

DETERMINAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DE BAIXOS
TEORES DE NH_3 EM FLUIDO RUMINAL .

W. L. Polito*

J.D. Jarjura*

L.H. Mazo*

* Instituto de Física e Química de São Carlos
Universidade de São Paulo
e
A. Manzano**

**EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
UEPAE DE SÃO CARLOS - SP

INTRODUÇÃO

O método de Kjeldahl para determinação de nitrogênio em plantas, solos e outros materiais biológicos ou geológicos, consiste na digestão sulfúrica das amostras, seguida de uma destilação por arrastamento com vapor, em meio alcalino⁽¹⁾.

A microdestilação de Kjeldahl foi aplicada em outros trabalhos, para determinação de amônia em fluido ruminal^(2,3), onde teores entre 10 a 300 ppm de NH_3 foram determinados. Recentemente, modificações vem sendo propostas, visando principalmente maior sensibilidade e precisão, com o máximo de rapidez nas determinações. Sob esse aspecto, cita-se o procedimento de destilação isotérmica em análise por injeção em fluxo contínuo, adotado por ZAGATTO e colaboradores⁽⁴⁾.

No presente trabalho descreve-se a análise de NH_3 em fluidos ruminais de bovinos, em que os teores encontrados foram utilizados como um dos subsídios para se comprovar a eficiência de uma dieta à base de farelo de soja e cana de açúcar (*Saccharum Officinatum*) em bovinos⁽⁵⁾. Essa determinação foi feita seguindo-se o procedimento padrão de destilação em um micro Kjeldahl, e alternativamente, sugeriu-se uma modificação de destilação por arrastamento com fluxo de ar comprimido, em que se utiliza um sistema mais simples do que no procedimento padrão, onde a destilação é feita com arrastamento por vapor.

PROCI-1982.00038
POL
1982
SP-1982.00038

Reagentes

Todos os reagentes utilizados nesse trabalho foram de grau analítico.

A solução de ácido clorídrico utilizada para titulação potenciométrica de NH_3 foi padronizada com solução de NaOH padrão Titrisol Merck.

A solução de cloreto de amônia utilizada nos testes de recuperação, foi padronizada argentometricamente (6.)

Equipamentos

As titulações potenciométricas foram feitas com um sistema semi-automático de análise, constituído de uma Autobureta Radiometer ABU 13, um pHmetro Corning Mod. 130, um registrador potenciométrico C.G., e um eletrodo de vidro Radiometer GK 2 301 C.

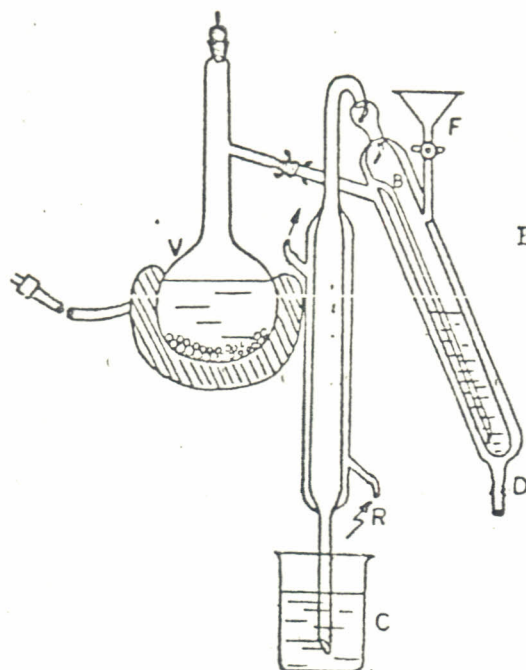
Nas análises por destilação em corrente de vapor, utilizou-se um micro destilador de Kjeldahl, descrito na Figura I.

Um banho termostático, com temperatura controlada em $95 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1,0 \text{ }^\circ\text{C}$, foi utilizado nas medidas com arrastamento por fluxo de ar. A Figura II ilustra o sistema borbulhador e os acessórios utilizados.

Procedimentos

Nas determinações e testes com amostras padrões de NH_4Cl , utilizando-se o sistema descrito na Figura I, as amostras e a solução alcalina foram introduzidas pelo funil. A corrente de vapor produzida no frasco lateral passa pela amostra pelo borbulhador. A destilação ocorre durante 8 minutos e todo o NH_3 liberado é coletado em uma célula potenciométrica contendo 30 ml de solução 2,5 % de ácido bórico, em banho de gelo. A titulação da amônia faz-se com solução de ácido clorídrico padronizado, instrumentalmente, com o registro automático da curva de titulação.

Nas determinações e ensaios com amostras padrões utilizando-se o sistema descrito na Figura II, o ar comprimido borbulha na amostra previamente aquecida a $95 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 8 minutos. O NH_3 é liberado e coletado, sendo então titulado com descrito acima.



Escala 1:3

FIGURA I : Microdestilador de KJELDAHL .

- V) Gerador de vapor
- F) Funil para introduzir amostra e reagente
- B) Borbulhador de vapor no compartimento de amostra
- C) Célula potenciométrica coletora de amostra (NH_3)
- D) Sistema de drenagem após destilação
- R) Refrigeração do condensador

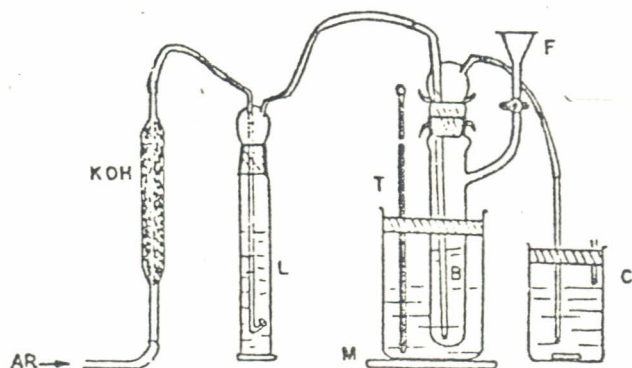


Figura II : Sistema para destilação por arrastamento com ar comprimido.

- L) Frasco Borbulhador com tricloroetileno lamina
- T) Banho termostático
- M) Chapa aquecedora com regulador de temperatura
- B) Borbulhador de ar
- F) Funil para introdução da amostra e reagentes.
- C) Célula potenciométrica coletora de amostra (NH_3)

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Utilizando-se os sistemas descritos nas Figuras I e II, foram levados a efeito testes de recuperação de NH_3 com amostras padrões, mantendo-se a concentração de NaOH em 2,0 M. Esses ensaios foram feitos sempre com padrões e brancos, da mesma forma e com o mesmo tempo de destilação (10 minutos). Para o método de Kjeldahl, a recuperação é de praticamente 100 %. Para o método com o fluxo de ar, as melhores condições de temperatura e fluxo de ar foram investigadas. Os melhores resultados de recuperação de NH_3 foram obtidos para temperaturas entre 95 - 97 °C e fluxo de ar entre 1,2 - 1,4 litros/min . Nessas condições foram feitos testes de melhor alcalinidade, verificando-se recuperação em torno de 98 %, não influenciando de modo bastante acentuado, a concentração de NaOH. Com base nesses resultados, fixou-se em 2,5 M a concentração de NaOH para os ensaios e análises posteriores.

O estudo do melhor tempo de destilação, para ambos os sistemas utilizados, está representado na Figura III. Esses estudos foram feitos registrando-se a variação de pH em função do tempo de destilação. Em ambos os casos, observa-se que com 5 minutos de destilação, se obtém percentagens de recuperação superior a 98 %. As análises e ensaios posteriores foram feitos com 8 minutos de destilação, para garantir o máximo de eficiência no arraste de NH_3 .

A Tabela I ilustra os dados obtidos em um estudo comparativo de recuperação de NH_3 de soluções padrões, utilizando-se os dois sistemas de destilação do NH_3 , descritos nas Figuras I e II. Testes estatísticos aplicados com os dados da Tabela I, mostram que as médias para os métodos A e B são equivalentes para um nível de confiança de 99 %.

A Tabela II descreve os resultados obtidos em um teste comparativo dos métodos utilizados, na determinação de NH_3 com amostras de fluido ruminal. Essas determinações foram feitas com amostras de rumen tiradas de um mesmo animal para 4 tratamentos diferentes para comparação dos resultados do método de Kjeldahl padrão (A) e do método modificado (B). Os resultados indicam que os métodos se equivalem, praticamente.

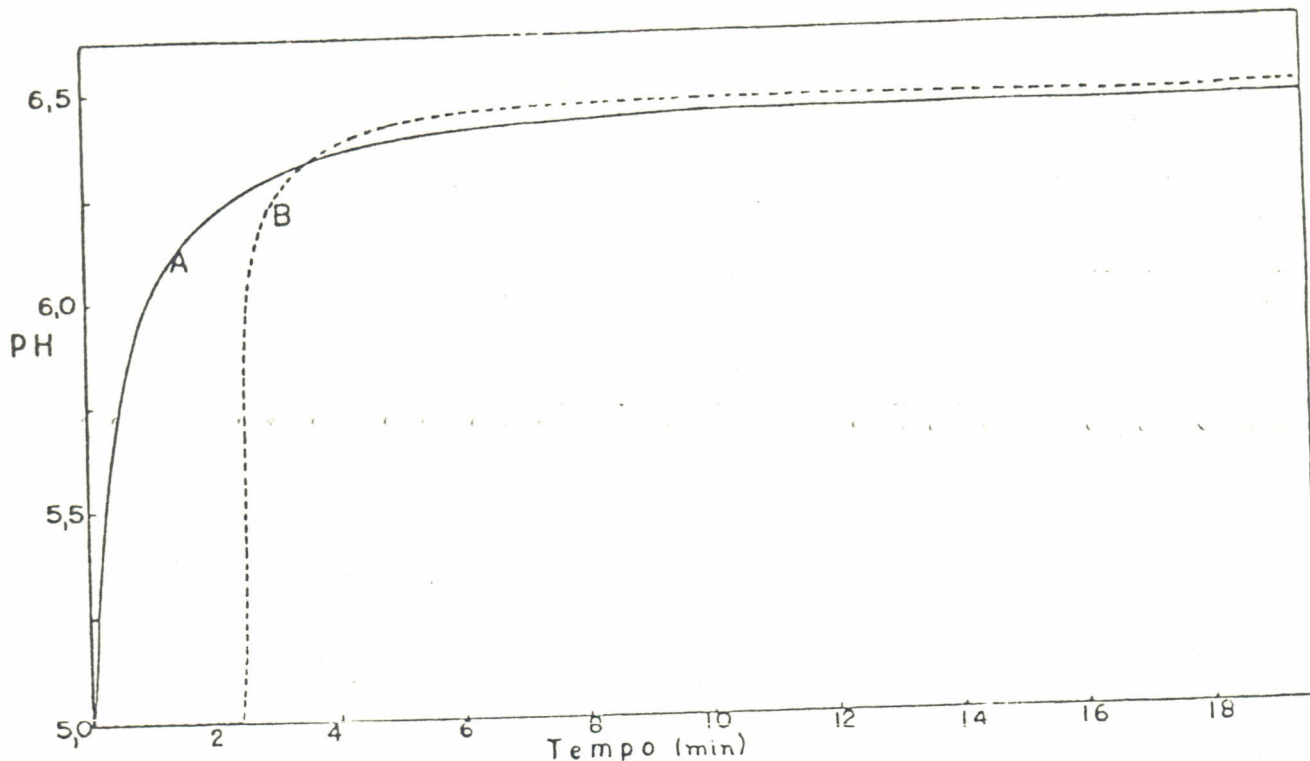


Figura III : Estudo do melhor tempo de destilação para o método de Kjeldahl padrão e para o método modificado .

- A) Curva pH em função do tempo na destilação por arrastamento com ar comprimido.
 B) Curva pH em função do tempo na destilação por arrastamento com vapor.

Tabela I : Recuperação de NH_3 para soluções padrões pelo método de kjeldahl (A) e para o método modificado (B)

Experimento nº	NH_3 eq g $\times 10^4$ adicionado	NH_3 Eq g $\times 10^4$ Recup.		Recuperação %	
		A	B	A	B
1	1,125	1,102	1,119	97,92	99,55
2	1,125	1,118	1,110	99,45	98,70
3	1,125	1,126	1,122	100,1	99,75
4	1,125	1,105	1,098	98,20	97,64
5	1,125	1,123	1,103	99,80	98,00
6	1,125	1,124	1,105	99,92	98,20
7	1,125	1,136	1,096	101,0	97,45
Média				99,48	98,47
\bar{d}				0,82	0,74

TABELA II - Dados obtidos na determinação de amônia em fluido ruminal para um mesmo animal submetido a quatro diferentes tratamentos e com diferentes tempos de amostragem, para comparação dos resultados dos métodos de Kjeldahl padrão (A) e modificado (B) .

Tratamento	T ₀ [*]		T ₂ [*]		T ₄ [*]		T ₆ [*]	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1	4,63	4,99	24,75	24,40	7,92	8,01	4,95	5,16
2	5,18	5,42	27,11	26,95	7,95	7,90	4,32	4,18
3	4,55	4,68	25,82	26,32	8,55	8,22	3,45	3,31
4	4,37	4,62	24,40	24,75	3,52	8,54	4,22	4,01

* Os tempos T₀, T₂, T₄ e T₆ correspondem ao estado de entre-refeição, duas, quatro e seis horas após a ingestão, respectivamente

** Média de duas determinações para cada amostragem.

TABELA III - Concentração média de amônia no fluido ruminal, em diferentes tempos após a ingestão e em diferentes tratamentos.

Tratamento	T ₀	T ₂	T ₄	T ₆
	NH ₃ mg/100 ml **			
1	4,51 ± 0,66	19,72 ± 2,59	8,68 ± 2,37	6,23 ± 1,34
2	6,76 ± 0,93	26,59 ± 1,15	3,14 ± 1,63	3,71 ± 0,90
3	9,14 ± 1,28	26,76 ± 2,43	10,12 ± 2,48	5,87 ± 1,23
4	6,74 ± 1,68	27,83 ± 1,36	3,08 ± 1,36	5,94 ± 0,59

* Média de oito amostragens com duas amostragens por semana e troca do animal a cada duas semanas. Os desvios das médias levam em conta os eventuais desvios do método analítico, bem como os parâmetros biológicos inerentes a cada animal utilizado no experimento.

O delineamento experimental para as amostragens das análises feitas, seguiu um quadrado latino de " 4 X 4 ", tal que os quatro animais utilizados no trabalho, fossem submetidos a quatro diferentes dietas. As dietas eram constituídas de cana de açúcar, milho e ureia, variando os níveis de farelo de soja de 300,600,900 e 1.200 g/animal/ dia, para os tratamentos 1,2,3 e 4 respectivamente. Cada animal permaneceu 21 dias em cada tratamento, sendo 14 dias para um período pré-experimental (adaptação) e 7 dias de período de colheita.

Os resultados da Tabela III, sugerem que o aumento da quantidade de farelo de soja nos diferentes tratamentos, não aumentam a concentração de amônia do fluido ruminal, indicando que os níveis de proteína estudados não afetaram a fermentação ruminal. As variações nas concentrações de NH_3 que ocorrem para os diferentes tempos de colheita, foram os esperados em virtude do processo fermentativo que ocorre no rumen de bovinos.

A presente comunicação, além desses resultados, mostra ainda a possibilidade de se utilizar a destilação por arrastamento com fluxo de ar comprimido, na determinação de nitrogênio total ou amônia. Com essa modificação, utiliza-se uma instrumentação mais simples e as análises são feitas com a mesma sensibilidade e precisão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) WELCHER, F.J., "Standard Methods of Chemical Analysis" - Van Nostrand-Reinhold, N. York, Vol 2, Part A, 6th Ed (1963)
- (2) SELIGSON, D. and HIRAHARA, K. , "The Measurements of Amônia In Blood, Erythrocyts and Plasma"- Journal Laboratory Clinical Medicine, 49 (1957) 962 .
- (3) ELLIOT, R., M.H. FERRERO et Allii- "Pulidura de Arroz Como Suplementos de Dietas de Cana de Azucar; Cantidades de Amidon que entra al Duodeno Proximal"- Produccion Animal Tropical, 3 (1) (1978) 27-32.
- (4) ZAGATTO, E.A.G., B.F. REIS, H.BERGAMIN F^o and F. KRUGG "Iso-Thermal distillation in Fow Injection Analysis- Determination of total Nitrogen in Plant Material. Analytica Chimica Acta, 109, (1979) 45-54.
- (5) MANZANO, A. , "Efeito do Farelo de Soja no Consumo Voluntário de Cana de Açúcar" - Trabalho de Tese de Doutorado em andamento.
- (6) BASSET, J. , R.C. Denney, G.H. JEFFERY e J. MENDHAN- "VOGEL Analise Inorgânica Quantitativa" - Editora Guanabara II S.A. Rio de Janeiro, R.J., (1981)