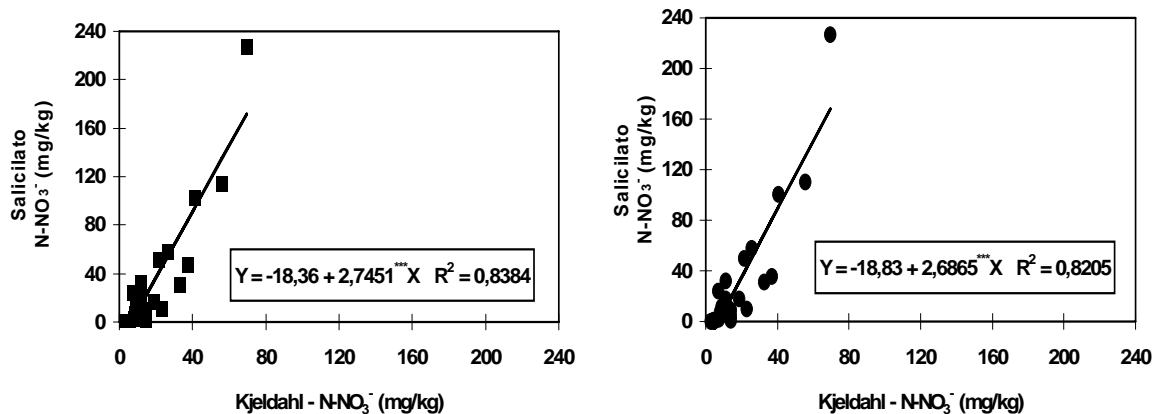


Figura 2 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelos métodos do salicilato no Ajuste-Rb (extratos de KCl tratados com Zn^0 em relação a extratos com Zn^0 (ν) ou extratos de KCl com Zn^0 em relação a extratos com H_2SO_4 (λ)) e Kjeldahl.

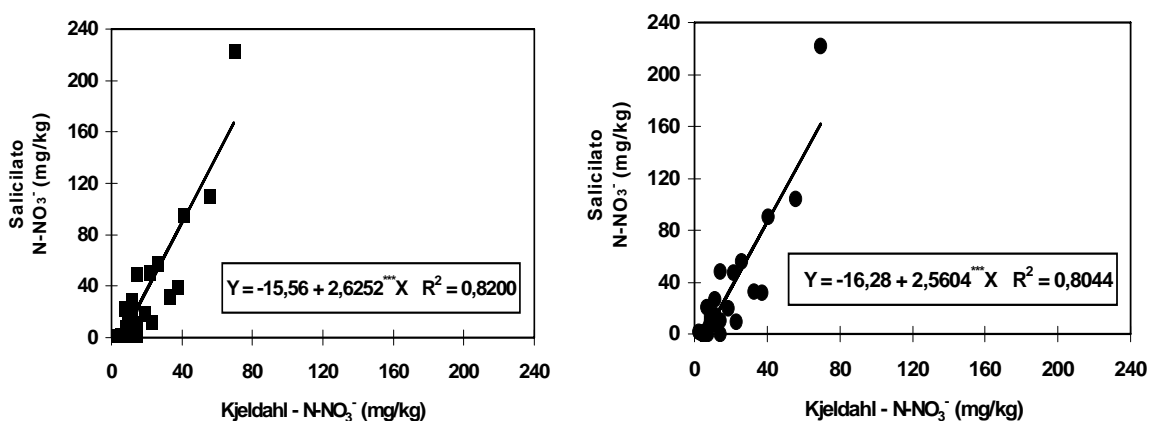


Figura 3 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelos métodos do salicilato no Ajuste-Rc (extratos de KCl tratados com Zn^0 em relação a extratos com Zn^0 (ν) ou extratos de KCl com Zn^0 em relação a extratos com H_2SO_4 (λ)) e Kjeldahl.

Ao contrário das avaliações de NO_3^- com os métodos do salicilato e Kjeldahl, as equações de regressão para as concentrações de NO_3^- determinadas pelo método do salicilato e pela reação de Griess-Ilosvai demonstram que os dois métodos explicam, de forma mais semelhante, as variações nas concentrações de

NO_3^- das amostras de solo estudadas. Isto se explica em razão de as equações de regressão para o NO_3^- determinado pelo método do salicilato e pela reação de Griess-Ilosvai terem apresentado interceptos, coeficientes angulares e coeficientes de determinação mais próximos de 0, 1 e 1 (Figuras 4 e 5) em comparação às quantificações de NO_3^- pelos métodos do salicilato e Kjeldahl (Figuras 2 e 3).

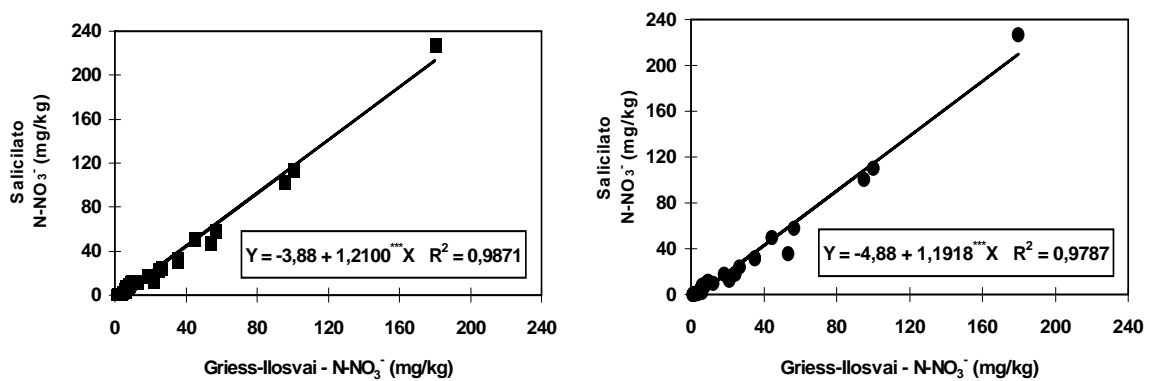


Figura 4 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelo método do salicilato no Ajuste-Rb (extratos de KCl tratados com Zn^0 em relação a extratos com Zn^0 (ν) ou extratos de KCl com Zn^0 em relação a extratos com H_2SO_4 (λ)) e pela reação de Griess-Ilosvai.

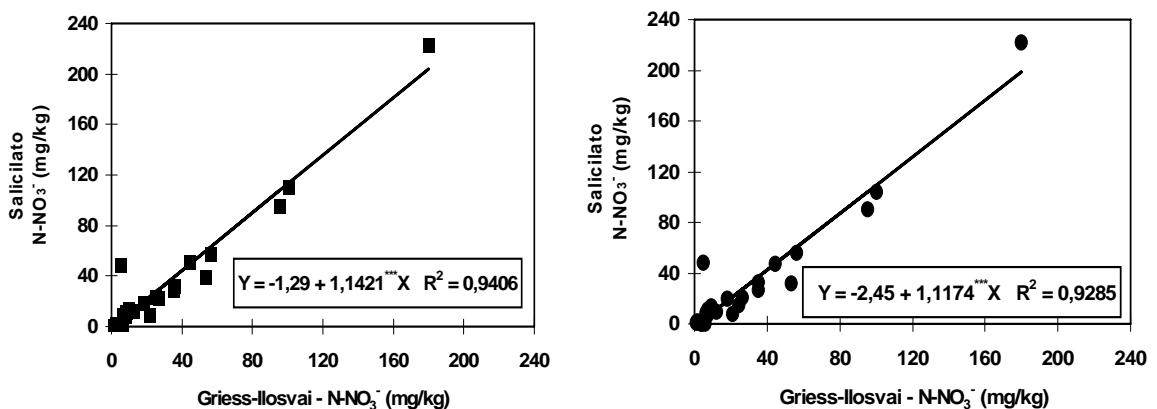


Figura 5 - Relações entre as concentrações de N-NO_3^- em amostras de solo analisadas pelo método do salicilato no Ajuste-Rc (extratos de KCl tratados com Zn^0 em relação a extratos com Zn^0 (ν) ou extratos de KCl com Zn^0 em relação a extratos com H_2SO_4 (λ)) e pela reação de Griess-Ilosvai.

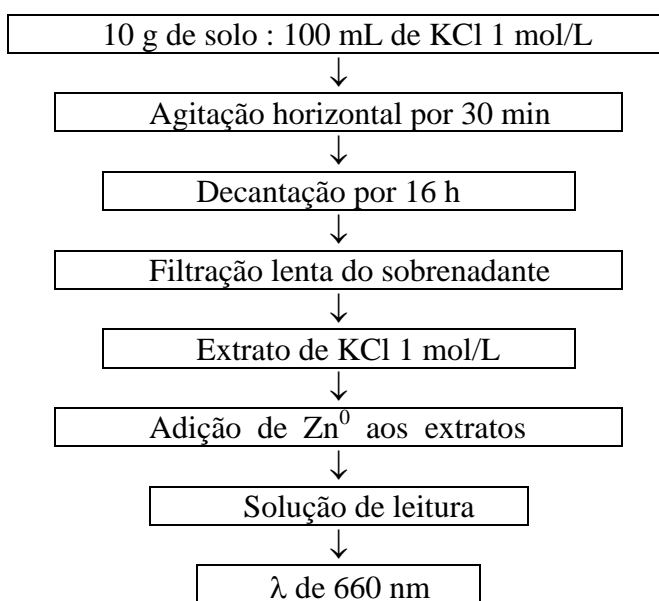
No método do salicilato, o Ajuste-Rc mostrou-se mais adequado que Ajuste-Rb, uma vez que possibilitou determinações de NO_3^- com interceptos e

coeficientes angulares mais próximos de 0 e 1 em relação às análises com a reação de Griess-Ilosvai (Figuras 4 e 5). Entretanto, considerando-se que as concentrações de NO_3^- obtidas pelo método do salicilato foram em média 1,1174 a 1,2100 vezes os valores quantificados pela reação de Griess-Ilosvai, o primeiro método, tanto no Ajuste-Rb quanto no Ajuste-Rc, não se mostrou adequado para determinar indiretamente o NO_3^- em extratos de solo obtidos com KCl 1 mol/L. Assim, novos ajustes são necessários, para que a quantificação de NO_3^- pelo método do salicilato possa atender ao objetivo.

5.3. CONCLUSÃO

A dosagem indireta do NO_3^- em extrato de solo obtido com KCl 1 mol/L foi possível utilizando-se o método do salicilato. Para tal, alterou-se a dosagem do NH_4^+ indicada por KEMPERS e ZWEERS (1986), a fim de evitar a formação de precipitado nas soluções de leitura. A adição do Rc, uma combinação de NaOH com EDTA, propiciou soluções de leituras cristalinas. As concentrações de NO_3^- seriam determinadas de acordo com o fluxograma a seguir:

C. Dosagem de NO_3^- pelo método do salicilato em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L



Os extratos de KCl 1mol/L são subdivididos, efetuando-se o preparo de soluções sem e com a adição de Zn^0 , redutor que converte o NO_3^- a NH_4^+ (Quadro 6). Também utiliza-se o extrator KCl acrescido de soluções com concentrações crescentes de NH_4^+ (solA) ou de NO_3^- (solB) (Quadro 7), a fim de se obter as posteriores curvas de calibração das concentrações de NH_4^+ e de NO_3^- nas amostras de solo. Todas as soluções detalhadas nos Quadros 6 e 7 devem ser mantidas em repouso por 16 h, para que ocorra a efetiva redução do NO_3^- a NH_4^+ nos meios ácidos contendo Zn^0 .

Quadro 6 - Alíquotas dos reagentes para o preparo das soluções com extratos de solos obtidos com KCl sem e com Zn^0

Extrato de KCl	sem Zn^0		Zn^0		
	H ₂ O	H ₂ SO ₄	H ₂ O	H ₂ SO ₄	Zn^0
mL	mL	mL	mL	mL	g
15	4	1	4	1	0,5

Quadro 7 - Alíquotas dos reagentes para o preparo de solA e solB

Conc.	solA				solB					
	N-NH ₄ ⁺¹	N-NH ₄ ⁺²	H ₂ O	KCl 1 mol/L	H ₂ SO ₄ 1,44 mol/L	N-NO ₃ ⁻³	H ₂ O	KCl 1 mol/L	H ₂ SO ₄ 1,44 mol/L	Zn^0
mg/L	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	mL	g
0	2	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
1	2	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
2	2	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
3	2	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
4	2	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5
5	2	2	2	15	1	2	2	15	1	0,5

1/Corresponderá às concentrações equivalentes de N-NH₄⁺; 2/Alíquota das soluções: 0, 10, 20, 30, 40, e 50 mg/L de N-NH₄⁺, respectivamente; 3/Alíquota das soluções: 0, 10, 20, 30, 40, e 50 mg/L de N-NO₃⁻, respectivamente.

As soluções de leitura são preparadas com 1 mL dos sobrenadantes das solA, solB e das soluções com extratos. O volume das soluções de leitura, 5 mL, é completado com a adição seqüencial de 2,5 mL de água, 0,9 mL de R(a+b), 0,1 mL de NaOCl e 0,5 mL do Rc aos 30 min após o NaOCl. Após a adição do Rc, as soluções de leitura são mantidas em repouso por 90 min, para completarem o desenvolvimento da cor.

Para a leitura de absorvância, utiliza-se a regulagem do espectrofotômetro no comprimento de onda de 660 nm.

Para a leitura de absorvância, utiliza-se a regulagem do espectrofotômetro no comprimento de onda de 660 nm. Ajustam-se regressões lineares, para a variação de absorvância em função das concentrações de NH_4^+ nas soluções de leitura contendo solA e solB para se obter as curvas de calibração.

As concentrações de NH_4^+ , nas soluções de leitura com extratos de solo sem Zn^0 , são determinadas pelo ajuste de suas absorvância à curva de calibração obtidas de soluções de leitura contendo solA. As concentrações de NH_4^+ mais NO_3^- , nas soluções de leitura com extratos e Zn^0 , são determinadas pelo ajuste de suas absorvâncias às curvas de calibração obtidas de soluções contendo solB.

Pela diferença entre os teores de N nas soluções contendo extratos com e sem Zn^0 , quantifica-se indiretamente o NO_3^- pelo método do salicilato.

Curva de calibração

$$A = b_0 + b_1(\text{N-NH}_4^+) \quad s/\text{Zn}^0$$

$$A = b_0 + b_1(\text{N-NH}_4^+) \quad c/\text{Zn}^0$$

$$\text{N-NH}_4^+ \text{ (mg/L)} = \frac{[(\underline{AE} - \underline{AB}) - (b_0)]}{b_1} \quad s/\text{Zn}^0$$

$$\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(\underline{AE} - \underline{AB}) - (b_0)]}{b_1} \quad c/\text{Zn}^0$$

$$\text{N-NO}_3^- \text{ (mg/L)} = (\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-) - (\text{N-NH}_4^+)$$

sendo: A, absorvâncias devido ao N-NH_4^+ nas soluções de leitura contendo solA (s/Zn^0) e solB (c/Zn^0); b_0 e b_1 , respectivamente, interceptos e coeficientes angulares das curvas de calibração; \underline{AE} , absorvâncias nas soluções de leitura contendo soluções com extratos sem ou com Zn^0 ; \underline{AB} , absorvâncias nos brancos sem ou com Zn^0 .

6. RESUMO E CONCLUSÕES

Objetivou-se, neste trabalho, determinar o NO_3^- em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L, utilizando-se dosagem direta pelo método de espectrofotometria de ultravioleta (EUV) e indireta pelos métodos Nessler e do salicilato.

Na EUV, determinou-se o espectro de absorção de radiação – entre 200 e 300 nm – pelo NO_3^- adicionado à água e a soluções com NaHCO_3 e KCl para selecionar comprimentos de onda (λ) mais apropriados à dosagem; e compararam-se as dosagens de NO_3^- em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L, água e NaHCO_3 0,01 mol/L para identificar o extrator mais viável.

No método Nessler, determinou-se o espectro de absorção de radiação – entre 400 e 500 nm – pelas soluções de leitura; a concentração de reagente Nessler (RN) favorável a um maior desenvolvimento da cor; e a taxa de redução do NO_3^- a NH_4^+ em meio com H_2SO_4 e zinco metálico (Zn^0).

No método do salicilato, determinou-se o espectro de absorção de radiação – entre 600 e 700 nm – pelas soluções leitura; ajustes para dosar indiretamente o NO_3^- sem a presença de precipitado na solução de leitura; e a taxa de redução do NO_3^- a NH_4^+ em meios ácidos com Zn^0 e liga de Devarda para selecionar o melhor redutor.

Utilizando os ajustes selecionados para os métodos EUV, Nessler e do salicilato, determinaram-se as concentrações de NO_3^- em extratos de KCl 1 mol/L, obtidos de 27 amostras de solo com ampla variação das características químicas e físicas, as quais foram relacionadas, por análise de regressão, com as quantificações de NO_3^- pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai.

Na EUV, as maiores absorvâncias pelo NO_3^- em água, NaHCO_3 e KCl foram obtidas nos λ de 210, 210 e 220 nm, respectivamente. A dosagem do NO_3^- adicionado a extratos de solo foi mais semelhante às quantificações de NO_3^- nos extratores quando se estudou a matriz KCl, demonstrando ser a EUV mais adequada para dosar o NO_3^- em extrato de KCl 1 mol/L que em extratos obtidos com água ou NaHCO_3 0,01 mol/L.

No método Nessler, o desenvolvimento da cor foi mais acentuada com alíquota de 1 mL de reagente Nessler (RN) em comparação à dosagem com 0,5 mL de RN. As concentrações de 36, 72 e 108 mmol/L de H_2SO_4 em meio com Zn^0 propiciaram taxas de 93,95; 101,52; e 92,75% para a redução do NO_3^- a NH_4^+ , demonstrando que a segunda foi a mais adequada.

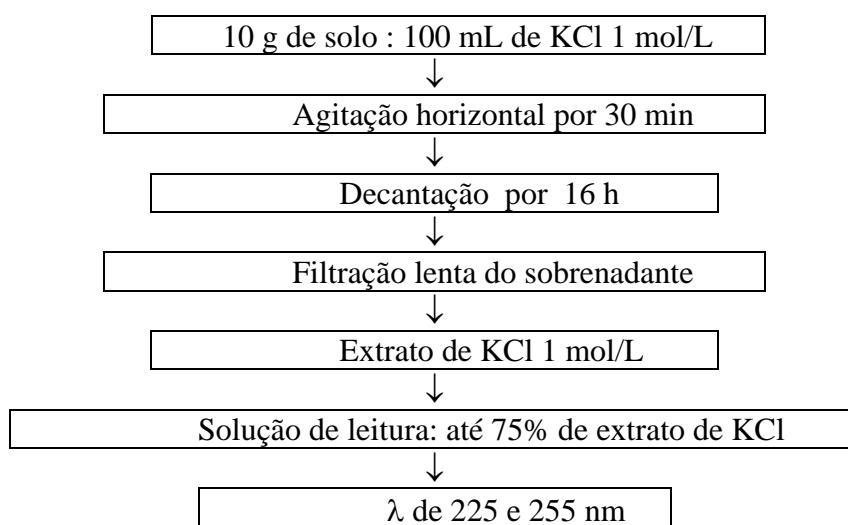
No método do salicilato, as soluções de leitura absorveram mais radiação a 660 nm. O procedimento descrito por KEMPERS e ZWEERS (1986) foi ineficaz para dosar indiretamente o NO_3^- devido à formação de precipitados nas soluções de leitura, sendo necessários o Ajuste-NaOH, Ajuste-Rab, Ajuste-Rc ou Ajuste-Rb para a obtenção de soluções cristalinas. O Zn^0 e a liga de Devarda permitiram taxas de 92,91 e 43,94% para a redução do NO_3^- a NH_4^+ , demonstrando que, em meio ácido, o primeiro redutor foi mais eficaz.

De acordo com as concentrações de NO_3^- determinadas em extratos de KCl 1 mol/L de 27 amostras de solo, a quantificação pelo método EUV, em comparação às realizadas pelos métodos Nessler e do salicilato, foi a que apresentou valores mais semelhantes dos analisados pelo método que considera a reação de Griess-Ilosvai. Portanto, recomenda-se o método EUV para dosar o NO_3^- extraído do solo com KCl 1 mol/L, utilizando-se leituras de absorvância em espectrofotômetro regulado para os λ de 225 e 255 nm. A vantagem da EUV, em

comparação ao método colorimétrico que usa a reação de Griess-Ilosvai, consiste na sua maior simplicidade analítica, rapidez e economia de reagentes.

Para a dosagem direta de NO_3^- pelo método EUV, os procedimentos de extração, de preparo das soluções e das leituras devem ser efetuados conforme indicado no fluxograma abaixo:

D. Dosagem de NO_3^- por EUV em extratos de solos obtidos com KCl 1 mol/L



Preparam-se as soluções de leitura com até 75% de extrato de KCl 1 mol/L, dependendo da concentração de NO_3^- nas amostras de solo. São utilizadas soluções de leitura contendo o extrator KCl mais concentrações crescentes de NO_3^- (Quadro 1) para a obtenção da curva de calibração.

Quadro 1 - Alíquotas dos reagentes para o preparo de soluções com concentrações crescentes de NO_3^- adicionadas a KCl

N- NO_3^- mg/L	Solução ¹ mL	KCl 1 mol/L ² mL	Água destilada ³ mL
0,0	2	15	3
0,1	2	15	3
0,2	2	15	3
0,4	2	15	3
0,6	2	15	3
0,8	2	15	3
1,0	2	15	3

1/ Alíquota de soluções: 0, 1, 2, 4, 6, 8, e 10 mg/L de N- NO_3^- , respectivamente; 2/ Alíquota de KCl 1 mol/L que pode ser diminuída com concomitante aumento da alíquota de água destilada; 3/ Alíquota de água destilada que pode ser aumentada com concomitante diminuição da alíquota de KCl.

As soluções de leitura que contêm o extrator e concentrações crescentes de NO_3^- e aquelas com os extratos de solo são analisadas por EUV, determinando-se as suas absorvâncias a 225 e 255 nm, com espectrofotômetro zerado com água destilada.

Para obter a curva de calibração, ajusta-se uma equação de regressão para as diferenças entre as absorvâncias lidas a 225 e 255 nm em função das concentrações de NO_3^- nas soluções de leitura com o extrator.

As concentrações de NO_3^- nas soluções de leitura com os extratos de solo são determinadas pelo ajuste de suas absorvâncias à curva de calibração conforme indicado a seguir:

Curva de calibração

$$A = b_0 + b_1(\text{N-NO}_3^-)$$

$$\text{N-NO}_3^- \text{ (mg/L)} = \frac{[(\text{AE}225 - \text{AE}255) - (b_0)]}{b_1} - \frac{[(\text{AB}225 - \text{AB}255) - (b_0)]}{b_1}$$

sendo: A, absorvâncias devido ao N-NO_3^- nas soluções com extrator e concentrações crescentes de N-NO_3^- ; b_0 e b_1 , respectivamente, interceptos e coeficientes angular calculados pelas diferenças entre as leituras de absorvâncias a 225 e 255 nm nas soluções com extrator e concentrações crescentes de N-NO_3^- ; AE225, absorvâncias nos extratos de KCl a 225 nm; AE255, absorvâncias nos extratos de KCl a 255 nm; AB225, absorvâncias nos brancos a 225 nm; AB255, absorvâncias nos brancos a 255 nm.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, B.J.R.; SANTOS, J.C.F.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Métodos de determinação de nitrogênio em solo e planta. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. EMBRAPA, Serviço de produção de Informação, Brasília, DF. p.449-470, 1994.
- ARMSTRONG, F.A.J. Determination of nitrate in water by ultraviolet spectrophotometry. **Anal. Chem.**, vol(35): p.1292-1294, 1963
- BAETHENGEN, W.E.; ALLEY, M.M. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant kjedahl digests. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v.20, n.9-10, p.961-969, 1989.
- BRAGA, J.M., DEFELIPO, B.V. Determinação espectofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Rev. Ceres**, v.21, p. 73-85, 1974.
- BREMNER, J. M. Nitrogen availability indexes, In: BLACK, C. A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Part 2. Madison, American Society of Agronomy, p.1324-1345, 1965.
- BREMNER, J.M.; MULVANEY, C.S. Nitrogen-total. In: In: PAGE, L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Eds.). **Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties**. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin USA. p.595-624, 1982.
- CATALDO, D.A., HAROON, M., SCHARDER, M., YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitrification of salicylic acid. **Comm. Soil Sci. Plant Anal.**, v.6, n.1, p.71-81, 1975.

- DEFELIPO, B.V., RIBEIRO, A.C. **Análise química do solo** (metodologia). Viçosa, MG: UFV, Imp. Univ., 1981. 17p. (Boletim de extensão, 29).
- DOYLE, A.P.; SCHIMEL, J.P. Analysis of kjeldahl digest by the salicylate method optimizing pH and buffering improves both sensitivity and precision. **Comm. Soil Sci. Plant Anal.**, v.27, n.11-12, p.2549-2560, 1996.
- EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. **Manual de métodos de análises de solo**. Rio de Janeiro: 1979. Não paginado.
- FOX, R.H.; PIEKIELEK, W.P. A rapid method for estimating the nitrogen supplying capability of a soil. **Soil Sci. Soc Am. J.**, v.42, p.751-753, 1978.
- GUINÉ, M.F., BERGAMIN, H., ZAGATTO, E.A.G., REIS, B.F. Simultaneous determination of nitrate and nitrite by flow injection analysis. **Anal. Chim. Acta**, v.114, p.191-197, 1980
- HEANES, D.L. Determination of nitrate-N in plants by an improved extraction procedure adapted for ultraviolet spectrophotometry. **Commun. in Soil Sci. Plant Anal.**, v.13, n10, p.803-818, 1982.
- HEINZMANN, F.X.; MIYAZAWA, M.; PAVAN, M.A. Determinação de nitrato em extratos de solos ácidos por espectrofotometria de absorção ultravioleta. **Rev. bras. Ci. Solo**, v.8, p.159-163, 1981.
- HONG, S.D.; FOX, R.H.; PIEKIELEK, W.P. Field evaluation of several chemical indexes of soil nitrogen availability. **Plant and Soil** v.123, p.83-88, 1990.
- JACKSON, M.L. Nitrogen determinations for soil and plant tissue. In: JACKSON, M.L. (Ed.). **Soil chemical analysis**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1958. p.183-204.
- KEENEY, D.R., NELSON, D.N.. Nitrogen-inorganic Forms. In: PAGE, A.L., MILLER, R.H., KEENEY, D.R. (Eds.). **Methods of soil analyses. part 2. Chemical and microbiological properties**. 2. ed. Madison: s.n., 1982. p.643-693.
- KEMPERS, A. J.; ZWEERS, A. Ammonium determination in soil extracts by the salicylate method. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v.17, n.7, p.715-723, 1986.
- MORITA, T.; ASSUMPCÃO, R.M.V. **Manual de soluções reagentes e solventes - padronização, preparação e purificação**. 2ª edição. Editora Edgard Blucher Ltda, 1976, 629p.

- MYAZAWA, M.; PAVAN, M.A.; BLOCK, M.F.M. Determinação espectrofotométrica de nitrato em extratos de solo sem redução química. **Pesq. agrop. bras.**, v.20, n.1, p.129-133, 1985.
- NELSON, D.W. Determination of ammonium in KCl extracts of soils by the salicylate method. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v.14, p.1051-1062, 1983
- NORMAN, R.J.; STUCKI, J.W. The determination of nitrate and nitrite in soil extracts by ultraviolet spectrophotometry. **Soil Sci. Am. J.**, v.45, p.347-353, 1981.
- NORMAN, R.J.; EDBERG, J.C.; STUCKI, J.W. The determination of nitrate in soil extracts by dual-wavelength ultraviolet spectrophotometry. **Soil Sci. Am. J.**, v.49, p.1182-1185, 1985.
- RHINE, E.D.; SIMS, G.K.; MULVANEY, R.L.; PRANT, E.J. Improving the Berthelot reaction for determining ammonium in soil extracts and water. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v.62, p.473-480, 1998.
- ROSÍAS, M.F.G. Determinação **espectrofotométrica simultânea de nitrato e nitrito em águas e solos por injeção em fluxo contínuo**. Piracicaba: ESALQ, 1979, 70p. Dissertação (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1979.
- SAH, R.N. Nitrate- nitrogen determination: a critical review. **Commun. Soil Sci. Plant Anal.**, v.25, n.17-18, p.2841-2869, 1994.
- STANFORD, G. Assessment of nitrogen availability. In: STEVENSON, F.J. **Nitrogen in agricultural soils**. Agron. Monogr. 22 ASA and SSSA, Madison WI. p.651-688, 1982.
- TEDESCO, M.J.; VOLKWEISS, S.J.; BOHNEN, H. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre, Departamento de Solos, Faculdade de Agronomia, UFRS, 1985, 186p. (Boletim Técnico, 5).
- VETTORI, L. **Métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: EPE, 1969. 24 p. (Boletim Técnico, 7).
- YANG, J.E.; SKOLGLEY, E.O.; SCHAFF, B.E.; KIM, J.J. A simple spectrophotometric determination of nitrate in water, resin, and soil extracts. **Soil Sci. Am. J.**, v.62, p.1108-11115, 1998.

APÊNDICE

APÊNDICE A

CAPÍTULO 1

Dosagem de nitrato por espectrofotometria de ultravioleta em extratos de solo obtidos com KCl

Quadro 1A – Valores de absorvâncias, a 210, 220 e 225 nm, em soluções com concentrações crescentes de Cl⁻

KCl (mol/L)	ABS210	ABS220	ABS225
0,00	0,000	0,000	0,000
0,04	0,790	0,079	0,024
0,10	1,659	0,188	0,054
0,20	2,238	0,367	0,102
0,30	2,314	0,541	0,153
0,40	2,283	0,696	0,200
0,60	2,304	0,985	0,286
0,80	2,299	1,237	0,363
1,00	2,250	1,452	0,435

Quadro 2A - Análise de variância da regressão dos dados de absorvâncias, a 210, 220 e 225 nm, em soluções com concentrações crescentes de Cl⁻

Fonte de variação	gl	Quadrados médios		
		QM210	QM220	QM225
Devido à regressão	2	2,7472 ^{***}	1,0729 ^{***}	0,0948 ^{***}
Independente da regressão	6	3,00x10 ⁻²	4,75x10 ⁻⁶	1,94x10 ⁻⁶

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

Quadro 3A - Valores de absorvâncias, a 210, 215, 220 e 225 nm, em soluções com concentrações crescentes de N-NO₃⁻ adicionadas à água

N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	ABS210	ABS215	ABS220	ABS225
0,00	0,000	0,000	0,000	0,000
0,05	0,076	0,040	0,027	0,020
0,10	0,133	0,100	0,083	0,037
0,20	0,177	0,134	0,105	0,075
0,40	0,310	0,259	0,210	0,146
0,50	0,390	0,334	0,273	0,190
0,75	0,551	0,485	0,399	0,276
1,00	0,725	0,650	0,536	0,375
1,50	1,057	0,963	0,797	0,555
2,00	1,400	1,286	1,070	0,740

Quadro 4A - Análise de variância da regressão dos dados de absorvâncias, a 210, 215, 220 e 225 nm, em soluções com concentrações crescentes de N-NO₃⁻ adicionadas à água

Fonte de variação	gl	Quadrados médios			
		QM210	QM215	QM220	QM225
Devido à regressão	1	1,8848***	1,6391***	1,1381***	0,5544***
Independente da regressão	8	2,94x10 ⁻⁴	1,10x10 ⁻⁴	1,01x10 ⁻⁴	6,42x10 ⁻⁶

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

Quadro 5A - Valores de absorvâncias, a 215, 220 e 225 nm, em soluções com concentrações crescentes de N-NO₃⁻ adicionadas a KCl 0,8 mol/L

N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	ABS215	ABS220	ABS225
0,00	0,000	0,000	0,000
0,05	0,040	0,023	0,015
0,10	0,042	0,046	0,033
0,20	0,106	0,094	0,067
0,40	0,186	0,192	0,138
0,50	0,244	0,247	0,179
0,75	0,346	0,366	0,266
1,00	0,473	0,489	0,356
1,50	0,608	0,715	0,521
2,00	0,698	0,955	0,704

Quadro 6A - Análise de variância da regressão dos dados de absorvâncias, a 215, 220, 225 e 230 nm, em soluções com concentrações crescentes de N-NO₃⁻ adicionadas a KCl 0,8 mol/L

Fonte de variação	gl	Quadrados médios		
		QM215	QM220	QM225
Devido à regressão	1	0,2405***	0,9277***	0,5020***
Independente da Regressão	8	1,55x10 ⁻³	2,65x10 ⁻⁵	1,26x10 ⁻⁵

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

Quadro 7A - Valores de absorvâncias, a 220, 225, 255 e 275 nm, em soluções com concentrações crescentes de N-NO_3^- em KCl 0,75 mol/L sem H_2SO_4 , com H_2SO_4 72 mmol/L ou com Zn^0

N-NO_3^- (mg/L)	s/ H_2SO_4				c/ H_2SO_4				Zn^0	
	ABS220	ABS225	ABS255	ABS275	ABS220	ABS225	ABS255	ABS275	ABS220	ABS225
0,0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,2	0,085	0,068	0,001	0,002	0,103	0,084	0,002	0,007	0,003	0,007
0,4	0,192	0,146	0,000	0,001	0,197	0,161	0,000	0,006	0,004	0,008
0,6	0,292	0,228	0,002	0,003	0,292	0,247	0,007	0,010	0,008	0,010
0,8	0,379	0,313	0,003	0,001	0,336	0,294	0,001	0,003	0,005	0,009
1,0	0,469	0,384	0,000	0,004	0,462	0,391	0,000	0,001	0,007	0,004

Quadro 8A - Valores de absorvâncias determinadas pelas diferenças entre leituras a 220 e 275 nm (ABS1) e a 225 e 255 nm (ABS2) nas soluções sem (1) e com H_2SO_4 (2); e pelas diferenças entre as leituras nas soluções sem (ABS3) e com H_2SO_4 (ABS4) em relação às com Zn^0 a 220 (3) e 225 nm (4)

N-NO_3^- (mg/L)	1		2		3		4	
	ABS1	ABS2	ABS1	ABS2	ABS3	ABS4	ABS3	ABS4
0,0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,2	0,083	0,067	0,096	0,082	0,082	0,100	0,061	0,077
0,4	0,191	0,146	0,191	0,161	0,188	0,193	0,138	0,153
0,6	0,289	0,226	0,282	0,240	0,284	0,284	0,218	0,237
0,8	0,378	0,310	0,333	0,293	0,374	0,331	0,304	0,285
1,0	0,465	0,384	0,461	0,391	0,462	0,455	0,380	0,387

Quadro 9A - Análise de variância da regressão dos dados de absorvâncias determinadas pelas diferenças entre as leituras a 220 e 275 nm (QMABS1) e a 225 e 255 nm (QMABS2) nas soluções sem (1) e com H_2SO_4 (2); e pelas diferenças entre as leituras nas soluções sem (QMABS3) e com H_2SO_4 (QMABS4) em relação às com Zn^0 avaliadas a 220 (3) e 225 nm (4)

Fonte de variação	gl	Quadrados Médios							
		1		2		3		4	
		QMABS1	QMABS2	QMABS1	QMABS2	QMABS3	QMABS4	QMABS3	QMABS4
Devido à regressão	1	0,1563***	0,1063***	0,1379***	0,1016***	0,1539***	0,1337***	0,1048***	0,0998***
Indep. da regressão	4	$5,01 \times 10^{-5}$	$2,42 \times 10^{-5}$	$2,74 \times 10^{-4}$	$9,52 \times 10^{-5}$	$3,71 \times 10^{-5}$	$2,96 \times 10^{-4}$	$5,83 \times 10^{-5}$	$1,22 \times 10^{-4}$

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

Quadro 10A - Valores médios de absorvâncias pelo N-NO₃⁻ em soluções com adições de concentrações crescentes de N-NO₃⁻ a extratos de solo (S1, S2, S3, S4, S5 e S6) obtidos com água, NaHCO₃ 0,01 mol/L e KCl 1 mol/L

N-NO ₃ ⁻ adicionado (mg/L)	Extrato – Água					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
0,00	0,004	0,029	0,016	0,063	0,017	0,137
0,25	0,259	0,286	0,271	0,324	0,277	0,390
0,50	0,415	0,447	0,431	0,485	0,441	0,556
1,00	0,770	0,793	0,782	0,822	0,787	0,913

N-NO ₃ ⁻ adicionado (mg/L)	Extrato – NaHCO ₃					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
0,00	0,048	0,064	0,023	0,142	0,048	0,291
0,25	0,222	0,229	0,188	0,294	0,214	0,424
0,50	0,382	0,394	0,350	0,456	0,379	0,589
1,00	0,658	0,669	0,627	0,730	0,653	0,858

N-NO ₃ ⁻ adicionado (mg/L)	Extrato - KCl					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
0,00	0,006	0,057	0,018	0,131	0,029	0,264
0,25	0,129	0,185	0,150	0,249	0,157	0,395
0,50	0,258	0,313	0,272	0,383	0,286	0,516
1,00	0,515	0,577	0,526	0,641	0,544	0,775

Quadro 11A - Análise de variância dos dados de absorvâncias pelo N-NO₃⁻ em soluções com adições de concentrações crescentes de N-NO₃⁻ a extratos de solo (S1, S2, S3, S4, S5 e S6) obtidos com água, NaHCO₃ 0,01 mol/L e KCl 1 mol/L

Fonte de variação	gl	Quadrados médios		
		Água	NaHCO ₃	KCl
Repetição	3	2,94x10 ^{-4ns}	4,69x10 ^{-4ns}	2,30x10 ^{-5ns}
Tratamentos	23	0,3316***	0,2314***	0,1837***
Solos	5	4,09x10 ^{-2***}	0,1298***	0,1553***
N-NO ₃ ⁻ adicionado	3	2,4737***	1,5563***	1,1489***
Resíduo	69	1,74x10 ⁻⁴	3,49x10 ⁻⁴	7,35x10 ⁻⁵
CV(%)		3,26	5,02	2,79

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

Quadro 12A - Valores médios de concentrações de N-NO₃⁻ em 27 amostras de solo analisadas pelo método Kjeldahl e pela reação de Griess-Ilosvai; e pelo método EUV, a partir da análise de extratos de KCl sem (H₂O) e com H₂SO₄ (H₂SO₄) a 225 e 255 nm (1) e a 220 e 275 nm (2), ou a partir da análise a 220 e 225 nm de extratos sem H₂SO₄ e com H₂SO₄ mais Zn⁰ (H₂O-Zn⁰) e de extratos com H₂SO₄ na ausência e presença de Zn⁰ (H₂SO₄-Zn⁰)

Amostra de solo	Kjeldahl	G.-Ilos..	UV	UV	UV	UV	UV225	UV225	UV220	UV220
			H ₂ O	H ₂ SO ₄	H ₂ O	H ₂ SO ₄	H ₂ O-Zn ⁰	H ₂ SO ₄ -Zn ⁰	H ₂ O-Zn ⁰	H ₂ SO ₄ -Zn ⁰
			1	1	2	2				
N-NO ₃ ⁻ (mg/kg).....									
S1	4,026	1,237	4,179	3,958	4,701	4,594	2,390	2,125	1,781	1,622
S2	2,664	1,864	5,514	5,235	6,277	5,946	3,779	3,459	3,175	2,926
S3	3,545	0,975	1,852	1,791	2,209	2,101	1,189	1,188	1,121	1,081
S4	8,081	7,404	10,855	11,164	12,020	12,011	10,383	9,996	10,479	10,052
S5	5,372	1,660	3,498	3,479	4,220	4,253	2,532	2,470	2,616	2,659
S6	22,827	12,303	16,500	17,023	17,292	17,969	15,920	16,511	15,230	16,160
S7	37,111	53,465	61,440	67,394	64,332	57,558	58,493	64,097	58,540	54,507
S8	9,774	6,162	10,898	9,196	12,500	11,060	9,752	7,973	9,718	8,980
S9	8,883	9,425	14,845	12,465	16,375	15,242	12,835	10,290	10,185	10,569
S10	12,422	8,667	13,207	11,070	14,947	13,142	12,556	10,366	12,658	11,422
S11	14,202	7,941	12,032	10,091	13,877	12,595	11,275	9,279	11,469	10,729
S12	8,869	7,548	11,634	9,702	13,298	11,673	10,367	8,518	10,032	9,178
S13	18,645	18,056	21,603	18,552	23,120	20,979	20,739	17,655	20,634	19,072
S14	32,770	35,230	37,283	32,946	34,742	33,300	36,632	32,022	32,243	31,272
S15	7,046	26,555	24,137	25,646	25,111	29,326	25,354	26,774	22,840	26,726
S16	5,328	3,812	2,505	2,767	3,099	3,412	3,218	3,431	1,568	1,069
S17	7,265	5,996	6,863	9,582	7,573	12,454	8,525	11,565	7,103	12,102
S18	11,181	35,114	29,185	34,373	30,243	40,483	30,306	35,557	26,261	35,840
S19	11,246	24,476	23,356	30,001	24,731	36,183	23,793	31,293	20,749	31,840
S20	21,379	44,436	41,984	45,555	43,393	51,796	41,128	44,863	37,284	44,996
S21	40,753	95,082	97,203	108,093	100,731	126,372	98,885	109,289	98,051	121,214
S22	14,055	5,072	6,187	6,804	6,865	7,939	8,189	8,791	5,822	6,679
S23	14,041	3,962	5,721	6,364	6,362	7,455	8,031	8,545	5,185	5,994
S24	11,208	21,165	14,572	15,409	14,843	17,544	16,703	17,763	14,800	17,577
S25	25,850	56,454	54,184	55,403	54,736	63,650	55,005	56,607	52,133	60,965
S26	69,397	179,779	192,725	177,344	204,806	234,408	192,975	177,473	194,129	219,992
S27	55,662	100,265	96,887	99,850	100,038	118,280	97,687	98,915	91,548	106,540

Quadro 13A - Análise de variância dos dados de concentrações de N-NO_3^- em 27 amostras de solos analisadas pelo método Kjeldahl (KJ) e pela reação de Griess-Ilosvai (GI); e pelo método EUV, a partir da análise de extratos de KCl sem (H_2O) e com H_2SO_4 (H_2SO_4) a 225 e 255 nm (1) e a 220 e 275 nm (2), ou a partir da análise a 220 e 225 nm de extratos sem H_2SO_4 e com H_2SO_4 mais Zn^0 (H_2OZn^0) e de extratos com H_2SO_4 na ausência e presença de Zn^0 ($\text{H}_2\text{SO}_4\text{Zn}^0$)

Fonte de variação	gl	Quadrados médios					
		KJ	GI	1- H_2O	2- H_2O	1- H_2SO_4	2- H_2SO_4
Repetição	3	87,33 ^{ns}	18,52 ^{ns}	15,76 ^{ns}	21,49 ^{ns}	79,98 ^{ns}	33,54 ^{ns}
Tratamentos	26	1.076,92 ^{***}	6.526,34 ^{***}	6.910,36 ^{***}	7.598,05 ^{***}	6.588,18 ^{***}	10.353,96 ^{***}
Resíduo	78	42,66	11,97	21,16	12,82	116,67	16,24
CV(%)		36,46	12,07	15,13	11,21	35,08	11,20

Fonte de variação	gl	Quadrados médios			
		225 H_2OZn	225 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{Zn}$	220 H_2OZn	220 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{Zn}$
Repetição	3	27,75 ^{ns}	49,40 ^{ns}	76,87 [*]	102,46 ^{ns}
Tratamentos	26	6.971,00 ^{***}	6.611,07 ^{***}	6.958,25 ^{***}	9.253,99 ^{***}
Resíduo	78	21,34	113,27	26,70	43,48
CV(%)		15,24	34,75	17,95	20,19

* e *** significativos, pelo teste F, a 5 e 0,5% de probabilidade, respectivamente.

APÊNDICE B

CAPÍTULO 2

Dosagem indireta de nitrato pelo método Nessler em extratos de solo obtidos com KCl

Quadro 1B - Valores de absorvâncias, a 410 nm, em soluções com concentrações crescentes de NH_4^+ dosadas com 0,5 ou 1 mL de reagente Nessler (RN)

N- NH_4^+ (mg/L)	Aliquota de RN	
	0,5 mL RN	1 mL RN
0,0	0,429	0,000
0,2	0,491	0,057
0,4	0,546	0,117
0,6	0,597	0,185
0,8	0,659	0,269
1,0	0,716	0,343

Quadro 2B - Análise de variância da regressão dos dados de absorvâncias em soluções contendo NH_4^+ dosadas com 0,5 (QM05) ou 1 mL de RN (QM1)

Fonte de variação	gl	Quadrados médios	
		QM05	QM1
Devido à regressão	1	$5,66 \times 10^{-2}***$	$8,40 \times 10^{-2}***$
Independente da regressão	4	$9,28 \times 10^{-6}$	$1,12 \times 10^{-4}$

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

Quadro 3B - Valores de absorvâncias em soluções de leitura contendo solA (ABS1) e solB (ABS2) com 36, 72 e 108 mmol/L de H₂SO₄ na presença de Zn⁰

N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	36 mmol/L de H ₂ SO ₄		72 mmol/L de H ₂ SO ₄		108 mmol/L de H ₂ SO ₄	
	ABS1	ABS2	ABS1	ABS2	ABS1	ABS2
0,0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,2	0,059	0,059	0,075	0,057	0,038	0,045
0,4	0,140	0,137	0,151	0,158	0,126	0,115
0,6	0,239	0,274	0,279	0,276	0,232	0,204
0,8	0,388	0,343	0,375	0,379	0,344	0,300
1,0	0,500	0,476	0,466	0,465	0,443	0,430

Quadro 4B - Análise de variância da regressão dos dados de absorvâncias em soluções de leitura contendo solA (1) e solB (2) com 36, 72 e 108 mmol/L de H₂SO₄ na presença de Zn⁰

Fonte de variação	gl	Quadrados médios					
		36 mmol/L de H ₂ SO ₄		72 mmol/L de H ₂ SO ₄		108 mmol/L de H ₂ SO ₄	
		QM1	QM2	QM1	QM2	QM1	QM2
Dev à regressão	1	0,1837***	0,1621***	0,1611***	0,1660***	0,1499***	0,1289***
Indep. Regressão	4	9,99x10 ⁻⁴	6,21x10 ⁻⁴	2,52x10 ⁻⁴	3,00x10 ⁻⁴	6,52x10 ⁻⁴	8,45x10 ⁻⁴

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

Quadro 5B - Valores médios das concentrações de N-NO₃⁻ em 27 amostras de solo analisadas pelo método Kjeldahl; pela reação de Griess-Ilosvai; e pelo método Nessler, a partir da análise de extratos de KCl com H₂SO₄ mais Zn⁰ em relação a extratos sem (1) e com H₂SO₄ (2)

Amostra de solo	Kjeldahl	G.-Ilosvai	Nessler 1	Nessler 2
N-NO ₃ ⁻ (mg/kg).....			
S1	4,026	1,237	1,432	1,216
S2	2,664	1,864	0,000	0,000
S3	3,545	0,975	0,000	0,006
S4	8,081	7,404	6,403	6,081
S5	5,372	1,660	0,000	0,000
S6	22,827	12,303	11,014	11,243
S7	37,111	53,465	35,809	45,232
S8	9,774	6,162	1,836	1,691
S9	8,883	9,425	6,924	6,519
S10	12,422	8,667	4,941	4,742
S11	14,202	7,941	4,030	4,181
S12	8,869	7,548	6,180	5,661
S13	18,645	18,056	13,99	14,437
S14	32,770	35,230	27,971	28,977
S15	7,046	26,555	25,958	27,475
S16	5,328	3,812	16,779	17,352
S17	7,265	5,996	0,000	0,000
S18	11,181	35,114	37,706	34,817
S19	11,246	24,476	6,611	3,503
S20	21,379	44,436	26,036	27,729
S21	40,753	95,082	72,271	74,546
S22	14,055	5,072	18,841	17,590
S23	14,041	3,962	13,665	13,506
S24	11,208	21,165	5,661	2,248
S25	25,850	56,454	15,999	12,744
S26	69,397	179,779	173,415	169,707
S27	55,662	100,265	59,593	54,822

Quadro 6B - Análise de variância dos dados de concentrações de concentrações de N-NO₃⁻ em 27 amostras de solo analisadas pelo método Kjeldahl (KJ); pela reação de Griess-Ilosvai (GI); e pelo método Nessler (NESL), a partir da análise de extratos de KCl com H₂SO₄ mais Zn⁰ em relação a extratos sem (1) e com H₂SO₄ (2)

Fonte de variação	gl	Quadrados médios			
		QMKJ	QMGI	QMNESL1	QMNESL2
Repetição	3	87,33ns	18,52ns	435,86ns	636,82ns
Solos	26	1.076,92***	6.526,34***	4.969,80***	4.881,30***
Resíduo	78	42,66	11,97	333,81	345,59
CV(%)		36,46	12,07	83,18	85,65

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

APÊNDICE C

CAPÍTULO 3

Dosagem indireta de nitrato pelo método do salicilato em extratos de solo obtidos com KCl

Quadro 1C - Valores de absorvâncias em soluções de leitura dosadas pelo procedimento indicado por KEMPERS e ZWEERS (KZ) e pelos Ajuste-NaOH, Ajuste-Rc, Ajuste-Rb e Ajuste-Rab

N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	KZ	Ajuste-NaOH	Ajuste-Rc	Ajuste-Rb	Ajuste-Rab
0,0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,1	0,166	0,133	0,151	0,171	0,160
0,2	0,335	0,248	0,315	0,302	0,315
0,4	0,521	0,505	0,653	0,645	0,492
0,6	0,858	0,715	1,003	0,958	0,818
0,8	1,049	0,947	1,323	1,214	0,997

Quadro 2C - Análise estatística dos dados de absorvâncias em soluções de leitura dosadas pelo procedimento indicado por KEMPERS e ZWEERS (KZ) e pelo Ajuste-NaOH, Ajuste-Rc, Ajuste-Rb e Ajuste-Rab

Fonte de variação	gl	Quadrados médios				
		1 mL das soluções de N-NH ₄ ⁺				
		QMKZ	QMNaOH	QMRc	QMRb	QMRab
Devido à regressão	1	0,8109***	0,6595***	5,49x10 ⁻² ***	1,1035***	0,7263***
Independente da regressão	4	1,64x10 ⁻³	1,74x10 ⁻⁴	1,03x10 ⁻⁴	5,28x10 ⁻⁴	1,86x10 ⁻³

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

Quadro 3C - Valores de absorvâncias em soluções de leitura contendo alíquotas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,5; ou 2 mL de solA e solB tratadas com Zn⁰ ou liga de Devarda

Redutor - Zn ⁰														
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	Alíquota solA (mL)							Alíquota solB (mL)						
	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,5	2,0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,5	2,0
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,075	x	x	x	x	x	0,022	x	x	x	x	x	x	0,082	x
0,080	0,128	x	x	0,078	x	x	x	0,078	x	x	0,118	x	x	x
0,100	x	x	x	x	0,139	x	0,141	x	x	x	x	0,150	x	0,155
0,120	x	x	0,164	x	x	x	x	x	x	0,185	x	x	x	x
0,150	x	x	x	x	x	0,182	x	x	x	x	x	x	0,169	x
0,160	x	0,214	x	0,222	x	x	x	x	0,240	x	0,220	x	x	x
0,200	0,329	x	x	x	0,293	x	0,260	0,248	x	x	x	0,282	x	0,276
0,240	x	x	0,382	0,357	x	x	x	x	x	0,357	0,315	x	x	x
0,300	0,465	x	x	x	0,453	0,412	x	0,387	x	x	x	0,416	0,387	x
0,400	0,637	0,602	x	0,561	x	x	0,555	0,522	0,567	x	0,549	x	x	0,572
0,450	x	x	x	x	x	0,638	x	x	x	x	x	x	0,575	x
0,500	x	x	x	x	0,778	x	x	x	x	x	x	0,666	x	x
0,600	x	0,866	0,936	x	x	x	0,843	x	0,842	0,866	x	x	x	0,816
0,750	x	x	x	x	x	1,068	x	x	x	x	x	x	0,868	x
0,800	x	1,152	x	1,068	x	x	x	x	1,128	x	1,045	x	x	x
0,900	x	x	1,309	x	x	x	x	x	x	1,230	x	x	x	x
1,00	x	x	x	x	1,443	x	1,359	x	x	x	x	1,291	x	1,265

Redutor - liga de Devarda														
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	Alíquota solA (mL)							Alíquota solB (mL)						
	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,5	2,0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,5	2,0
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,075	x	x	x	x	x	0,157	x	x	x	x	x	x	0,060	x
0,080	0,122	x	x	0,168	x	x	x	0,060	x	x	0,046	x	x	x
0,100	x	x	x	x	0,164	x	0,168	x	x	x	x	0,063	x	0,080
0,120	x	x	0,208	x	x	x	x	x	x	0,115	x	x	x	x
0,150	x	x	x	x	x	0,253	x	x	x	x	x	x	0,106	x
0,160	x	0,247	x	0,279	x	x	x	x	0,080	x	0,133	x	x	x
0,200	0,324	x	x	x	0,319	x	0,316	0,130	x	x	x	0,128	x	0,169
0,240	x	x	0,406	0,445	x	x	x	x	x	0,164	0,163	x	x	x
0,300	0,448	x	x	x	0,487	0,456	x	0,189	x	x	x	0,224	0,202	x
0,400	0,597	0,632	x	0,666	x	x	0,591	0,286	0,240	x	0,301	x	x	0,272
0,450	x	x	x	x	x	0,681	x	x	x	x	x	x	0,301	x
0,500	x	x	x	x	0,758	x	x	x	x	x	x	0,378	x	x
0,600	x	0,951	0,882	x	x	x	0,885	x	0,319	0,402	x	x	x	0,419
0,750	x	x	x	x	x	1,060	x	x	x	x	x	x	0,502	x
0,800	x	1,268	x	1,199	x	x	x	x	0,485	x	0,458	x	x	x
0,900	x	x	1,260	x	x	x	x	x	x	0,521	x	x	x	x
1,00	x	x	x	x	1,425	x	1,382	x	x	x	x	0,584	x	0,734

Quadro 4C - Análise de variância dos dados de absorvâncias em soluções de leitura contendo alíquotas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,5; ou 2 mL de solA e solB tratadas com Zn⁰ ou liga de Devarda

		Quadrados Médios					
Fonte de variação	gl	Redutor – Zn ⁰					
		Alíquota solA (mL)			Alíquota solB (mL)		
		QMa	QMb	QMc	QMa	QMb	QMc
Dev à regressão	1	0,2603***	0,8781***	1,2010***	0,1844***	0,8179***	1,0312***
Indep. da regressão	4	8,51x10 ⁻⁵	2,92x10 ⁻⁴	1,14x10 ⁻³	1,46x10 ⁻⁴	5,18x10 ⁻⁵	5,17x10 ⁻⁴

		Quadrados Médios							
Fonte variação	gl	Redutor – Zn ⁰							
		Alíquota solA (mL)			Alíquota solB (mL)				
		QMd	QMe	QMf	QMg	QMd	QMe	QMf	QMg
Dev à regressão	1	0,7646***	1,3875***	0,7913***	1,2901***	0,7129***	1,0733***	0,5443***	1,1044***
Indep. da regr.	5	6,39x10 ⁻⁴	6,47x10 ⁻⁴	2,44x10 ⁻⁴	2,03x10 ⁻⁴	1,37x10 ⁻⁴	1,75x10 ⁻⁴	7,66x10 ⁻⁴	9,67x10 ⁻⁴

		Quadrados médios					
Fonte de variação	gl	Redutor – liga de Devarda					
		Alíquota solA (mL)			Alíquota solB (mL)		
		QMa	QMb	QMc	QMa	QMb	QMc
Dev à regressão	1	0,2319***	1,0531***	1,0510***	4,91x10 ⁻² ***	0,1469***	0,1817***
Indep. da regressão	4	1,65x10 ⁻⁴	9,16x10 ⁻⁶	1,16x10 ⁻³	1,61x10 ⁻⁴	4,68x10 ⁻⁴	8,47x10 ⁻⁴

		Quadrados médios							
Fonte variação	gl	Redutor – liga de Devarda							
		Alíquota solA (mL)			Alíquota solB (mL)				
		QMd	QMe	QMf	QMg	QMd	QMe	QMf	QMg
Dev à regressão	1	0,9126***	1,3112***	0,7488***	1,3065***	0,1404***	0,2324***	0,1696***	0,3550***
Indep. da regr.	5	1,45x10 ⁻³	7,17x10 ⁻⁴	5,93x10 ⁻⁴	6,42x10 ⁻⁴	1,08x10 ⁻³	1,51x10 ⁻³	1,57x10 ⁻⁵	3,13x10 ⁻⁴

***, significativo, pelo teste F, a 0,5% de probabilidade.

Quadro 5C - Valores médios de concentrações de $N-NO_3^-$ em 27 amostras de solo analisadas pelo método Kjeldahl; pela reação de Griess-Ilosvai; e pelo método do salicilato, no Ajuste-Rb e Ajuste-Rc, a partir da análise de extratos de KCl com H_2SO_4 mais Zn^0 em relação a extratos sem (ZnH_2O) e com H_2SO_4 (ZnH_2SO_4)

Amostra de solo	Kjeldahl	Griess-Ilosvai	Sal Ajuste-Rb	Sal Ajuste-Rb	Sal Ajuste-Rc	Sal Ajuste-Rc
			ZnH_2O	ZnH_2SO_4	ZnH_2O	ZnH_2SO_4
.....N-NO ₃ ⁻ (mg/dm ³).....						
S1	4,026	1,237	0,745	1,009	0,675	0,852
S2	2,664	1,864	1,160	0,170	1,942	1,384
S3	3,545	0,975	0,361	0,214	0,859	0,659
S4	8,081	7,404	7,618	7,06	8,057	6,557
S5	5,372	1,660	1,366	0,476	2,879	1,606
S6	22,827	12,303	12,397	9,735	12,816	9,697
S7	37,111	53,465	47,626	35,941	39,632	31,903
S8	9,774	6,162	7,745	7,703	9,422	8,772
S9	8,883	9,425	12,448	11,740	14,170	14,156
S10	12,422	8,667	11,437	10,697	11,964	11,496
S11	14,202	7,941	9,265	9,327	9,759	10,242
S12	8,869	7,548	8,931	8,850	11,725	11,004
S13	18,645	18,056	17,949	17,354	19,657	19,854
S14	32,770	35,230	31,105	31,495	32,818	32,679
S15	7,046	26,555	24,519	23,947	22,297	20,270
S16	5,328	3,812	0,802	0,530	0,288	0,000
S17	7,265	5,996	3,300	2,206	0,530	0,085
S18	11,181	35,114	33,593	32,301	28,953	26,724
S19	11,246	24,476	22,672	17,658	23,489	14,512
S20	21,379	44,436	51,700	49,671	50,954	47,426
S21	40,753	95,082	103,269	100,167	95,394	90,473
S22	14,055	5,072	4,900	4,234	49,736	48,304
S23	14,041	3,962	2,681	1,199	0,088	0,000
S24	11,208	21,165	12,939	12,492	9,174	8,048
S25	25,850	56,454	59,433	57,771	58,280	56,221
S26	69,397	179,779	227,885	226,891	223,270	222,127
S27	55,662	100,265	114,046	110,024	110,518	103,659

Quadro 6C - Análise de variância dos dados de concentrações de $N-NO_3^-$ em 27 amostras de solo analisadas pelo método Kjeldahl (KJ); pela reação de Griess-Ilosvai (GI); e pelo método do salicilato no Ajuste-Rb e Ajuste-Rc, a partir da análise de extratos de KCl com H_2SO_4 mais Zn^0 em relação a extratos sem (ZnH_2O) e com H_2SO_4 (ZnH_2SO_4)

Fonte variação	gl	Quadrados médios					
		KJ	GI	RbZnH ₂ O	RcZnH ₂ O	RbZnH ₂ SO ₄	RcZnH ₂ SO ₄
Solos	3	87,33ns	18,52ns	501,11ns	508,60*	507,72ns	505,29*
Repetição	26	1.076,92***	6.526,34***	9.679,27***	9.050,10***	9.472,97***	8.776,25***
Resíduo	78	42,66	11,97	188,74	165,79	196,89	164,89
CV(%)		36,46	12,07	44,59	40,93	47,90	43,41

* e ***, significativos, pelo teste F, a 5 e 0,5% de probabilidade, respectivamente.