

# Validação do método para determinação de Nitrogênio Kjeldahl Total

## Resumo

O termo do “Nitrogênio de Kjeldahl Total” (NKT) refere-se à combinação da amônia e do nitrogênio orgânico. A determinação de NKT é um método de referência para a determinação do nitrogênio. Em virtude da grande demanda das análises em nosso laboratório para determinar NKT em diferentes matrizes ambientais, torna-se necessário validar um método em que as determinações são realizadas mais rapidamente e com exatidão, em comparação ao método tradicional de NKT. Para a validação, utilizou-se o método 8075 do espectrofotômetro de Hach. Nas comparações, não há evidência de erro sistemático, as diferenças entre as médias não são significativas no nível de 0.05 (5%) e a hipótese nula é mantida. Somente usando-se 0,1 de turfa na determinação pelo método Kjeldahl tradicional apresentou-se erro sistemático. Os métodos Hach e Kjeldahl tradicionais apresentaram a mesma concentração média de NKT; conseqüentemente resultados similares são alcançados usando-se ambas as metodologias. Contudo utilizando-se o espectrofotômetro Hach é possível obter resultados com rapidez, confiabilidade e poucas variações em comparação ao método tradicional de TKN.

**Palavras-chave:** Nitrogênio Kjeldahl Total, validação, análise ambiental

## Summary

The term “Total Kjeldahl Nitrogen” (TKN) refers to the combination of ammonia and organic nitrogen. The TKN determination is a reference method for nitrogen determination. In virtue of the great demand of analyses in our laboratory to determine TKN in different environmental matrices, it becomes necessary to validate a method in which the determinations are carried out faster and accuracy, in comparison to the traditional TKN method. For validation, the method 8075 of Hach spectrophotometer was used. In the comparisons, it does not have evidence of bias, the differences between the averages are not significant in the level of 0.05 (5%) and the null hypothesis is kept. Only the traditional Kjeldahl method using of peat presented bias. The Hach and traditional Kjeldahl methods have presented the same average concentration of TKN; therefore similar results are reached by using both methodologies. Throughout Hach spectrophotometer it is possible to obtain results with rapidity, confiability and low variances in comparison to traditional TKN method.

**Keywords:** Total Kjeldahl Nitrogen, validation, environmental analysis

## INTRODUÇÃO

A matéria orgânica existente nos solos consiste de uma mistura de produtos animais e vegetais em vários estados de decomposição, resultante da degradação química, biológica e da atividade sintética dos microrganismos. A matéria orgânica é fonte de energia e nutriente para os organismos que participam de seu ciclo biológico, e exerce um importante papel em sua fertilidade. O húmus com-

prende biomoléculas, como aquelas exemplificadas como substâncias não húmicas, e as substâncias húmicas (SH), grosso modo, são compostos de coloração escura, persistentes e amorfos, diferenciados em ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina, com base em suas características de solubilidade (I). O húmus tem importante papel na formação de agregados do solo, no controle de acidez, no ciclo dos elementos nutrientes, assim como na descontaminação de compostos indesejáveis.

Jussara Aparecida  
Oliveira Cotta\*,  
Fernanda Helena Salami,  
Almir Rogério Marques,  
Maria Olímpia Oliveira  
Rezende e  
Maria Diva Landgraf

Instituto de Química de São  
Carlos,  
Universidade de São Paulo

\* Autora para correspondência:  
Av. Trabalhador São  
Carlense, 400  
CEP: 13560-970  
São Carlos. SP  
Fone: (16) 3373-9959  
E-mail: japcotta@iqsc.usp.br

As substâncias não húmicas pertencem a grupos bem conhecidos e apresentam características físicas e químicas bem definidas. As substâncias húmicas, por sua vez, são macromoléculas ou estruturas supramoleculares com massa molecular e estrutura variáveis. São produtos de degradação química e microbiológica de resíduos de animais e plantas. As substâncias húmicas são constituídas de uma mistura heterogênea de compostos, em que cada fração (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina) deve ser considerada como sendo formada por uma série de moléculas de tamanhos diferentes, cuja maioria não apresenta a mesma configuração estrutural ou grupos reativos na mesma posição (1). As substâncias húmicas são usualmente fracionadas com base nas suas solubilidades, sendo que os ácidos húmicos constituem a fração de substâncias húmicas solúvel em álcalis e insolúvel em meio ácido. Os ácidos fúlvicos permanecem em solução quando o meio é acidificado e a humina é a fração insolúvel tanto em ácido quanto em álcali diluídos. A percentagem de material húmico extraído varia consideravelmente de um tipo de matriz para outro e, em geral, é maior quando se aumenta o pH do extrator e a temperatura de extração (2). A solubilização dos ácidos húmicos em meio alcalino deve-se à ionização dos grupos ácidos, principalmente carboxílicos e fenólicos.

A turfa é um solo combustível de baixa capacidade calorífica, formada pela decomposição lenta de materiais vegetais e animais encontrados em áreas alagadiças como lagoas, várzeas de rios, planícies costeiras e regiões lacustres (3). A turfa *in natura* contém 90% ou mais de água, quando seca ao ar, esse teor pode baixar para 40%. As turfas são classificadas de acordo com seu grau de decomposição. Segundo a International Peat Society (4), mais de 90% das turfeiras situam-se nos cinturões frios e temperados do hemisfério norte; o remanescente encontra-se em latitudes tropicais e subtropicais. Em geral, a turfa é empregada intensamente na agricultura como complemento de fertilização. O potencial calorífico de turfas e o seu poder de complexação com íons metálicos e com agroquímicos podem ser muito explorados pela comunidade brasileira, visto que o Brasil é rico em bacias hidrográficas e regiões de várzeas, que são propícias para a formação de turfas (5).

A matéria orgânica (MO) do solo é a principal fonte de nitrogênio (N) para as plantas, além de fornecedora de elementos como fósforo e enxofre e de vários micronutrientes. O N, dentre os nutrientes minerais de plantas, é o que mais limita a produtividade agrícola por fazer parte da estrutura de grande número de compostos vitais aos vegetais. As formas orgânicas de N no solo constituem 95% ou mais do total de N presente na camada arável. Dentre os nutrientes existentes na MO, o N destaca-se com maior ênfase no processo de mineralização (1). A grande maioria de N é absorvida na forma inorgânica, na forma de  $\text{NH}_4^+$  e, principalmente,  $\text{NO}_3^-$ . As rea-

ções de decomposição da MO que dão origem à produção do nitrogênio inorgânico utilizado pelos vegetais dependem, em grande parte, de fatores ambientais, tais como temperatura, umidade, pH e outras características do solo (1). O N é um nutriente que requer atenção, pois se apresenta na maioria das vezes em formas solúveis, sofrendo lixiviação com rapidez. Em devidas proporções, o N tem influência decisiva no desenvolvimento das plantas, bem como na melhoria de suas qualidades. Porém, em excesso prejudica a economia orgânica da planta, inclusive influenciando na constituição dos tecidos, tornando-os flácidos e porosos.

A razão C/N indica o grau de incorporação do nitrogênio na estrutura húmica e, por consequência, o nível de fertilidade desse material, pois, por meio de diversos mecanismos de mineralização da MO do solo, o nitrogênio é liberado para as raízes das plantas sob a forma de nitrito (1). A transformação gradual do material oriundo da decomposição de plantas em matéria orgânica estável (húmus) conduz à estabilização da relação entre C e N. O destino das formas minerais de N no solo é, até certo ponto, determinado pelas reações que envolvem  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$  e  $\text{NO}_3^-$ . Quando a MO com valores de relação C/N alta é adicionada ao solo, os microrganismos utilizam o N dessa matéria orgânica e o N existente no solo para produção de sua biomassa, diminuindo, dessa maneira, a relação C/N da MO adicionada. Um dos indicativos da bioestabilização da MO é o início da transformação do N-orgânico em suas formas minerais (1).

O ciclo biogeoquímico do N tem sido altamente modificado pela atividade humana em relação aos outros elementos. A utilização de fertilizantes nitrogenados no cultivo de leguminosas pode transferir mais N da atmosfera para formas biologicamente disponíveis em relação ao que é fixado por todos os processos combinados.

## Nitrogênio Kjeldahl total

O termo “Nitrogênio Kjeldahl Total (NKT)” refere-se à combinação de amônia e nitrogênio orgânico. O método de determinação de NKT foi desenvolvido em 1883 por Johan Kjeldahl, e tornou-se um método de referência para determinação de nitrogênio (6). O método consiste de uma completa digestão das amostras em ácido sulfúrico concentrado com catalisadores tais como sais de cobre e titânio em alta temperatura. Outros aditivos podem ser introduzidos durante a digestão de maneira a aumentar o ponto de ebulição do ácido sulfúrico. A Environmental Protection Agency recomenda o uso do método 351.x para determinação de NKT (7).

## Avaliação da metodologia analítica

Avaliar uma metodologia analítica é uma das etapas básicas

em sistemas de qualidade e integra os programas de Boas Práticas de Laboratório, visando assegurar que o método utilizado seja adequado ao que se propõe identificar ou quantificar, podendo empregar diferentes procedimentos em função do objetivo da análise. É o processo para provar se um método analítico é aceito para a proposta pretendida (8). A validação visa a diminuir ou controlar os fatores que levam à imprecisão ou inexatidão de um dado gerado, tais como variabilidade da amostra, contaminação, reagentes inadequados, variações de temperatura, calibração ineficiente, analista despreparado e perdas durante a análise (9). Existem diversas formas de se conduzir à validação de um método analítico. Alguns dos parâmetros de validação de métodos analíticos são: linearidade de resposta, curva analítica, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão (8,9).

Em determinados trabalhos analíticos é conveniente a comparação de precisão entre duas amostragens de dados obtidos em condições diferentes. O Teste F é um teste que consiste em se determinar as variâncias, colocando-se uma razão de variâncias,  $F_c$ , como na Equação 1 (10-12):

$$F_c = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (1)$$

em que  $s_1$  é a estimativa do desvio-padrão do conjunto 1 de resultados e  $s_2$  é a estimativa do desvio-padrão para o conjunto 2. A comparação de precisão é feita com base em valores tabelados de constantes F, dispostas de tal modo que, para um dado limite de confiança, podem ser estabelecidos como  $F_c$ , de acordo com o número de amostragens, onde temos  $n-1$  graus de liberdade.

O Teste t é usado para comparar um grupo de determinações com outro, a fim de decidir se são ou não diferentes. Para dois grupos de dados consistindo em  $n_1$  e  $n_2$  medidas, com médias  $X_1$  e  $X_2$ , calcula-se o valor de t.

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{s_{agr}} \sqrt{\frac{n_1 \times n_2}{n_1 + n_2}}$$

$$\text{onde } s_{agr} = \sqrt{\frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

O valor calculado de t é comparado com o valor tabelado para  $n_1+n_2-2$  graus de liberdade (11-12). Geralmente, determina-se o nível de probabilidade em 95% de confiança. Portanto, se o valor obtido é menor que esta probabilidade, conclui-se que elas não são diferentes entre si (10-12). Para a obtenção dos resultados, usou-se os programas MINITAB, Origin, Excel.

No Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química de São Carlos são efetuadas análises de rotina para determinar NKT em diferentes matrizes ambientais. Em vir-

tude da demanda, fez-se necessário validar um método no qual as análises fossem feitas com rapidez, segurança, confiabilidade e que fosse de baixo custo, quando comparado com o método NTK tradicional. Utilizando o método 8075 do equipamento Hach, a digestão da amostra é realizada em no máximo, 1 hora, em comparação ao método NTK tradicional que é de 5 horas. Levando-se em conta o custo, o método tradicional requer uma quantidade maior de reagentes, além do risco em seu manuseio durante a abertura da amostra e realização das determinações, uma vez que ele é conduzido sob aquecimento.

## OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi validar a determinação de NKT por espectrofotometria na região do visível, utilizando equipamento Hach, método 8075, modelo DR/2500 e comparar o método ao método tradicional de determinação de NTK.

## METODOLOGIA

O material do estudo foi turfa coletada às margens do rio Mogi-Guaçu, no km 40 da rodovia SP-255, no município de Luís Antônio (SP). Para este trabalho foi determinada a concentração de NTK na amostra de turfa e nos ácidos húmicos extraídos da mesma. Foram utilizadas alíquotas 0,100g e 0,500g da amostra para os dois métodos utilizados. Os ácidos húmicos foram extraídos de acordo com a metodologia recomendada pela Sociedade Internacional para Substâncias Húmicas (13), baseada na sua solubilidade em solução alcalina de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> e precipitação em HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

### Determinação do NKT pelo Método Hach

Abriu-se a amostra em um digestor Digesdahl, modelo 23130-20, marca Hach. Pesou-se a amostra no balão do próprio aparelho, adicionaram-se 5,0mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado "P.A.", ligou-se o aparelho em uma temperatura programada de 400°C e esperou-se uma hora para a digestão da amostra. Em seguida, adicionaram-se 5,0mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e esperou-se até a solução ficar transparente. Transferiu-se a solução para um balão e completou-se o volume a 100mL com água destilada, armazenou-se em um frasco rotulado. Para posterior determinação no espectrofotômetro.

### Determinação do NKT segundo o método 8075 do espectrofotômetro Hach

Embora o termo NKT refira-se a combinação de nitrogênio na forma orgânica e amônia, somente os compostos de nitrogênio orgânico que aparecem como nitrogênio ligado

Com um click: 20°C

Com outro click: 60°C

OFF



Com a Câmara Climática Sercon, é possível obter uma excelência no controle de temperatura e de umidade relativa, com uma programação disponível de 20°C à 60°C e 20% à 90% URA.

Sua construção é totalmente em aço inoxidável, o que proporciona alta sanitabilidade em todo sistema. Painel de fácil manuseio e operação. Baixo consumo de água e energia. Acompanha sistema de ultra-purificação de água por osmose reversa embutida no sistema de suprimento. Garantia de 1 ano. Assistência Técnica Nacional. Conheça mais sobre nossas outras linhas de produtos.

(11) 2149-1733

sercon@sercon.ind.br

www.sercon.ind.br



**SERCON**  
Conceito de Qualidade



## LINHA DE IMPORTADOS GEHAKA. AS MAIS CONCEITUADAS MARCAS, OS MELHORES EQUIPAMENTOS, PARA ATENDER AOS CLIENTES MAIS EXIGENTES.

A Gehaka traz para o Brasil alguns dos melhores equipamentos dos mais conceituados fabricantes internacionais. As marcas **Optimelt**, **Fungilab**, **Reichert**, **Hirschmann** e **IKA** vêm se somar ao amplo portfólio de produtos fabricados pela própria Gehaka, como Balanças Analíticas e Semi-analíticas; Medidores de Condutividade, pH, Ponto de Fusão, Umidade; Ultrapurificadores de Água; Analisadores de TOC, entre outros.

1- CRIAÇÃO E DESIGN

Agitadores Mecânicos  
**IKA**



Refratômetro Portátil  
**AR200 Reichert**



Medidor Automático de  
Ponto de Fusão **Optimelt**



Viscosímetros Rotacionais  
**Fungilab**



Rotaevaporadores  
**IKA**



Refratômetro de Bancada  
**AR700 Reichert**



Dispensadores e Buretas  
**Hirschmann Laborgerate**



Tel.: 11 2165.1100 - Fax: 11 3758.0727 - www.gehaka.com.br - vendas@gehaka.com.br



organicamente no estado trinegativo são analisados. Nitrogênio nesta forma é convertido em sais de amônio pela ação de ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio. A amônia é, então, analisada pelo método 8075 (Método Nessler) do espectrofotômetro, modelo DR/2500, marca Hach. Em uma proveta de 25mL adicionaram-se 5,0mL da amostra, adicionou-se uma gota de indicador TKN, gotas de KOH até a solução ficar azul, completou-se com água destilada até 20mL, adicionaram-se três gotas de estabilizador mineral, homogeneizou-se, adicionaram-se três gotas de álcool polivinílico e homogeneizou-se. Posteriormente, completou-se a 25mL com água destilada, adicionou-se uma gota de reagente de Nessler e homogeneizou-se. Após dois minutos fez-se a leitura no programa selecionado: 399 nitrogen TKN do espectrofotômetro (14), em 460nm. Seguiu-se o mesmo procedimento para o branco. O branco é feito passando pelo mesmo processo de digestão sem a amostra.

Para obter a quantidade de NKT, segundo o método Hach, nas amostras fizeram-se os seguintes cálculos, propostos pelo manual:

$$C \text{ (mg/L)} = \frac{75 \times A}{B \times D} \quad (5)$$

onde,

A: valor obtido no aparelho (mg L<sup>-1</sup>)

B: massa da amostra (g)

D: volume da amostra utilizado para análise (mL)

Os valores na Tabela 1 refletem a quantidade de amostra e o volume determinado com a faixa mais estreita de concentração, segundo o manual do espectrofotômetro Hach.

Concentração de nitrogênio esperada (mg kg <sup>-1</sup> )	Quantidade de amostra (g)	Volume determinado (mL)
42-2200	0,500	10,0
106-5600	0,400	5,00
350-18000	0,300	2,00
1000-56000	0,200	1,00
4200-220000	0,100	0,50

Tabela 1. Quantidade de amostra necessária e volume a ser determinado, segundo a concentração de nitrogênio esperada

Já para a determinação do NKT pelo Método Kjeldahl tradicional utilizou-se o método recomendado pela EPA (7).

A Figura 1 mostra o Sistema Kjeldahl tradicional para determinação de NKT e o espectrofotômetro utilizado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta as características físico-químicas da amostra de turfa, segundo Messias (15).



Figura 1. Sistema Kjeldahl tradicional para determinação de NKT (A) e o espectrofotômetro Hach (B) utilizado

Tabela 2. Caracterização físico-química da amostra estudada

Características	Turfa
pHa	3,52
Carbono orgânico(g/kg)b	34,9
Umidade (%)c	24,25
Teor de Matéria orgânica (%)d	52,08
CTC efetiva (cmolckg <sup>-1</sup> )e	4,47

<sup>a</sup>determinação da atividade hidrogeniônica através de uma suspensão com 25,00mL de solução de cloreto de cálcio 0,01 molL<sup>-1</sup> e 10,00g da amostra; <sup>b</sup>medidor de carbono total, modelo TOC-V<sub>CPH</sub>, acoplado ao módulo de amostras sólidas, modelo SSM-5000A, marca SHIMADZU, com detector de combustão; <sup>c</sup>em estufa a 60-65°C; <sup>d</sup>por calcinação; <sup>e</sup>soma dos cátions metálicos totais trocáveis (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>) mais acidez (H +Al).

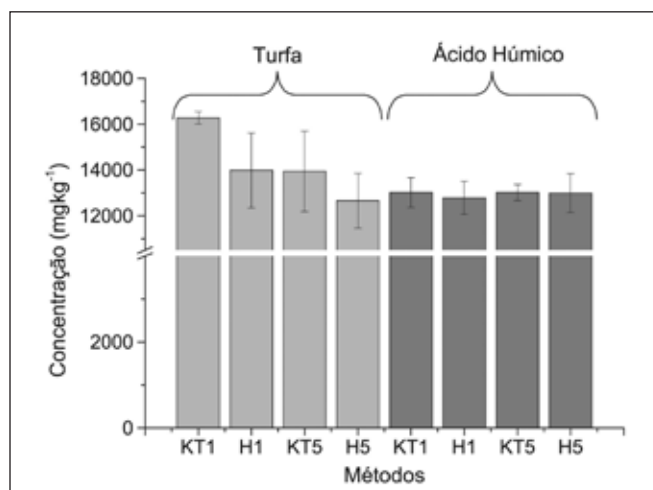


Figura 2. Concentrações de NKT (mg/kg) do ácido húmico nos métodos propostos

A Figura 2 mostra a média e o desvio-padrão das concentrações de NKT pelos métodos propostos, Kjeldahl tradicional com 0,1g (KT1) e 0,5g (KT5) da amostra, Hach com 0,1g (H1) e 0,5g (H5) da amostra, respectivamente. Para cada determinação foram feitas oito replicatas.

Nota-se pelas descritivas (Figura 2), que os métodos KT1 e KT5 forneceram maior concentração média de NKT e menor desvio-padrão que o outro método, tanto para a turfa quanto para o ácido húmico. Isso se deve à pequena quantidade de íon amônio a ser titulado no método, em que o volume de ácido utilizado foi aproximadamente de 0,5 a 0,6mL, utilizando 0,1g da amostra, em todas as medidas. Isso pode ter levado a um erro sistemático, graças a uma maior adição titulante ao utilizarmos uma bureta de 25mL. Deve-se, portanto, usar uma bureta de menor graduação para evitar esse tipo de erro. Este fato pode ser visualizado na Figura 2, onde no método *Kjeldahl tradicional*, utilizando-se 0,100g de turfa, resultou uma concentração maior de nitrogênio se comparada aos outros resultados. Pode-se levar em conta, também, a homogeneidade da amostra. A amostra de ácidos húmicos é mais homogênea que a de turfa.

### Análise estatística

A Tabela 3 apresenta os valores encontrados estatisticamente para as comparações dos métodos utilizando-se ácidos húmicos extraídos da turfa.

A comparação das médias (teste-t) e a relação de variâncias (teste-F) entre os dois métodos utilizando-se a turfa e os ácidos húmicos extraídos da turfa são mostradas na Tabela 4.

O valor crítico tabelado de F ( $P=0,05$ ) para 7 graus de liberdade é, nesse caso, 3,787. Como os valores calculados de F não excedem o valor crítico em todas as comparações

apresentadas na tabela 4, não há diferença significativa entre as duas variâncias dos métodos. Já para o teste-t, o valor crítico tabelado de t ( $P=0,05$ ) para 14 graus de liberdade é 2,14.

Comparando-se os dois métodos utilizando-se 0,1g de turfa e ácido húmico da turfa (Tabela 3), nota-se que o método *Kjeldahl tradicional* foi o que apresentou a maior concentração média de NTK (mg/kg) e desvio-padrão menor que o método espectrofotométrico (*Hach*). As médias para as duas amostras são praticamente iguais, mas suas variabilidades se diferenciam muito. A variabilidade do método *Hach* é praticamente duas vezes maior quando comparada com o método *Kjeldahl tradicional*. Seguindo-se o teste para verificar se os dois métodos produzem resultados similares (tabela 4), utilizando-se 0,1g de ácidos húmicos, nota-se pelos testes estatísticos realizados, que os métodos KT e H produzem o mesmo resultado. Obteve-se esse resultado a partir do intervalo de confiança de 95% para a diferença das médias, o qual obteve valor de t calculado (1,399) menor que t-crítico, de 2,14 ( $P=0,05$ ), aceitando, assim, a hipótese nula, ou seja, a igualdade entre as médias. Já para a turfa, ao realizar o teste para verificar se os dois métodos produzem resultados iguais, utilizando-se 0,1 da amostra, observa-se que as médias não foram consideradas iguais. Este fato é justificado pelo intervalo de confiança para a diferença das médias, no qual o valor 0 não está contido, e também, através do p-calculado (3,913) associado ao teste t-student, o qual possui um valor superior a 2,14, que nos leva a rejeitar a igualdade de médias.

**Tabela 3.** Resultados estatísticos

Amostra	Massa da amostra (g)	Método	Média*	Desvio Padrão*	Variância	IC*(95%)
Turfa	0,1	KT1	16272	266	70704	16051; 16494
		H1	13981	1635	2673312	12616; 15345
	0,5	KT5	13939	1757	3086953	12473; 15405
		H5	12654	1196	1429282	11657; 13652
Ácido	0,1	KT1	13177	334	111605	12898 ; 13455
		H1	12781	726	527036	12176 ; 13387
Húmico	0,5	KT5	13019	351	123477	12726 ; 13312
		H5	12988	850	722250	12279 ; 13697

\* em  $\text{mgkg}^{-1}$  (n=8)

Comparação	Teste F7,7		Teste t	
	Turfa	Ácidos Húmicos	Turfa	Ácidos Húmicos
KT1 com H1	0,026	0,212	3,913	1,399
KT5 com H5	2,160	0,171	1,709	0,096
KT1 com KT5	0,023	0,904	3,714	0,920
H1 com H5	1,870	0,730	1,852	0,522

**Tabela 4.** Valores calculados de F e t

Para os dois métodos utilizando-se 0,5g de turfa e ácidos húmicos da turfa (Tabela 3), a variabilidade do método Hach é maior quando comparada com o método *Kjeldahl tradicional*. Pelas descritivas, observa-se que o método *Kjeldahl tradicional* apresentou uma concentração média de NKT maior que a concentração da média de NKT pelo método de *Hach*. Seguindo-se o teste para verificar se os dois métodos produzem resultados iguais (Tabela 4), nota-pelos testes estatísticos realizados, que o resultado para os métodos *Kjeldahl tradicional* e *Hach* produzem o mesmo resultado, as médias foram consideradas iguais. Obteve-se esse resultado a partir do intervalo de confiança 95% para a diferença das médias, o qual obteve valor de  $t$  calculado (1,709 utilizando-se a turfa e 0,096 utilizando-se o ácido húmico) menor que  $t$ -crítico, de 2,14 ( $P=0,05$ ), aceitando assim a hipótese nula, ou seja, a igualdade entre as médias. Pode-se dizer que o valor 0 está contido no intervalo de confiança para a diferença de médias, o que nos leva a não rejeitar a igualdade de médias.

Comparando o método *Kjeldahl tradicional* utilizando 0,100g e 0,500g de turfa, nota-se que o método utilizando-se menor massa foi o que apresentou a maior concentração média de NKT e o menor desvio-padrão. Seguindo-se o teste para verificar se o método *KT* produz resultados iguais independente da massa utilizada, nota-se que as médias não foram consideradas iguais. Tal fato é justificado pelo intervalo de confiança para a diferença das médias, no qual o valor 0 não está contido e, também, através do  $t$ -calculado (3,714) associado ao teste  $t$ -student, possuindo um valor superior a 2,14 que nos leva a rejeitar a igualdade de médias. E comparando o método *Hach* utilizando 0,100g e 0,500g de turfa, observa-se que o método *Hach* 0,100g apresentou uma concentração média de NKT superior à concentração da média de NKT pelo método de *Hach* 0,500g. Seguindo-se o teste para verificar se o método *Hach* produz resultados iguais independente da massa utilizada, observa-se que as médias foram consideradas iguais, pois o valor 0 está contido no intervalo de confiança para a diferença de médias e, também, pelo  $t$ -calculado (1,852) associado ao teste  $t$ -student, o qual possui um valor inferior a 2,14 que nos leva a aceitar a igualdade de médias. Baseado nos resultados descritos pode-se afirmar que, independente da massa utilizada, o método *Hach* produz a mesma concentração média de NKT.

Comparando-se o mesmo método *Hach* ou *Kjeldahl tradicional*, utilizando-se 0,100g e 0,500g de ácido húmico da turfa pela tabela 3, observa-se que as médias são praticamente iguais. Pode-se afirmar que as massas utilizadas de 0,1g e 0,5g produzem o mesmo resultado. Seguindo-se o teste para verificar se o método produz resultados iguais independentes das massas utilizadas (Tabela 4), observa-se que as médias foram consideradas iguais. Este resultado foi concluído a partir do intervalo de confiança de 95% para a diferença das médias, e

pelo  $t$ -tabelado, com o qual se obteve o valor de 0,92 para o método *Kjeldahl tradicional* e 0,522 para o método *Hach*, que são menores que 2,14 ( $P=0,05$ ), aceitando, assim, a hipótese nula, ou seja, a igualdade entre as médias. O valor 0 está contido no intervalo de confiança para a diferença de médias e, também, pelo  $t$ -tabelado associado ao teste  $t$ -student. Baseado nos resultados, chega-se a conclusão que a concentração média de NTK (mg/kg) é igual, independente das massas utilizadas. As Figuras 3 a 6 mostram os gráficos de regressão para comparar os dois métodos analíticos utilizando-se turfa e ácidos Húmicos extraídos da turfa, respectivamente.

(Observam-se pontos fora da curva (Outliers) nos gráficos 3, 4 e 5. Retirando os "Outliers", os valores dos coeficientes de correlação ( $R$ ) para as retas aumentaram para 0,83409 para 0,1g de turfa e 0,90273 para 0,5g de turfa, respectivamente. Pelos gráficos de regressão pode observar para comparar os dois métodos analíticos utilizando-se turfa e ácidos Húmicos extraídos da turfa

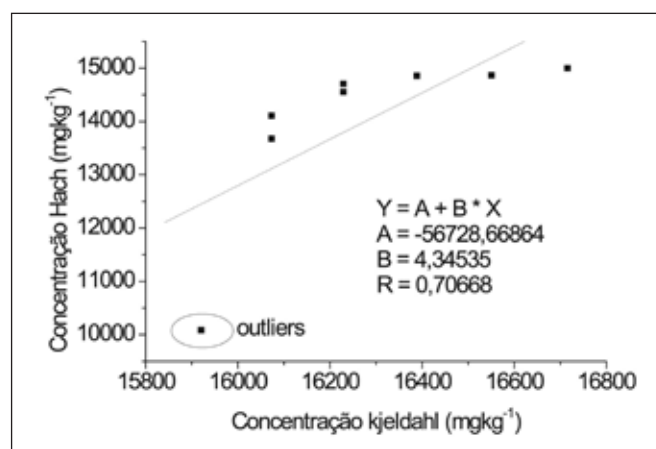


Figura 3. Gráfico de regressão na comparação dos dois métodos de determinação de NKT (mgkg<sup>-1</sup>), utilizando 0,1g de turfa

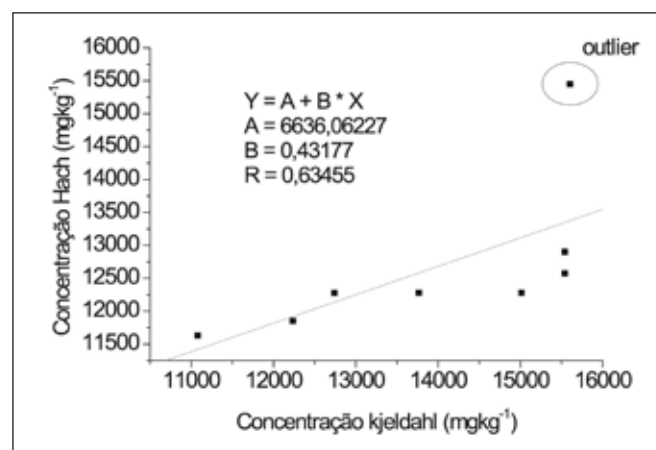


Figura 4. Gráfico de regressão na comparação dos dois métodos de determinação de NKT (mgkg<sup>-1</sup>), utilizando 0,5g de turfa

## CONCLUSÕES

Portanto, em todas as comparações utilizando-se o ácido húmico, o valor experimental é menor que o valor crítico, a diferença entre os dois resultados não é significativa no nível de cinco e a hipótese nula é mantida, não há evidências de erro sistemático, nas quatro situações analisadas notou-se que as médias foram estatisticamente iguais. Os métodos Hach e Kjeldahl tradicional apresentaram a mesma concentração média de NTK, portanto pode-se usar qualquer uma das duas metodologias que o resultado será o mesmo. Através dos resultados, podemos observar que a determinação de NTK pelo método *Kjeldahl tradicional* e *Hach* utilizando-se turfa são precisos. Porém, tomando como base a exatidão, o método de *Kjeldahl tradicional* utilizando 0,1g de turfa apresentou erro sistemático na titulação, fazendo com que não houvesse igualdade entre as médias amostrais dos dois métodos utilizados. A hipótese nula neste caso foi rejeitada, pois a diferença entre as médias é significativamente diferente de zero. Já para as outras comparações, pode-se observar que a determinação de NTK pelo método *Kjeldahl tradicional* e *Hach* são exatos. A hipótese nula neste caso foi mantida, pois não há evidência de erro sistemático e as diferenças entre as médias não são ditas significantes no nível de 0,05 (5%). Utilizando o equipamento Hach método 8075, modelo DR/2500, podemos constatar que as análises foram realizadas com mais rapidez, segurança, menor custo de reagentes e com a mesma confiabilidade nos resultados quando comparado com o método NTK tradicional.

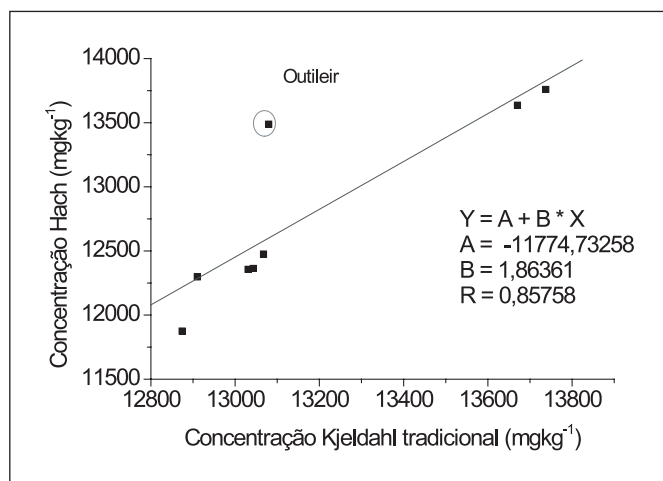


Figura 5. Gráfico de regressão na comparação dos dois métodos de determinação de NTK (mgkg<sup>-1</sup>), utilizando 0,1g de ácidos húmicos

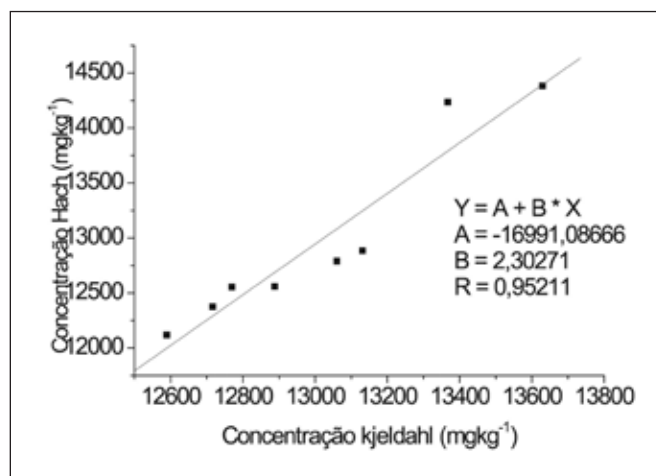


Figura 6. Gráfico de regressão na comparação dos dois métodos de determinação de NTK (mgkg<sup>-1</sup>), utilizando 0,5g de ácidos húmicos

## Referências

1. LANGRAF, MD; MESSIAS, RA.; REZENDE, MOO. **A importância ambiental da vermicompostagem: vantagens e aplicações.** São Carlos, Rima, 2005.
2. STEVENSON, FJ. **Humus chemistry: genesis, composition, reactions.** 2<sup>nd</sup> ed. New York: J. Wiley, 1994. 443p
3. SILVA, WTL; VIEIRA, EM; CRUZES, VH; REZENDE MOO. *Química Nova*, 18(6), 541-543, 1995.
4. International Peat Society-IPS. 1997. **On peat and peatlands: a short introduction.** [on line]. Disponível através de [www.peatsociety.fi](http://www.peatsociety.fi) [1997/12/19. Arquivo acessado em 05/02/2000.
5. PRADO, AGS; REZENDE, MOO. *Anais Assoc. Brás. Quím.*, 48(4), 186-191, 1999.
6. Labconco, 2005. **To Kjeldahl Nitrogen determination methods and apparatus.** ExpotechUSA, Houston, texas, USA. Disponível através de <http://www.expotechusa.com/catalogs/labconco/pdf/KJELDAHLguide.pdf>, Arquivo capturado em 06/06/2006.
7. Environmental Protection Agency - EPA. Disponível em: <http://www.epa.gov.br>. Acesso em: 01 setembro 2005.
8. GREEN, JM. **A Practical guide to analytical method validation.** Analytical Chemistry, v. 68, p. 305A-309A, 1996.
9. NASCIMENTO, ES; CHASIN, AAM; RIBEIRO NETO, LM; SIQUEIRA, MEP; SALVADORI, MC; ANDRAUS, MH; FERNICOLA, NA; GORNI, R; SALCEDO, S. *Validação de Métodos em Análises Toxicológicas: Uma abordagem geral, Revista Brasileira de Toxicologia* 11(1), 1-6, 1998.
10. POLITO, WL. **Validação em Química Analítica** – Texto para acompanhamento das aulas do Curso de Extensão “Validação em Química Analítica” – USP, 2002. 71p.
11. Baccan, N; de ANDRADE, JC; GODINHO, OES; BARONE, JS. *Química Analítica Quantitativa Elementar*, 3<sup>a</sup> edição revista, ampliada e reestruturada, Ed. Edgard Blücher, Campinas, 2001.
12. HARRIS, DC. **Análise Química Quantitativa**, 5<sup>a</sup> edição, Ed. LTC – Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, 2001.
13. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), 1999. **Método para a extração de substâncias húmicas do solo.** (Comunicado Técnico) N<sup>o</sup>1, dezembro, p.1-4.
14. HACH, 2001. *The Handbook Odyssey DR/2500 Spectrophotometer.* 2.ed. Loveland, HACH, l.v.15. MESSIAS, RA, 2004. *Avaliação estrutural de ácido húmico de vermicomposto e turfa por diferentes técnicas de caracterização.* Tese de doutorado, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, São Paulo.