

Método Simples e Acessível para Determinar Amônia Liberada pela Cama Aviária¹

Renata Hernandez², Jairo Osvaldo Cazetta³

RESUMO - A amônia é um gás altamente irritante e causador de estresse às aves confinadas, o que leva à perda de peso, podendo até causar a morte. Por esse motivo, existe grande interesse em se determinar a quantidade de amônia liberada por diferentes camas aviárias e de diferentes condições, bem como os fatores que influenciam a produção desta substância. Assim, idealizou-se o presente trabalho com o objetivo de desenvolver e padronizar uma metodologia simples, acessível, exequível para avaliar camas de frangos submetidas a diferentes condições (diferentes tratamentos, tempos de confinamento e temperatura) e capaz de determinar a potencialidade da liberação de amônia pela cama de frangos nos galpões. A metodologia baseou-se na adaptação do método da microdifusão, que consta da incubação da cama em um frasco de vidro com capacidade de 500 mL. Sobre a superfície do material incubado coloca-se um béquer de 50 mL contendo 10 mL de solução de ácido bórico 2% (m/v) para fixar a amônia exalada pela cama aviária. Esse sistema é fechado e incubado por 15 horas a 30°C e, após, a solução fixadora é retirada e titulada com ácido sulfúrico 0,05 N, usando como indicador uma mistura de verde de bromocresol e alaranjado de metila. O método proposto apresenta precisão para ser usado em experimentos e utiliza material barato e reagentes facilmente encontrados nos laboratórios.

Palavras-chave: cama aviária, determinação de amônia, metodologia

Simple And Accessible Method To Determine Liberated Ammonia from the Broiler Litter

ABSTRACT - The ammonia is a highly irritant gas which cause stress to the birds, leading to weight losses, or even their death. For that reason, there is a great interest on determining the amount of ammonia liberated from the litter, as well as the factors which influence the production of this substance, but most methods require expensive equipment or are relative complex. Therefore, the present work was idealized with the aim of develop and standardize a simple and unexpensive methodology, usefull even at field conditions and capable to determine the amount of ammonia liberated by the litter with good accuracy. The proposed method was based on the microdifusion method and consisted on incubating samples of broiler litter (70 g) into glass container (500 cm³), with another flask (50 cm³) containing 10 cm³ of boric acid solution (2% m/v) on the surface of the incubatted litter. Then, the system is stored and kept for 15 hours at 30°C and, after that, the boric acid solution is titrated against sulfuric acid solution at 0.05 N, with metil orange and bromocresol green.

Key Words: ammonia determination, broiler litter, methodology

Introdução

Um grave problema encontrado pelos criadores de aves é a grande quantidade de amônia (NH₃) no ar ambiente dos galpões. A amônia é um gás altamente irritante para as aves, originado da desaminação bacteriana ou da redução de substâncias nitrogenadas, que se acumulam na cama de frangos. Devido à sua ação, este gás causa estresse às aves, o que leva à perda de peso, podendo até provocar a morte. Este fato foi verificado em frangos que, expostos à amônia, dióxido de carbono e poeira por seis dias consecutivos, tiveram perda significativa de cílios a partir do epitélio da porção superior da traquéia, o que pode prejudicar, por interferir no transporte de muco e

eliminação de partículas de poeira pelas aves (ANDERSON et al., 1965). Aves submetidas a diferentes teores de amônia (0, 50, 100 e 200 ppm) na atmosfera dos galpões durante um período de 28 dias apresentaram perda de peso, menor conversão alimentar e maior mortalidade com o aumento dos níveis de amônia (REECE et al., 1980). Estes resultados assemelham-se àqueles obtidos por CAVENY e QUARLES (1978), indicando que níveis de amônia de 25 e 50 ppm podem afetar o desempenho de frangos. Por esse motivo, existe grande interesse em se determinar a potencialidade de liberação de amônia pelas camas aviárias, o que, entretanto, exige equipamentos sofisticados (geralmente importados), laboratórios aparelhados e técnicos treinados, os

¹ Trabalho desenvolvido com bolsa de pesquisa financiada pela FAPESP.

² Aluna de Pós graduação da FCAV-UNESP. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castelane, Km 5, Jaboticabal-SP. E.mail: rehernan@bol.com.br

³ Químico, Professor do Departamento de Tecnologia da FCAV - UNESP. E.mail: cazetta@fcav.unesp.br

quais, entretanto, na maioria dos casos, não estão disponíveis e, por conseguinte, a liberação do referido gás não é determinada e monitorada.

Em alguns casos, a amônia total presente na cama das aves tem sido determinada pelo método de Kjeldhal (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS - AOAC, 1970), porém, tais resultados não indicam qual a fração desta substância que passa para o ar ambiente.

Na tentativa de avaliar a amônia liberada por diferentes tipos de amostras, alguns métodos foram propostos, como os descritos por LANCY et al. (1989), REECE et al. (1980) e FENN e KISSEL (1973), porém esses métodos apresentam a desvantagem de requerer aparelhos especiais e específicos, o que os tornam pouco acessível à maioria dos laboratórios de pesquisa. Por outro lado, o método proposto por MOUM et al. (1969) apresenta-se bastante prático e de baixo custo de material necessário para as análises, mas possui o inconveniente de não ser muito preciso e tornar difícil a comparação de diferentes tratamentos na cama aviária em boxes anexos, devido à grande interferência da movimentação do ar nos galpões. O equipamento utilizado por GLORIA et al. (1991), por sua vez, é relativamente simples, porém demanda a preparação de um equipamento especial de vidro, o que acaba por representar complicação e aumento do custo, inviabilizando aplicação em experimentos que envolvem muitas parcelas, especialmente quando se pretende ter replicatas analíticas, pois envolveria a necessidade de muitos desses aparelhos.

Assim, idealizou-se o presente trabalho com o objetivo de estabelecer uma metodologia simples, de baixo custo e capaz de determinar a quantidade de amônia liberada pela cama aviária, com boa precisão e exatidão.

Material e Métodos

Método proposto

A metodologia para determinar a amônia liberada pela cama aviária em proposição no presente trabalho é uma adaptação do método da fixação da amônia gasosa por microdifusão (OHLWEILLER, 1982; BABKO e PILIPENKO, 1976) e sua quantificação por titulação ácido-base (BASSET et al., 1981). Esta metodologia, em princípio, consta da colocação de amostra da cama aviária em uma câmara incubadora que possa ser fechada hermeticamente. Sobre a superfície dessa amostra é colocado outro recipiente

aberto contendo uma substância adequada para fixar a amônia liberada da cama para a atmosfera interna do recipiente incubador. Após a incubação por tempo e condições adequados, a solução fixadora é retirada e, por titulação, determina-se a quantidade de amônia nela presente.

Frascos de vidro com capacidade para 250, 500 e 1000 mL foram testados como câmaras incubadoras, por serem muito comuns e encontrados facilmente no comércio. Como recipiente para a solução fixadora, foram utilizados béqueres com capacidade para 50 mL (Figura 1). Para coletar a amônia exalada pela amostra, optou-se pela utilização de 10 mL de solução de ácido bórico 20 g/100 mL, por ser a comumente usada nas determinações de amônia pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1970).

A determinação da quantidade (mg) de amônia (NH_3) fixada na solução de ácido bórico foi realizada pela titulação com solução de ácido sulfúrico padronizado, detectando-se o ponto final da titulação pela adição de uma mistura de vermelho de metila e verde de bromocresol à solução a ser titulada.

Os resultados foram expressos em miligramas de amônia liberada, calculados pela fórmula:

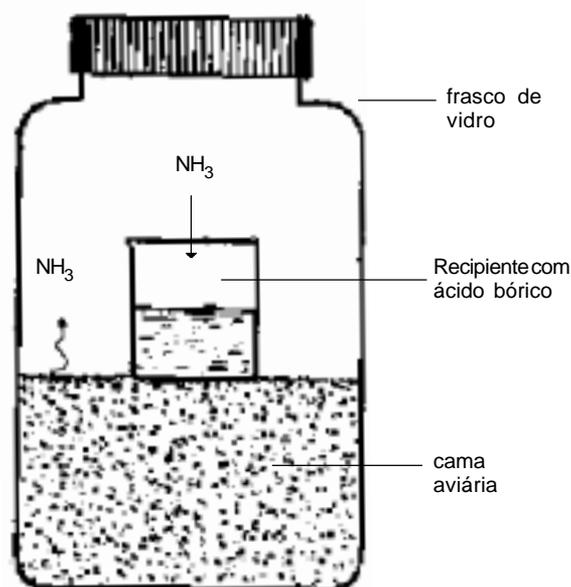


Figura 1 - Esquema do método proposto. Externamente um recipiente fechado (250, 500 ou 1000 mL) com a cama aviária e sobre este um outro recipiente (50 mL) contendo o ácido bórico para fixação da amônia liberada pela cama.

Figure 1 - Scheme of methodology. Outside a closed recipient (250, 500 ou 1000 cm^3) with broiler litter and another flask (50 cm^3) containing boric acid solution to fasten the ammonia liberated from the litter.

$$A = \frac{Vt \times N \times 1,7}{P}$$

em que A é mg NH₃; Vt é o volume da solução de H₂SO₄ gasto na titulação (mL); N é a normalidade do ácido usado; e P é a quantidade incubada (g).

Para determinar a eficiência do sistema em proposição, foram montados os seguintes experimentos:

Teste de funcionamento do método proposto

Para a determinação da exatidão e precisão do método proposto, desenvolveu-se um teste no qual foi colocada, dentro de frascos de tamanho médio (500 mL), de 0 a 9 mL de sulfato de amônio (NH₄)₂SO₄ g/100 mL. Colocou-se também um béquer contendo 10 mL de ácido bórico 2% (m/v) já contendo os indicadores alaranjado de metila e verde de bromocresol. Adicionaram-se 10 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 15N e rapidamente fechou-se o frasco. Após 16 horas de incubação, titulou-se a solução fixadora contra ácido sulfúrico 0,05N. As experiências foram desenvolvidas com quatro repetições.

Avaliação conjunta do comportamento de diferentes tamanhos de frascos usados para a incubação de diferentes quantidades de amostra

Em um experimento fatorial, avaliaram-se três diferentes tamanhos de frascos (pequeno = 250 mL, médio = 500 mL e grande = 1000 mL) e três quantidades de cama aviária (25, 50 e 75 g) com três repetições. Após a incubação por 16 horas, a solução fixadora foi titulada com uma solução de ácido sulfúrico 0,01 mol/100 mL.

Estudo do tempo de incubação

Para avaliar o comportamento da amônia liberada ao longo do tempo de incubação, efetuou-se um teste no qual foram incubados 80 g da cama aviária por diferentes períodos de tempo (2,5; 5; 7,5; 10; 13; 15; 17,5; 20,5; 22,5 e 25 h), três repetições para cada tratamento, com posterior quantificação da amônia através de titulação contra ácido sulfúrico 0,05N.

Os resultados foram expressos como quantidade de amônia liberada no período de incubação e, também, como taxa de liberação (g NH₃ liberada por 100 g por hora).

Estudo da quantidade de cama aviária a ser incubada

Utilizando-se apenas os frascos médios, colocaram-se diferentes quantidades de cama aviária (0,6; 1,25; 2,5; 5; 10; 20; 40; 60; 80; 100 e 120 g), sendo incubadas por 16 horas. O experimento foi desenvolvido com três repetições.

Influência conjunta do teor de umidade e temperatura de incubação sobre o comportamento do método

Foi analisado o comportamento da liberação da amônia em amostras secas em estufa por 24 horas a 50°C, amostras com umidade natural ou amostras naturais adicionadas de mais 25 mL de água por 100 g, com três diferentes temperaturas (T1 = 15°C, T2 = 25°C e T3 = 30°C) e três repetições. Para cada frasco, colocou-se o equivalente a 80 g de cama aviária com umidade natural e incubou-se por 16 horas, com posterior determinação da quantidade de amônia liberada, conforme descrito anteriormente.

Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada de acordo com o delineamento experimental inteiramente casualizado e o esquema fatorial, nos casos de estudo conjunto de mais de uma variável, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, seguindo as indicações de BANZATTO e KRONKA (1992).

Resultados e Discussão

Teste de funcionamento do método proposto

O método proposto funcionou com boa exatidão, como pode ser observado pelos resultados médios de recuperação da amônia apresentados na Figura 2.

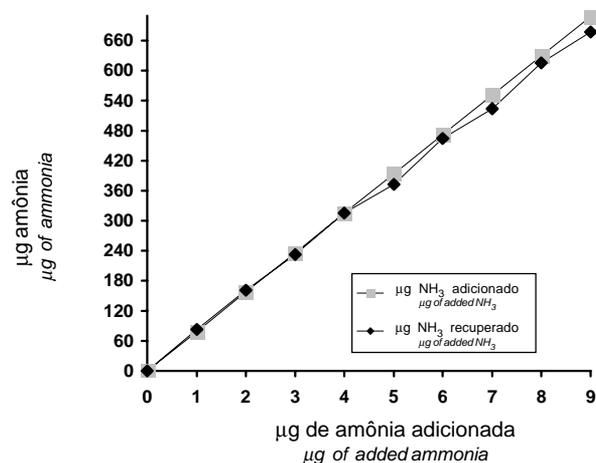


Figura 2 - Quantidade de amônia (mg) recuperada pelo método proposto após 16 horas de incubação, comparado com a quantidade de amônia adicionada.

Figure 2 - Amount of ammonia recovered (mg) by the proposed method after 16 hours of incubation, compared to the amount of added ammonia.

Verificou-se recuperação próxima de 100% da quantidade de amônia adicionada aos frascos. A pequena perda observada em algumas repetições pode ter sido decorrente do tempo que se demorou entre a adição da base e o fechamento dos frascos, pois neste caso a amônia inicia o desprendimento logo após a adição da solução de NaOH. Este tipo de problema seria minimizado no caso de amostras com lenta liberação da amônia.

Avaliação conjunta do comportamento de diferentes tamanhos de frascos usados para a incubação de diferentes quantidades de amostra

Quando foram incubadas diferentes quantidades de cama aviária (25, 50 e 75 g) dentro de um mesmo tamanho de frasco, houve tendência de a menor quantidade do material incubado (25 g) liberar maior quantidade de amônia ($P < 0,01$). No entanto, quando foi colocada a mesma quantidade de material para incubar nos diferentes tamanhos de frascos (pequeno 250 mL, médio 500 mL e grande 1000 mL), observou-se tendência de a quantidade de amônia liberada aumentar com o tamanho do frasco ($P < 0,01$) (Tabela 1), mostrando que a liberação da amônia da cama aviária é influenciada pelo espaço superior (volume) livre dentro do frasco e também pela espessura da camada

do material incubado dentro do frasco, provavelmente porque, quanto menor a espessura da camada da amostra no fundo do frasco, mais fáceis são as trocas gasosas com a atmosfera interna do recipiente incubador.

A análise estatística indicou que para este teste a quantidade de amostra incubada e o recipiente incubador tiveram efeitos independentes, pois a interação tamanho de frasco e quantidade incubada não apresentou diferença significativa ($P < 0,05$).

Estudo do tempo de incubação

A quantidade de amônia liberada pelas amostras aumentou de forma praticamente linear com o aumento do tempo de incubação, como pode ser observado na Figura 3.

Os resultados mostraram que, em relação à quantidade de amônia fixada por hora, existe um comportamento praticamente constante durante os períodos estudados, o que indica que a taxa de liberação da amônia foi praticamente constante ao longo do tempo, até o máximo período estudado (25 horas).

Assim, um tempo de incubação em torno de 15 horas seria conveniente, pois, além de permitir a fixação de quantidades tituláveis de amônia, as amostras puderam ser coletadas, preparadas e incubadas à tarde, ficando incubadas durante a noite para serem

Tabela 1 - Quantidade de amônia liberada pela cama aviária após 16 horas de incubação (mg de amônia por 100 g de material incubado), para três diferentes quantidades de massa incubada e três diferentes tamanhos de frasco incubador

Table 1 - Amount of ammonia liberated by the broiler litter after 16 hours of incubation (mg of ammonia per 100 g of incubated material), for three different amounts of mass incubated and three different sizes of incubator flask

Tamanho do frasco Size of the flask	Quantidade incubada (mg NH ₃ /100 g) Incubated amount (mg NH ₃ /100 g)			Média Mean
	25 g	50 g	75 g	
Pequeno (250 mL) Little	5,24 ^a	2,14 ^a	0,97 ^a	2,7 ^C
Médio (500 mL) Medium	6,92 ^a	2,95 ^a	2,03 ^a	3,97 ^B
Grande (1000 mL) Large	8,11 ^a	3,99 ^a	2,59 ^a	4,90 ^A
Média	6,76 ^a	3,03 ^b	1,87 ^c	-
Mean				
CV %	10,34			

Médias seguidas de letras diferentes (maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas) diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Means followed by different letters (capital letter in the columns and small letter in the rows) differ by Tukey test ($P < 0,05$).

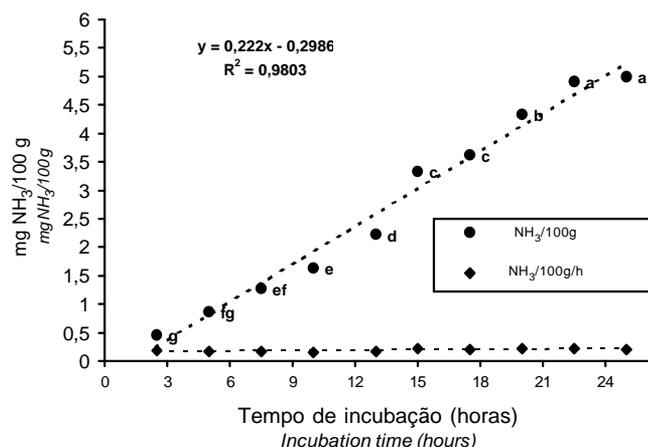


Figura 3 - Representação gráfica da quantidade de amônia (mg) liberada por 100 gramas de cama aviária após diferentes tempos de incubação (●), bem como a taxa (mg/hora) de liberação da amônia (◆) calculada para os mesmos tempos de incubação (letras diferentes diferem pelo teste de Tukey [$P < 0,05$]).

Figure 3 - Graphic representation of the amount of ammonia (mg) liberated by 100 grams of broiler litter after different incubation times (●), and the ammonia liberation rate (mg/hour) (◆) calculated for the same incubation times (different letters differ by Tukey test [$P < 0,05$]).

tituladas na manhã seguinte e, no período da tarde, pode-se repetir o ciclo analítico com outras amostras.

Embora os testes tenham indicado que a taxa de liberação da amônia é constante ao longo do período de incubação, não é recomendada a incubação por períodos curtos, porque, devido à pequena quantidade de NH_3 fixada, pode levar a erros significativos na titulação. Para minimizar o erro nas medidas de volume, durante as titulações, deve-se gastar um volume correspondente a pelo menos 1/3 da capacidade da bureta que estiver em uso.

Estudo da quantidade de cama a ser incubada

Quando foram incubadas diferentes quantidades de cama aviária, a quantidade de amônia liberada tendeu a aumentar, quando se utilizaram até 60 g, mantendo-se praticamente inalterada na faixa entre 60 e 100 g, com tendência de diminuição para as quantidades maiores que 100 g (Figura 4).

Com base nos resultados mostrados na Figura 4, a incubação de quantidades entre 60 e 100 g de cama aviária apresentou liberação relativamente constante. Além disso, o uso dessas quantidades de amostra permitiu a formação, no fundo do frasco médio, de uma camada com espessura semelhante à da cama nos galpões comerciais de criação (6 a 10 cm de altura). Outro aspecto importante que recomenda a utilização de tais quantidades é que, ao se utilizarem de 60 a 100 g de cama, a quantidade de amônia liberada é facilmente quantificada pelo processo de titulação, induzindo a menores erros.

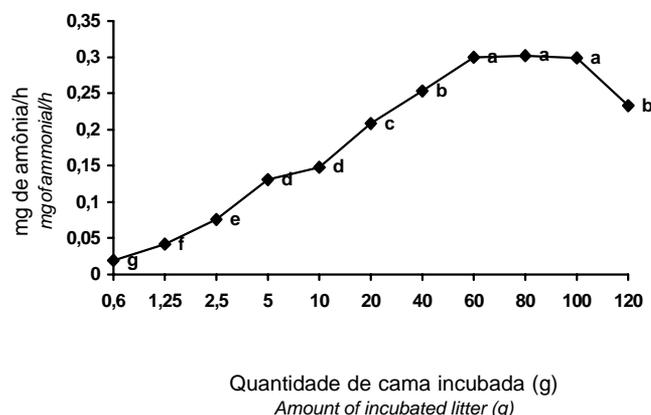


Figura 4 - Quantidade (mg) de amônia liberada por diferentes quantidades de cama aviária quando incubadas em frascos de tamanho médio por 16 horas (letras diferentes diferem pelo teste de Tukey [$P < 0,05$]).

Figure 4 - Amount of ammonia (mg) liberated by different amounts of broiler litter when incubated in flasks of medium size by 16 hours (different letters differ by Tukey test [$P < 0,05$]).

Deve ser ressaltado ainda que a incubação de massas abaixo de 60 g tenderá a superestimar a taxa de emissão de amônia ($\text{mg NH}_3/100\text{g/h}$) e acima de 100 g, à subestimação. Além disso, fugiria às características de espessuras utilizadas nos galpões.

Influência conjunta do teor de umidade e temperatura de incubação sobre a liberação de amônia da cama

Aumentando-se a temperatura de 15 para 30°C, a quantidade de amônia liberada pelas amostras também aumentou significativamente (Figura 5). Em relação à umidade, a maior liberação da amônia foi na umidade natural da cama (17,1%), sendo que a secagem ou a adição de água diminuiu a liberação da amônia, pelo menos dentro do período estudado (Figura 6).

Com base nos resultados da Tabela 2, pode-se verificar que a cama seca na estufa não apresentou efeito diferente ($P < 0,05$) para as diferentes temperaturas, indicando possível inativação dos microorganismos produtores de amônia pela secagem na estufa.

Para as amostras com umidade natural (17,1%) e umidade elevada (42,1%), observou-se que o aumento da temperatura acarretou acréscimo na quantidade de amônia liberada. Entretanto, à semelhança do mencionado no item 5, novamente foi verificado que a umidade excessiva (42,1%) apresentou menor liberação de amônia comparada com 17,1%, provavelmente pelos motivos já discutidos anteriormente.

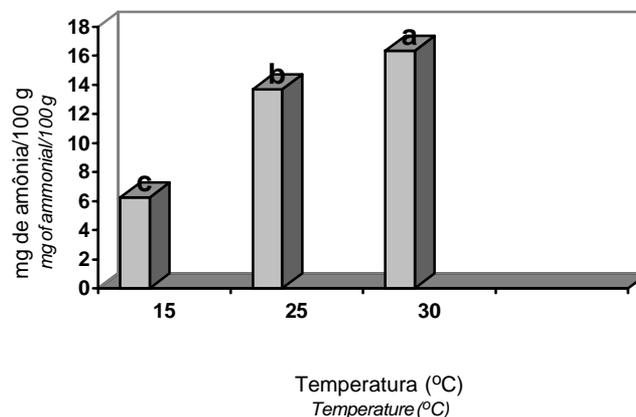


Figura 5 - Quantidade de amônia liberada ($\text{mg de NH}_3/100\text{ g}$) pela cama aviária, em função das temperaturas (15, 25 e 30°C) após a incubação por 16 horas.

Figure 5 - Amount of ammonia liberated ($\text{mg de NH}_3/100\text{ g}$) by the broiler litter, according to temperatures (15, 25 and 30°C) after 16 hours of incubation.

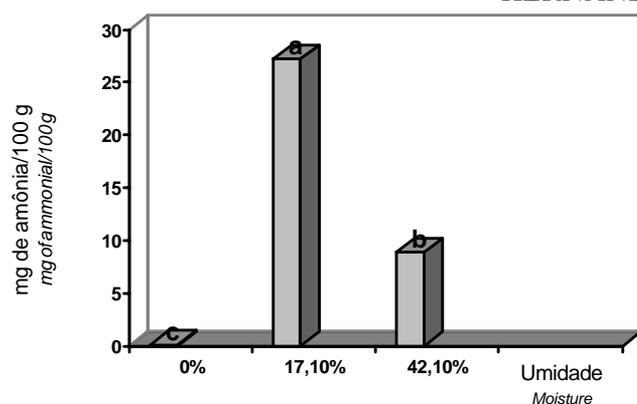


Figura 6 - Quantidade de amônia liberada (mg de $\text{NH}_3/100$ g) pela cama aviária, em função dos níveis de umidade (15, 25 e 30°C).

Figure 6 - Amount of liberated ammonia (mg de $\text{NH}_3/100$ g) by broiler litter, according to moisture levels (15, 25 and 30°C).

Conclusões

O método proposto possui boa precisão e exatidão na determinação da amônia liberada pela cama aviária, por ser um bom método de comparação de camas submetidas a diferentes tratamentos e bastante acessível, uma vez que se utilizam material barato e reagentes bastante comuns.

O estudo da metodologia proposta indicou que o método apresenta boa *performance*, quando num frasco com cerca de 500 mL de capacidade foram incubadas de 60 a 100 g de cama aviária, por um período de 15 a 20 horas, a 30°C , com fixação da amônia em 10 mL de ácido bórico 2% (m/v), contido em um béquer de 50 mL incubado juntamente com a cama aviária, que é posteriormente titulado com H_2SO_4 0,005N padronizado.

O método proposto apresenta ainda a possibilidade de ser usado para quantificar a amônia liberada nas reais condições do galpão, colocando-se o frasco com a solução de ácido bórico 2% sobre a cama aviária e emborcando-se o frasco incubador para que a amônia produzida fique confinada na atmosfera interna e seja fixada no ácido bórico, para sua posterior quantificação por titulação, seguindo as indicações do presente trabalho.

Referências Bibliográficas

- ANDERSON, D.P., BEARD, C.W., HANSON, R.P. 1965. Influence of poultry house dust, ammonia and carbon dioxide on the resistance of chickens to Newcastle diseases virus. *Avian Dis.*, 9(10):177-188.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. 1970. *Official methods of analysis*. 11.ed. Washington D.C. 1015p.

Tabela 2 - Quantidade de amônia (miligramas de $\text{NH}_3/100$ g de material incubado) liberada pela cama aviária em três diferentes temperaturas e com três diferentes níveis de umidade, incubada por 16 horas

Table 2 - Amount of ammonia (miligrams of $\text{NH}_3/100$ g of incubated material) liberated by the broiler litter in three different temperatures and with three different moisture levels, incubated for 16 hours

Temperatura Temperature	Umidade (Moisture) mg $\text{NH}_3/100$ g		
	0%	17,1%	42,1%
15°C	0,04 ^{cA}	12,85 ^{aC}	5,86 ^{bC}
25°C	0,09 ^{cA}	31,90 ^{aB}	9,01 ^{bB}
30°C	0,17 ^{cA}	37,03 ^{aA}	11,87 ^{bA}
CV %	5,81		

Médias seguidas de letras diferentes (maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas) diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Means followed by different letters (capital letter in the columns and small letter in the rows) differ by Tukey test ($P < 0,05$).

- BABKO, A.K., PILIPENKO, A.T. 1976. *Photometric analysis: Methods of determining non metals*. Moscow: Mirr. p.16-8.
- BANZATTO, D.A., KRONKA, S.N. 1992. *Experimentação agrícola*. Jaboticabal: FUNEP. 247p.
- BASSET, J., JEFFERY, G. H., MENDHAM, J. et al. 1981. *Vogel Análise inorgânica quantitativa*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois. 1508p.
- CABRERA, M.L., CHIANG, S.C. 1994. Water content effect on denitrification and ammonia volatilization in poultry litter. *Soil Sci. Soc. Americ. J.*, 58:811-816.
- CAVENY, D.D., QUARLES, C.L. 1978. The effect of atmospheric ammonia stress on broiler performance and carcass quality. *Poult. Sci.*, 57:1124-1125.
- FENN, L.B., KISSEL, D.E. 1973. Ammonia volatilization from surface applications of ammonium compounds on calcareous soils: I. General theory. *Soil Sci. Soc. Americ. J.*, 37:855-859.
- GLÓRIA, N.A., BARRETO, M.C.V., MORAES, C.J. et al. 1991. Avaliação do gesso e de alguns fosfatos como inibidores da volatilização de amônia de esterco. *Rev. Brasil. de Ciênc. do Solo*, 15(3):297-301.
- LANCY, M.P., WILSON, J.L., DALE, N.M. 1989. Measuring ammonia release in broiler litter. *Poult. Sci.*, 68:188.
- MOUM, S.G., SELTZER, W., GOLDHFT, T.M. 1969. A simple method of determining concentrations of ammonia in animal quarters. *Poult. Sci.*, 48:347-348.
- OLWEILLER, O.A. 1982. *Química analítica quantitativa*. 3. ed. Rio de Janeiro: LTC, p.238-9.
- REECE, F.N., LOTT, B.D., DEATON, J.W. 1980. Ammonia in the atmosphere during brooding affects performance of broiler chickens. *Poult. Sci.*, 59:486-488.
- WEAVER JR., W.D., MEIJERHOF, R. 1991. The effect of different levels of relative humidity and air movement on litter conditions, ammonia levels, growth, and carcass quality for broiler chickens. *Poult. Sci.*, 70:746-55.
- WOOD, C.W., HALL, B.M. 1991. Impact of drying method on broiler litter analyses. *Communication Soil Sci. Plant Analysis*, 22(15 & 16):1677-1688.

Recebido em: 23/06/00

Aceito em: 21/12/01