

## DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE NITROGÊNIO EM CARNES E DERIVADOS ATRAVÉS DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

Julio Cesar ROCHA\*  
Celso Augusto Fessel GRANER\*\*  
Romeu MAGNANI\*\*\*

**RESUMO:** Este artigo descreve um procedimento colorimétrico para determinar nitrogênio total (ou proteína bruta) em carnes e derivados. A alcalinidade do meio é suficiente tanto para evitar um pré-ajuste do pH dos digeridos sulfúricos como para permitir a ocorrência de reação entre o amônio, hipoclorito e salicilato. Utilizando-se a técnica de análise por injeção em fluxo, FIA, pode-se fazer cerca de 70 determinações por hora no intervalo de concentração 75-275  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  de nitrogênio. Resultados obtidos através da técnica FIA foram comparados estatisticamente aos obtidos por colorimetria convencional e titulometria e não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5% de significância.

**UNTERMOS:** Carne/proteína; determinação/nitrogênio; análise por injeção em fluxo (FIA); salicilato/hipoclorito.

## INTRODUÇÃO

A crescente demanda de análises químicas em diferentes matrizes, tais como tecidos e/ou fluidos vegetal e animal, solos, efluentes doméstico e industrial, exige o desenvolvimento ou aperfeiçoamento de técnicas, visando aumentar a velocidade analítica sem comprometer parâmetros relevantes como o custo, a precisão e a exatidão da análise.

\* Departamento de Química Analítica - Instituto de Química - UNESP - 14800 - Araraquara - SP.

\*\* Departamento de Química - Instituto de Biociências - UNESP - 18600 - Bauracatu - SP.

\*\*\* Departamento de Físico-Química - Instituto de Química - UNESP - 14800 - Araraquara - SP.

Sob este aspecto, a técnica de análise por injeção em fluxo, FIA\*, proposta por RUZICKA & HANSEN<sup>1</sup> em 1975 e, independentemente, por STEWART *et alii*<sup>2</sup> em 1976, desenvolvida e disseminada no Brasil pelos pesquisadores da Seção de Radioquímica e Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura CENA-ESALQ-USP/Piracicaba, mostrou-se rápida, reprodutível, versátil e de baixo custo operacional. Detalhes do potencial analítico dos sistemas FIA podem ser obtidos em artigos de revisão BETTERIDGE<sup>3</sup>; RUZICKA & HANSEN<sup>4</sup>; STEWART<sup>5</sup>; RANGER<sup>6</sup>; APPELQVIST *et alii*<sup>7</sup>, em monografia de RUZICKA & HANSEN<sup>8</sup> e no livro de VALCÁRCEL & CASTRO<sup>9</sup>.

De um modo geral, essa técnica baseia-se na inserção de pequenas quantidades da amostra em solução, dentro de uma linha contendo um reagente adequado, também em solução. Após a sua inserção, a amostra é transportada até o detector por um fluxo carregador, que pode ser o próprio reagente, onde o sinal é detectado e então registrado. Como detector pode ser utilizado qualquer instrumento que indique uma variação nas propriedades físico-químicas do sistema, como um colorímetro ou um potenciômetro, entre outros. O sistema FIA<sup>8</sup> consiste, basicamente, de uma bomba peristáltica, operando com intensidade de fluxo na faixa de 0,1 a 10 ml . min<sup>-1</sup> (o emprego de gás comprimido como propulsor de fluidos foi proposto em 1982 por RUZICKA *et alii*<sup>10</sup>), um comutador<sup>11</sup>, bobinas de homogeneização e/ou desenvolvimento de reações químicas, um detector e um registrador. Reagentes e amostra são bombeados através de tubos condutores (teflon, polietileno, propileno) de diâmetro interno que varia de 0,5 a 1,0 mm.

Em determinações colorimétricas<sup>12, 16</sup>, a amostra é convertida em espécies sensíveis ao detector, através de reações adequadas. Para tal, durante o transporte, amostra e reagentes devem se misturar ao máximo no menor espaço de tempo possível produzindo quantidades detectáveis e reprodutíveis do produto.

Há muitos anos, a determinação de nitrogênio nas mais variadas matrizes mostra-se como das mais difundidas e freqüentes, dada a importância desse elemento como macronutriente essencial de animais e plantas, e as consequências inerentes a esse fato.

Logo, torna-se extremamente importante a agilização de métodos analíticos para a determinação de nitrogênio, dada a sua necessidade em controle de qualidade da matéria-prima, da produção e do produto final de muitas indústrias, particularmente na de alimentos.

ZAGATTO *et alii*<sup>17</sup> determinaram nitrogênio em tecidos vegetais empregando o reagente de Nessler. Também em tecidos vegetais, REIS *et alii*<sup>18</sup> utilizaram a técnica FIA com sistema de zonas coalescentes\*\* em determinações simultâneas de nitrogênio e fósforo. BASSON<sup>19</sup> aplicou a FIA para determinar simultaneamente nitrogênio, fósforo e cálcio em tecidos animais.

\* do inglês *Flow Injection Analysis*.

\*\* do inglês *merging zones*.

PASQUINI & DE OLIVEIRA<sup>20</sup> propuseram o sistema MCFA\*, adequado para reações que requerem um longo tempo de residência, o qual foi testado com determinações colorimétricas de crômio(VI), amônio e fósforo.

Este artigo descreve a utilização da técnica FIA para determinação colorimétrica de nitrogênio (através da reação entre amônio, salicilato, hipoclorito e nitroprussiato em meio alcalino) em amostras de carne e derivados, sem prévia neutralização dos digeridos sulfúricos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O tratamento da amostra de charque, as determinações de nitrogênio através de titulometria e colorimetria convencional, foram feitos segundo ROCHA *et alii*<sup>21, 23</sup>.

Como *unidade propulsora*, utilizou-se bomba peristáltica marca Micronal, modelo B332, provida de tubos de Tygon marca Technicon.

A *unidade de mistura, comutação e reação* era constituída de:

- coluna de vidro de 5,0 cm de comprimento, 3,0 mm de diâmetro interno empacotada com esfera de vidro de 9 mesh;
- comutador e conectores de acrílico em forma de T;
- bobina de reação preparada enrolando-se tubos de polietileno de 0,8 mm de diâmetro interno em cilindros de vidro de diâmetro externo de 1 cm;
- tubulação de polietileno igual à utilizada para a bobina;
- banho-maria marca Ética - Equipamentos Científicos S.A., modelo 3162.

Como *unidade de detecção* utilizou-se o espectrofotômetro digital, marca Micronal, modelo B342 II, equipado com suporte e cela de fluxo marca Micronal, modelo 342 (caminho óptico 17mm, volume interno de 220 µl), conectado a um registrador marca ECB - Equipamentos Científicos do Brasil, modelo RB 101.

*Solução padrão "estoque" de amônio* - sulfato de amônio 1,0000 . 10<sup>-1</sup> mol . l<sup>-1</sup>: dissolveu-se 6,6075 g de sulfato de amônio, seco a 110°C e transferiu-se para balão volumétrico de 1 litro.

*Solução NPFIA* - Solução de nitroprussiato de sódio 7,500 . 10<sup>-2</sup> mol . l<sup>-1</sup>: dissolveu-se 1,1173 g de nitroprussiato de sódio e transferiu-se para balão volumétrico de 50 ml. Estocou-se em frasco âmbar mantido no refrigerador.

*Coquetel FIA* - Solução de salicilato de sódio 8,00 . 10<sup>-1</sup> mol . l<sup>-1</sup>/hidróxido de sódio 1,30 mol . l<sup>-1</sup>/nitroprussiato de sódio 3,000 . 10<sup>-3</sup> mol . l<sup>-1</sup>: dissolveu-se 21,00 g de hidróxido de sódio, adicionou-se 27,62 g de ácido salicílico sob agitação constante e resfriou-se; transferiu-se para balão volumétrico de 250 ml, adicionou-se 10 ml da solução "NPFIA", homogeneizou-se e completou-se o volume. Esta solução, quando

\* do inglês *Monosegmented Continuous Flow Analysis*.

estocada em frasco de polietileno envolto em papel alumínio e mantida no refrigerador, pode ser utilizada até quatro dias após sua preparação.

**Soluções padrão FIA\***: dissolveu-se 0,6 g de sulfato de potássio, transferiu-se para balão volumétrico de 200 ml, adicionou-se 2,00 ml de ácido sulfúrico concentrado, 1,50 ml da solução padrão "estoque" de amônio e completou-se o volume. Repetiu-se o procedimento com 2,50, 3,50, 4,50 e 5,50 ml da solução padrão "estoque" de amônio.

**Fonte de íons hipoclorito**: utilizou-se solução de hipoclorito comercializada como água sanitária e padronizada segundo VOGEL<sup>24</sup>. Esta apresentou 3,80 · 10<sup>-1</sup> mol · l<sup>-1</sup> em hipoclorito e foi diluída 10 vezes.

### Determinação de nitrogênio

A curva padrão foi obtida com o sistema FIA descrito na Fig. 1, no qual a solução "coquetel FIA" conflui a 90 graus com a solução 3,80 · 10<sup>-2</sup> mol · l<sup>-1</sup> em hipoclorito. Após pré-homogeneização na coluna de vidro, a mistura passa pelo comutador, pela bobina de reação (imersa em banho térmico a 35°C), pelo espectrofotômetro e, finalmente, é descartada. A solução padrão FIA ou a amostra (digerido sulfúrico diluído) passa pelo *loop*\*\* de 20,0 cm, o qual proporciona um volume injetado de cerca de 100 µl, e, em seguida, também é descartada.

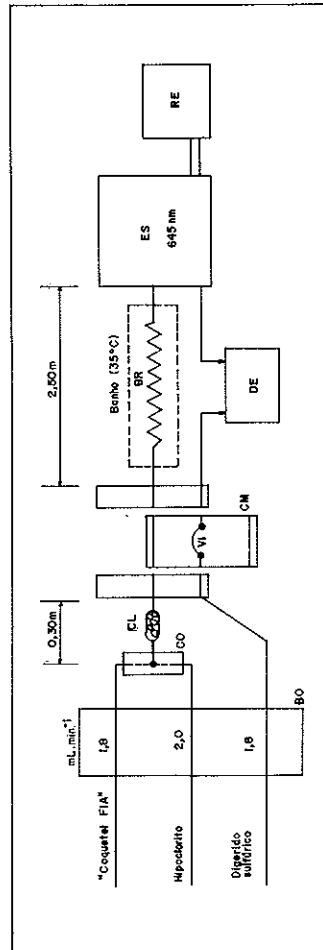


FIG. 1 - Sistema FIA utilizado para determinação colorimétrica de nitrogênio (com salicilato) em digeridos sulfúricos, sem ajuste prévio do pH, mostrando o comutador na posição de amostragem. BO: bomba peristáltica; CO: conector de acrílico; CL: coluna de vidro (5,0 cm); CM: comutador; Vi: volume injetado (100 µl); BR: bobina de reação (2,50 m); ES: espectrofotômetro; RE: registrador; DE: descarte.

Quando a amostra é inserida no fluxo carregador (solução "coquetel FIA"/hipoclorito), durante o percurso ocorre reação com desenvolvimento de coloração, a qual é

\* digeridos sulfúricos simulados.

\*\* loop: alça feita com tubo de polietileno.

detectada e um sinal transiente é registrado sob a forma de pico (FIAgrama<sup>8</sup>). A altura do pico após ser transformada em absorbância é proporcional à concentração da espécie química formada. Nestas condições experimentais, a velocidade analítica é cerca de 70 determinações por hora.

No ajuste dos parâmetros FIA procurou-se obter a melhor velocidade analítica e evitar pré-diluição excessiva nos digeridos sulfúricos.

A basicidade da solução "coquetel FIA" é suficiente para neutralizar as amostras e manter a alcalinidade adequada à reação entre o amônio, salicilato e hipoclorito. Não é necessário o ajuste de pH antes das determinações.

### DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os dados da Tabela 1, referentes às determinações colorimétricas, foram utilizados na obtenção das equações de regressão correspondentes. Com o método convencional<sup>23</sup> encontrou-se a relação  $A = 0,0337 + 2,20 \cdot 10^{-2} \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{N}$ , com  $r^2 = 0,9984$ . Utilizando-se a técnica FIA encontrou-se  $A = 0,107 + 2,30 \cdot 10^{-3} \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{N}$  com  $r^2 = 0,9985$ .

TABELA 1 - Valores de absorbâncias obtidos utilizando-se soluções padrão para determinações colorimétricas de nitrogênio

| Conc. N<br>( $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) | Método convencional |  | Técnica FIA |             |
|--|---------------------|--|-------------|-------------|
|  | $\bar{A}^*$         | Conc. N<br>( $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) | $\bar{A}^*$ | $\bar{A}^*$ |
| 12,0   | 0,282               | 75   | 0,272       |             |
| 24,0   | 0,581               | 125  | 0,400       |             |
| 36,0   | 0,822               | 175  | 0,520       |             |
| 48,0   | 1,108               | 225  | 0,624       |             |
| 60,0   | 1,340               | 275  | 0,736       |             |

\* Médias de três repetições.

A Tabela 2 mostra os resultados de determinações de nitrogênio total em amostras de charque (com seus digeridos provenientes de digestão sulfúrica catalisada por cobre, selênio e mercúrio<sup>25</sup>) feitas através dos métodos titulométrico<sup>22</sup>, colorimétrico convencional<sup>23</sup> e colorimétrico utilizando-se a técnica FIA. Submetidos à análise estatística<sup>26</sup>, os resultados desta, listados na Tabela 3, permitem as seguintes considerações/conclusões:

TABELA 2 - Resultados de determinações de nitrogênio total em amostras de charque, variando-se os catalisadores empregados na digestão sulfúrica e os métodos utilizados para as determinações (médias de triplicatas para os procedimentos colorimétricos convencionais e técnica FIA)

| Teores percentuais de nitrogênio |  |  |
|----------------------------------|--|--|
|                                  | Cobre/métodos  | Selênio/métodos  |
| (*) T                            | 3,23<br>3,01<br>3,24<br>3,13<br>3,18<br>3,01<br>3,26<br>3,15<br>3,12<br>2,88<br>3,31<br>3,45 | 3,23<br>3,05<br>3,00<br>3,14<br>3,00<br>3,15<br>3,01<br>2,79<br>3,19<br>3,00<br>3,23         |
| CC                               | 2,69<br>3,07<br>3,23   | 3,36<br>3,22<br>3,22   |
| C FIA                            | 3,08<br>2,90<br>2,77<br>2,96<br>2,86<br>2,95<br>3,30<br>3,39<br>3,26<br>3,11                 | 3,16<br>3,08<br>2,86<br>3,15<br>3,01<br>2,87<br>3,11<br>3,27<br>3,29<br>3,17                 |
| (*) T                            | 3,11<br>3,14<br>3,08<br>3,06<br>2,90<br>2,80<br>2,95<br>3,14<br>3,30<br>3,18<br>3,12<br>2,95 | 3,19<br>3,15<br>2,89<br>3,27<br>3,11<br>2,96<br>2,95<br>3,04<br>3,06<br>3,22<br>3,18<br>3,16 |
| CC                               | 2,87<br>3,07   | 2,87<br>3,22   |
| C FIA                            | 3,02<br>3,45<br>3,31<br>3,26<br>3,11<br>3,11<br>3,08<br>3,16<br>3,00<br>3,14<br>3,23         | 3,17<br>3,29<br>3,00<br>2,87<br>3,14<br>3,25<br>3,21<br>3,23<br>3,22<br>3,22<br>3,18<br>3,16 |
| (*) T                            | 3,11<br>3,22<br>3,05<br>2,99<br>3,16<br>3,08<br>2,86<br>3,39<br>3,26<br>3,11                 | 3,11<br>3,27<br>3,11<br>2,96<br>2,96<br>3,11<br>3,27<br>3,29<br>3,17                         |
| CC                               | 3,23<br>3,05   | 3,36<br>3,22   |
| C FIA                            | 3,45<br>3,31<br>3,26<br>3,11<br>3,11<br>3,08<br>3,16<br>3,00<br>3,14<br>3,23                 | 3,17<br>3,29<br>3,00<br>2,87<br>3,14<br>3,25<br>3,21<br>3,23<br>3,22<br>3,22<br>3,18<br>3,16 |
| (*) T                            | 3,11<br>3,22<br>3,05<br>2,99<br>3,16<br>3,08<br>2,86<br>3,39<br>3,26<br>3,11                 | 3,11<br>3,27<br>3,11<br>2,96<br>2,96<br>3,11<br>3,27<br>3,29<br>3,17                         |
| CC                               | 3,23<br>3,05   | 3,36<br>3,22   |
| C FIA                            | 3,45<br>3,31<br>3,26<br>3,11<br>3,11<br>3,08<br>3,16<br>3,00<br>3,14<br>3,23                 | 3,17<br>3,29<br>3,00<br>2,87<br>3,14<br>3,25<br>3,21<br>3,23<br>3,22<br>3,22<br>3,18<br>3,16 |

(\*) T: método titulométrico; CC: método colorimétrico convencional; C FIA: método colorimétrico utilizando-se a técnica FIA.

- podê-se utilizar qualquer uma das três espécies catalisadoras (cobre, selênio ou mercúrio) sugeridas por ROCHA *et alii*<sup>25</sup> que os resultados não apresentam diferença significativa ao nível de 5% ( $F_{\text{calc}} = 1,08$  e  $F_{\text{tab}} = 3,10$ );
- comparando-se entre si os resultados médios obtidos pelos três métodos empregados, os respectivos valores de F ( $F_{\text{calc}} = 2,39$  e  $F_{\text{tab}} = 3,10$ ) não indicam diferenças ao nível de 5% de significância, ou seja, qualquer um dos três métodos pode ser utilizado;
- uma outra comparação, a qual leva em conta além das três diferentes metodologias empregadas também as três diferentes espécies catalisadoras utilizadas no processo de digestão, mostra através dos valores de F ( $F_{\text{calc}} = 1,56$  e  $F_{\text{tab}} = 2,48$ ) que as diferenças existentes entre os valores médios obtidos não são significativas ao nível de 5% de significância.

TABELA 3 - Resultados das análises da variância dos dados da Tabela 2.

| Causas de variação | Graus de liberdade | Soma dos Quadrados    |                       | Desvio padrão         | F Calc. | F Tab. ( $\alpha=0,05$ ) |
|--------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------|--------------------------|
|                    |                    | quadrados médios      | médios                |                       |         |                          |
| Catalisador        | 2                  | $5,065 \cdot 10^{-2}$ | $2,533 \cdot 10^{-2}$ | 1,08                  | 3,10    |                          |
| Método             | 2                  | $1,143 \cdot 10^{-1}$ | $5,715 \cdot 10^{-2}$ | 2,39                  | 3,10    |                          |
| Catal. x Método    | 4                  | $1,460 \cdot 10^{-1}$ | $3,650 \cdot 10^{-2}$ | 1,56                  | 2,48    |                          |
| Resíduo            | 81                 | 1,938                 | $2,393 \cdot 10^{-2}$ | $1,547 \cdot 10^{-1}$ |         |                          |
| Total              | 89                 | 2,249                 |                       |                       |         |                          |

Considerando-se que:

- os resultados apresentados na Tabela 2, referentes às determinações colorimétricas por procedimento convencional, são oriundos de trinta digeridos de amostras de charque (cada dez, obtidos com um catalisador) os quais, de cada um deles fez-se determinações em triplicatas, ou seja, um total de noventa determinações por procedimento colorimétrico convencional;
- idem, para as determinações colorimétricas realizadas pela técnica FIA;
- o método titulométrico foi aplicado nas trinta alíquotas (dez de cada catalisador) dos digeridos que restaram após a preparação das soluções para as determinações colorimétricas; foram feitas assim pelo menos 210 determinações de nitrogênio total (180 por colorimetria e 30 por titulometria).

Os resultados de um tratamento estatístico envolvendo um número tão grande de determinações permitem considerar que o método descrito para determinação colorimétrica

de nitrogênio utilizando-se salicilato e a técnica FIA, da mesma forma que o método colorimétrico convencional, é tão eficiente quanto o método titulométrico. Para tal, as concentrações das amostras devem estar situadas no intervalo de 75,0 a 275  $\mu\text{mol}$ . l<sup>-1</sup> de nitrogênio, para o sistema FIA descrito.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. Roberto Santos Barbiéri, do IQ-UNESP, pelas valiosas discussões e sugestões, assim como à FAPESP pelo suporte financeiro (Proc. nº 84/0553-0).

ROCHA, J. C. *et alii* - Colorimetric determination of nitrogen in meat and meat products by flow injection analysis *Ecl. Quím.*, São Paulo, 13: 71-79, 1988.

**ABSTRACT:** A colorimetric method for the determination of total nitrogen (or crude protein) in meat and meat products is described. The alkalinity suffices both to avoid previous pH adjustment of the sulphuric digest and to allow ammonium - hypochlorite-salicylate reaction. By using the Flow Injection Analysis (FIA) technique it is possible to perform ca. 70 determinations by hour for nitrogen concentrations ranging from 75 to 275  $\mu\text{mol}$ . l<sup>-1</sup>. The results gathered through FIA were statistically compared with those obtained by conventional colorimetry and titrimetry. The variance analysis did not show significant differences amongst the aforementioned procedures, in so far as a 5% level is considered.

**KEY-WORDS:** Protein/Meat; determination/nitrogen; Flow Injection Analysis (FIA); salicylate/hypochlorite.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RUZICKA, J. & HANSEN, E. H. - *Anal. Chim. Acta*, 78, 145 (1975).
2. STEWART, K. K.; BEECHER, G. R. & HARB, P. E. - *Anal. Biochem.*, 10, 167 (1976).
3. BETTERIDGE, D. - *Anal. Chem.*, 50, 32(A) (1978).
4. RUZICKA, J. & HANSEN, E. H. - *Anal. Chim. Acta*, 114, 19 (1980).
5. STEWART, K. K. - *Talanta*, 28, 789 (1981).
6. RANGER, C. - *Anal. Chem.*, 53, 20(A) (1981).
7. APPELQVIST, R. *et al.* - *Anal. Chim. Acta*, 180, 1 (1986).
8. RUZICKA, J. & HANSEN, E. H. - *Flow injection analysis*. John Wiley, New York, 1981.
9. VALCÁRCEL, M. & CASTRO, M. D. L. - *Análisis por inyección en flujo*, Imprenta San Pablo, Córdoba, 1984.
10. RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. & RAMSING, A. U. - *Anal. Chim. Acta*, 134, 55 (1982).
11. BERGAMIN F<sup>o</sup>, H.; MEDEIROS, J. X.; REIS, B. F. & ZAGATTO, E. A. G. - *Anal. Chim. Acta*, 101, 9 (1978).
12. DE ANDRADE, J. C.; ROCHA, J. C.; PASQUINI, C. & BACCAN, N. - *Analyst*, 108, 621 (1983).

13. FERNÁNDEZ, A.; GOMEZ-NIETO, M. A.; LUQUE DE CASTRO, M. D. & VALCÁRCEL, M. - *Anal. Chim. Acta*, 165, 217 (1984).
14. DE ANDRADE, J. C.; ROCHA, J. C. & BACCAN, N. - *Analyst*, 109, 645 (1984).
15. ZAGATTO, E. A. G.; GINÉ, M. F.; FERNANDES, E. A. N.; REIS, B. F. & KRUG, F. J. - *Anal. Chim. Acta*, 173, 289 (1985).
16. DE ANDRADE, J. C.; ROCHA, J. C. & BACCAN, N. - *Analyst*, 110, 197 (1985).
17. ZAGATTO, E. A. G.; REIS, B. F.; BERGAMIN F<sup>o</sup>, H. & KRUG, F. J. - *Anal. Chim. Acta*, 109, 45 (1979).
18. REIS, B. F.; ZAGATTO, E. A. G.; JACINTHO, A. O. & KRUG, F. J. - *Anal. Chim. Acta*, 119, 305 (1980).
19. BASSON, W. D. - *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 311, 23 (1982).
20. PASQUINI, C. & DE OLIVEIRA, W. A. - *Anal. Chem.*, 57, 2575 (1985).
21. ROCHA, J. C.; GRANER, C. A. F.; MAGNANI, R.; IONASHIRO, M. & RIBEIRO, C. A. - *Ecl. Quím.*, 11/12, 72 (1986/1987).
22. ROCHA, J. C.; GRANER, C. A. F.; MAGNANI, R.; IONASHIRO, M. & RIBEIRO, C. A. - *Ecl. Quím.*, 11/12, 79 (1986/1987).
23. ROCHA, J. C.; GRANER, C. A. F.; MAGNANI, R.; IONASHIRO, M. & RIBEIRO, C. A. - *Ciência e Cultura* (enviado para publicação).
24. VOGEL, A. I. - *A text-book of quantitative inorganic analysis*. 3<sup>rd</sup> ed., Longmans, London, 1971, pp. 350 e 364.
25. ROCHA, J. C.; GRANER, C. A. F.; MAGNANI, R.; IONASHIRO, M. & RIBEIRO, C. A. - *Química Nova* (aceito para publicação).
26. GOMES, F. P. - *Curso de estatística experimental*, 10<sup>a</sup> ed., Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1982.

Recebido em 13/06/88