

II Encontro anual de
INICIAÇÃO 
CIENTÍFICA DA UNESPAR

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE NITRATO EM AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL

Ana Carolina Carneiro da Silva (PIC, Fundação Araucária)
UNESPAR/Paranaguá, anacarolina.bio2014@gmail.com

José Roberto Caetano da Rocha (Orientador)
UNESPAR/Paranaguá, jose.rocha@unespar.edu.br

Palavras-chave: Nitrato. Metemoglobinemia. Griess.

INTRODUÇÃO

A água é considerada um dos bens mais importante para a sobrevivência dos seres vivos no planeta Terra (BACCI; PATAÇA, 2008). Porém devido aos fatores de crescimento demográfico e da expansão imobiliária ocorrem os processos de poluição hídrica em mananciais aquíferos. Para tanto, busca-se água mineral em estabelecimentos de venda como alternativa de substância confiável e de qualidade por parte da população mundial para consumo diário (CUNHA *et al.*, 2012).

Esse processo antrofizante ocorre devido a introdução de macronutrientes nessas águas, entre outras formas poluidoras. O elemento nitrogênio é um macronutriente que participa de várias reações biológicas, sendo encontrado em grande abundância na atmosfera terrestre como gás nitrogênio, mas ele, nessa forma química, é pouco aproveitável pelos seres vivos (BROWN *et al.*, 2007). Esse elemento químico é extremamente importante na ciclagem de nutrientes, onde as três formas iônicas têm ampla acuidade no processo de assimilação de alimento através de matéria orgânica, influenciando diretamente no crescimento e sobrevivência de vegetais e outros organismos não assimiladores (CORREA; ZACHARIAS; ROCHA, 2016; GUERREIRO; SÁ; RODRIGUES, 2012).

O nitrato é a forma mais oxidada e também a mais estável do elemento nitrogênio em meio aquoso. Este íon, quando encontrado em altas concentrações em corpos de hídricos, pode resultar em situações de risco à saúde para todos aqueles que a consumirem. Para os bebês, a situação pode ser fatal, quando o íon nitrato é reduzido a nitrito, a hemoglobina do sangue é convertida em metemoglobina, causando a metemoglobinemia também conhecida como “síndrome do bebê azul”. Esta síndrome ocorre devido a fatores relacionados diretamente com a hemoglobina, quando exposta a fatores ambientais, como o próprio íon nitrito. O pH intestinal de bebês é mais elevado e facilita o crescimento de bactérias gram-negativas conversoras de nitratos alimentares em nitritos, que têm maior poder oxidante e que induz a reação de oxidação do Fe^{2+} a Fe^{3+} . O desmame anterior aos 4 meses de idade expõe o lactente à contaminação por nitratos de origens diversas, inclusive de fontes

**II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.**

naturais (cenoura, beterraba, fava, feijão verde, espinafre e abóbora). A intoxicação de lactentes leva à formação de metemoglobina numa velocidade acima da capacidade de redução, e a gravidade do quadro depende de alguns fatores, como quantidade de toxina a que o indivíduo foi exposto, capacidade metabólica individual, absorção intestinal e recirculação êntero-hepática (NASCIMENTO *et al.*, 2008). Como consequência desta síndrome ocorre a diminuição do transporte de oxigênio pelo sangue para as células, órgãos, tecidos e músculos (FERNÍCULA; AZEVEDO, 1981). Já em adultos, o nitrito quando apresentado em grande quantidade se combina com aminas, formando nitrosaminas, estas sendo substâncias cancerígenas, apresentando casos de mutação em animais estudados em pesquisas (FAQUIN; ANDRADE, 2004; CLEMENTE *et al.*, 2014)

Devido a todos esses fatores de alto risco e real preocupação relacionados com a alta concentração do íon em recursos hídricos, o CONAMA estabeleceu na Resolução nº 357/2005 os padrões de qualidade de água doce, indicando que o valor limite para uso do mesmo em água mineral para consumo da população é de 10 mg.L^{-1} de nitrato na forma do elemento nitrogênio (CONAMA, 2005; MONTEIRO *et al.*, 2003).

Existem várias metodologias para quantificar esse íon. O método utilizado nesse trabalho foi o de Griess. No qual primeiramente o nitrato é reduzido a nitrito a partir do zinco metálico (CORREA; ZACHARIAS; ROCHA, 2016), assim possibilita-se utilizar a metodologia mencionada. Posteriormente para que haja a formação do azo composto de coloração rosa se acrescenta solução de Sulfanilamida com bicloridrato de naftil-1-etilenodiamina em meio ácido. Por fim avalia-se os resultados espectrofotometricamente em comprimento de onda 545nm.

No presente trabalho, o principal objetivo foi verificar a concentração do íon nitrato nas amostras de água mineral e posteriormente compará-la com os valores indicados nos rótulos, sendo que as amostras avaliadas foram adquiridas em supermercados da cidade de Paranaguá, PR.

PARTE EXPERIMENTAL

Amostragem

Foram realizados ensaios analíticos em 10 amostras de água mineral adquiridas em supermercados da cidade de Paranaguá, PR. As amostras foram definidas avaliando as concentrações de nitrato indicadas em seus rótulos, assim adquiriu-se:

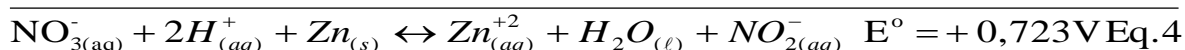
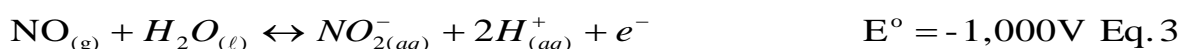
- 5 marcas que indicavam nos seus rótulos valores superiores a 10 mg.L^{-1} ;
- 3 marcas que indicavam seus rótulos valores inferiores a 10 mg.L^{-1} ;
- 2 marcas que não indicavam os valores de nitrato nos seus rótulos.

A preocupação com essas amostras foi devido ao fato de que esses valores eram superiores as concentrações máximas preconizadas pelo CONAMA. Desta forma as mesmas não podiam e não deviam ser comercializadas.

Metodologia Analítica

Durante o processo analítico todas as soluções utilizadas foram preparadas com água destilada e reagentes de grau analítico.

Primeiramente, tanto para a avaliação das amostras quanto para obter-se dados para a curva analítica, pesou-se 0,5 g de zinco em pó transferindo para cada um dos erlenmeyer de 125 mL para que o íon nitrato fosse reduzido a íon nitrito, como mostra a equação (Eq. 4). Em seguida adicionou-se 25 mL de água mineral de cada amostra das marcas utilizadas ou das soluções padrão. Estas permaneceram em tempo reacional por 120 minutos e após o tempo indicado, filtrou-se o agente redutor separando-o das amostras. Ao filtrado adicionou-se 5 mL de solução de sulfanilamida com bicloridrato de naftil-1-etilenodiamina em meio ácido. Após 15 minutos mediram-se os valores de absorvância no espectrofotômetro U2M Quimis no comprimento de onda de 545nm.



Para se comparar os resultados analíticos transferiu-se para um erlenmeyer 25 mL de amostra de água mineral ou de solução padrão, onde foram acrescentados 500 µL de solução 1,0 mol.L⁻¹ de HCl e homogeneizou-se. Realizou-se a leitura dos valores de absorvância no espectrofotômetro na região infravermelho, ou seja, em 205nm. Todos estes ensaios analíticos foram realizados com cinco repetições, para que assim os resultados apresentem maiores níveis de confiança.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As marcas de água mineral selecionadas, para esse trabalho, foram definidas utilizando conceitos básicos que qualquer cidadão poderia ter escolhido. A princípio as mais conhecidas comercialmente e até mesmo, usando aquelas cujas concentrações de nitrato estivessem com valores acima de 10 mg.L⁻¹, bem como amostras cujas concentrações apresentassem valores na faixa estabelecidas por normas técnicas. Na Figura 1 se observa as amostras de água mineral em presença de zinco em pó para que fosse possível o nitrato ser reduzido a nitrito segundo estudo produzido por Correa, Zacharias e Rocha (2016).



Figura 1 - Processo de redução do íon nitrato ao íon nitrito que estão presentes nas amostras de água mineral e também nas soluções padrão de nitrato utilizando o zinco em pó como agente redutor.

Na Figura 2 se percebe a solução rosa produzida após a adição de solução de sulfanilamida com bicloridrato de naftil-1-etilenodiamina em meio ácido nas amostras e soluções padrão obtidas depois do processo de filtração realizado nas soluções onde existia o zinco em pó metálico. Após 15 minutos mediram-se os valores de absorbância no espectrofotômetro U2M Quimis no comprimento de onda de 545nm.



Figura 2 - Solução obtida após a adição solução de sulfanilamida com bicloridrato de naftil-1-etilenodiamina em meio ácido em amostras de água mineral durante o tempo reacional de 15 minutos.

Todos os ensaios analíticos foram realizados com cinco réplicas, para que desta forma fossem realizadas avaliações estatísticas. Assim é possível minimizar os erros analíticos comuns em todo processo experimental.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

Com os valores médios de absorbância obtidos foi possível traçar a curva analítica para nitrato pelo Método de Griess (Figura 3). Com a regressão linear obteve-se a equação da reta $[N] = (Abs - 0,24723) / 0,25613$ com $R^2 = 0,99061$.

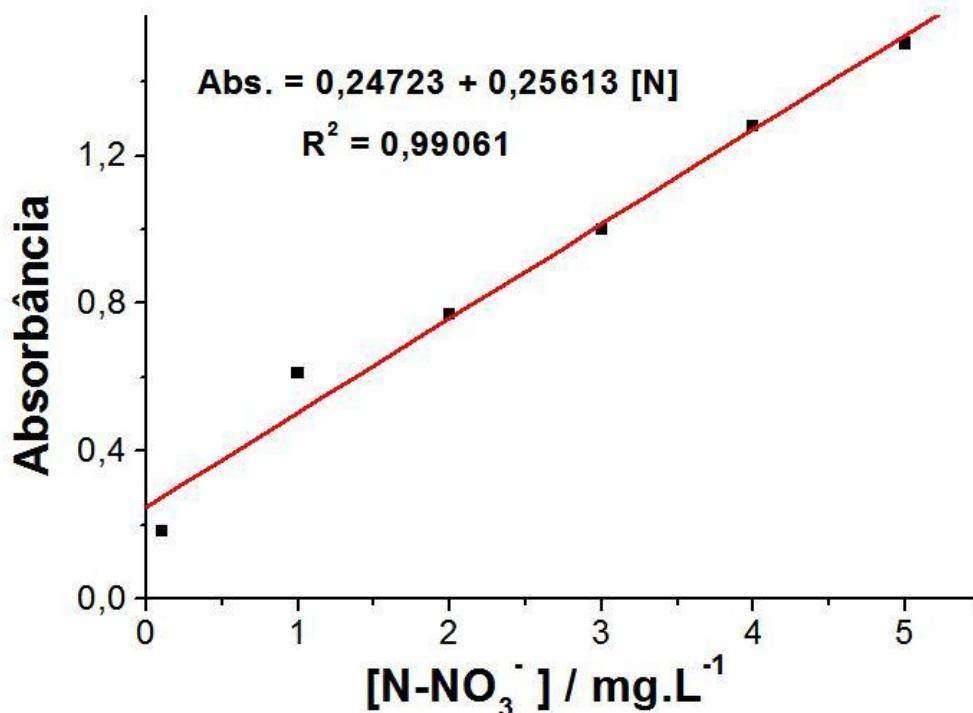


Figura 3 – Curva analítica demonstrando os resultados da concentração do elemento nitrogênio, na forma de nitrato, determinados espectrofotometricamente pelo método de Griess em 545nm, referente às soluções padrões.

Para se comparar os resultados foram realizados os ensaios com duas metodologias. Com os valores médios de absorbância obtidos foi possível traçar a curva analítica para nitrato pelo Método de HCl na região do UV em 205nm (Figura 4). Com a regressão linear obteve-se a equação da reta $[N] = (Abs - 0,17971) / 0,24277$ com $R^2 = 0,98863$.

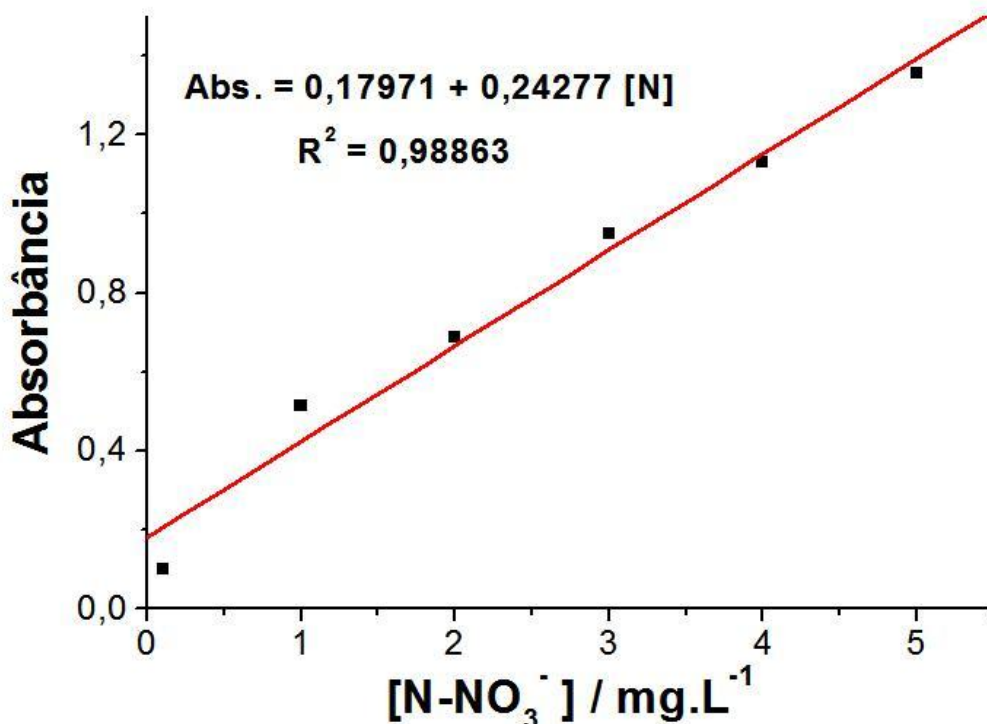


Figura 4 – Curva analítica demonstrando os resultados da concentração do elemento nitrogênio, na forma de nitrato, determinados espectrofotometricamente pelo Método de HCl na região do UV em 205nm, referente às soluções padrões.

Na Tabela 1 são apresentados os resultados referentes às concentrações de nitrato obtidos nas amostras de água mineral adquiridas nos supermercados de Paranaguá - PR, seja pelo Método de Griess, seja pelo Método de HCl na região do UV. Também são apresentados os valores da concentração de nitrato indicada nos rótulos das águas analisadas. Em uma das colunas a representação está na forma de mg de NO₃⁻. L⁻¹, enquanto que na outra coluna os valores, se nos rótulos fossem expressos em mg de N.L⁻¹. Avaliando esses possíveis valores com as concentrações obtidas, percebeu-se que os resultados indicados nos rótulos das águas minerais estão representados na forma de mg de NO₃⁻. L⁻¹ e não na forma de mg de N.L⁻¹ conforme preconiza o CONAMA.

O fato dos valores de nitrato expressos em mg de N.L⁻¹, se apresentarem maiores do que os valores que seriam relatados nos rótulos de cada amostra de água mineral, está relacionado possivelmente devido a esses serem os valores médios que a empresa obtém depois de serem realizados vários ensaios em diferentes pontos amostrados de suas fontes. Diferentes dos resultados obtidos durante as determinações analíticas realizadas nesse trabalho que obteve somente o resultado de um ponto amostral.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

Tabela 1- Representação dos resultados de nitrato (mg.L^{-1}) que foram obtidos nos ensaios espectrofotométricos.

Amostra	Griess (mgN.L^{-1})	HCl (mgN.L^{-1})	Rótulos ($\text{mgNO}_3^-.\text{L}^{-1}$)	Rótulos (mgN.L^{-1})	CONAMA (mgN.L^{-1})
1	2,37	3,39	18,13	4,09	10
2	1,73	3,36	18,13	4,09	10
3	2,38	3,42	18,13	4,09	10
4	2,52	3,46	14,76	3,33	10
5	0,31	1,25	NC	NC	10
6	0,14	0,36	NC	NC	10
7	0,27	0,89	2,80	0,46	10
8	0,77	1,43	6,11	1,38	10
9	0,60	1,06	7,27	1,64	10
10	0,65	1,23	6,11	1,38	10

NC = Não cita a concentração.

Caso os valores expressos nos rótulos das águas minerais fossem em mg de N.L^{-1} , os mesmos, indicados nos cinco dos rótulos de água mineral, estariam fora da especificação e assim deveriam ser vetadas as suas comercializações. Entretanto, observando os resultados dos ensaios realizados, percebeu-se que as mesmas estão dentro do limite que a norma estabelece, visto que os resultados expressos estão em mg de $\text{NO}_3^-.\text{L}^{-1}$. Mas é válido ressaltar que a tese sugerida inicialmente, se deu devido ao fato de que as empresas produtoras de água mineral repassam informações equivocadas em seus rótulos, referentes ao elemento nitrogênio. Tendo em vista, que segundo as normas estabelecidas pela entidade reguladora de normas vigentes no país, a concentração de nitrato deve ser apresentada na forma do elemento nitrogênio e não como o íon nitrato (NO_3^-), como rotineiramente vem acontecendo.

Assim observando os resultados obtidos para quantificação do íon nitrato nas amostras de água mineral (Tabela 1) é possível afirmar que os valores da mesma estão dentro dos parâmetros que a Resolução 357/2005 CONAMA determina próprio para consumo, incluindo as mesmas como água potável.

CONCLUSÕES

Todas as amostras de água mineral avaliadas nesse trabalho apresentaram valores abaixo do limite máximo preconizado pela Resolução 357/2005 do CONAMA, portanto avaliando somente esse parâmetro são consideradas potáveis. Percebe-se ainda que as empresas que comercialização águas minerais, apresentam em seus rótulos os resultados de nitrato de forma equivocada, ao invés de serem

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

expressos em mg de N.L⁻¹, eles são expressos em mg de NO₃⁻. L⁻¹. Desta forma os valores numéricos são representados, algumas vezes, com valores superiores o que a Resolução 357/2005 do CONAMA preconiza. Em relação dos possíveis valores de nitrato expressos em mg de N.L⁻¹ que deveriam aparecer nos rótulos das águas minerais, se apresentarem maiores do que os valores obtidos durante os ensaios analíticos promovidos nesse trabalho, possivelmente está relacionado ao fato desses serem os valores médios que a empresa obtém, após serem realizados vários ensaios analíticos em diferentes pontos amostrados de suas fontes. Os resultados analíticos obtidos durante as determinações espectrofotométricas realizadas nesse trabalho são de um amostral.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação Araucária e a PRPPG da UNESPAR pela bolsa PIC concedida conforme Edital 009/2015 da PRPPG-UNESPAR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACCI, D. C.; PATACA, E. M., Educação para a água. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 22, n. 63, p. 211-226, Maio/Junho/Julho/Agosto, 2008.

BROWN, T. L.; LeMAY Jr, H. E.; BURSTEN, B. E.; BURDGE, J. R. **Química – A Ciência Central**. 9ª. Edição. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2007, p. 815.

CLEMENTE, F.; MARINELLI, P. S.; OTOBONI, A. M. M. B.; TANAKA, A. Y.; OLIVEIRA, A. S.; NICOLAU, C. C. T. Verificação do teor de nitrito e nitrato em salsichas tipo hot dog em função dos métodos de cocção. **Revista Analytica**, São Paulo, v.12, n.73, p-72-78, 2014.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, **Resolução n°357**: Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências, Brasília, 17 de março de 2005.

CORRÊA, J. A.; ZACHARIAS, M.; ROCHA, J. R. C. Avaliação do processo de redução de nitrato a nitrito em amostras de água utilizando zinco em pó. **Revista Analytica**, São Paulo, v.14, n.82, p-18-23, Abril/Maio, Outubro/Novembro, 2016.

CUNHA, H. F. A.; LIMA, D. C. I.; BRITO, P. N. F.; CUNHA, A. C.; SILVEIRA JUNIOR, A. M.; BRITO, D. C. Qualidade físico-química e microbiológica de água mineral e padrões da legislação. **Ambi-Água**, Taubaté, v.7, n.3, p. 155-165, Setembro/Outubro/Novembro/Dezembro, 2012.

FAQUIN, V.; ANDRADE, A. T. **Nutrição mineral e diagnose do estado nutricional de hortaliças**. Especialização, 88p. Monografia. Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão. Departamento de Ciências do Solo Lavras - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

FERNÍCULA, N. G. G.; AZEVEDO, F. A, Metemoglobinemia e Nitrato nas Águas. **Revista de Saúde Pública**. São Paulo, v.15, n.2, p. 242-248, Abril, 1981.

GUERREIRO, R. S.; SÁ, M. S.; RODRIGUES, L. A. P., Avaliação do teor de nitrito a nitrato em alimentos cárneos comercializados em Salvador. **REVINTER Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, São Paulo, v.5, n.1, p.77-91, Fevereiro, 2012.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

MONTEIRO, M. I. C., FERREIRA, F. N., OLIVEIRA, N. M. M., ÁVILA, A. K., Simplified version of the sodium salicylate method for analysis of nitrate in drinking waters, **Analytica Chimica Acta**. Amsterdam, v. 477, n.1, p.125–129, Janeiro, 2003.

NASCIMENTO, T. S.; PEREIRA, R. O. L.; MELLO, H. L. D.; COSTA, J. Metemoglobinemia: do Diagnóstico ao Tratamento. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Campinas, v. 58, n. 6, p.651-664, Novembro/Dezembro, 2008.