

Estudo comparativo de métodos para determinação de nitrato em águas para consumo humano

Comparative study on nitrate determination methods in potable water

RIALA6/1025

Elaine Marra de Azevedo MAZON[†]; Aline Cristine Garcia de OLIVEIRA; Berenice Mandel BRÍGIDO; Valéria Pereira da Silva FREITAS

*Endereço para correspondência: Rua São Carlos, 720. Vila Industrial, Campinas – SP, CEP: 13035-420, Campinas – SP
emamazon@ial.sp.gov.br.
Instituto Adolfo Lutz, Laboratório I Campinas/SP.
Recebido: 01/03/2005 – Aceito para publicação: 30/06/2005.

RESUMO

Foi realizado um estudo comparativo entre quatro métodos para determinação de nitrato em águas destinadas ao consumo humano: ácido fenoldissulfônico, espectrofotométrico UV a 205nm, espectrofotométrico UV a 205nm modificado e espectrofotométrico UV a 220/275nm. Os métodos foram avaliados a fim de selecionar os mais adequados quanto à precisão e exatidão para serem aplicados na rede oficial de laboratórios de saúde pública. Com base nos resultados obtidos, os métodos espectrofotométricos UV a 220/275nm e espectrofotométrico UV a 205nm apresentaram características de desempenho adequadas estatisticamente para análise de rotina laboratorial, além de serem métodos de fácil execução, utilizarem reagente único e apresentarem resultados imediatos na determinação de nitratos em águas com baixo teor de matéria orgânica.

Palavras-Chave. água para consumo humano, determinação de nitrato, método espectrofotométrico UV/VIS, validação.

ABSTRACT

Four techniques were studied and compared for determining nitrate in water for human consumption: phenoldissulphonic acid, UV spectrophotometric at 205nm, modified UV spectrophotometric at 205nm, and UV spectrophotometric at 220/275nm. They were assessed in order to select the most reliable with respect to precision and accuracy for being used in the Brazilian official public health laboratories network. Based on the obtained results, both techniques UV spectrophotometric at 220/275nm, and at 205nm presented statistically adequate performance characteristics for being employed in routine laboratory analyses. In addition, both techniques are easy to perform, make use of one reagent only, and they present rapid testing results in determining nitrates in water with low content of organic materials.

Key Words. potable water, nitrate determination, UV/VIS spectrophotometric method, validation.

INTRODUÇÃO

Os nitratos constituem a forma de nitrogênio mais comumente encontrada e estão presentes naturalmente em solos, águas, plantas e carnes¹.

O nitrato é um dos íons mais encontrados em águas naturais, geralmente ocorrendo em baixos teores em águas superficiais, podendo atingir altas concentrações em águas subterrâneas².

Os valores de referência para o nitrato divergem segundo a origem da água em relação às legislações vigentes. A Portaria 518, de 25 de março de 2004 aplicada em águas para

consumo humano³ estabelece como valor máximo permitido para nitrato 10mg.L⁻¹, expresso em nitrogênio. A legislação utilizada para águas envasadas, RDC 54, de 15 de junho de 2000 tem como valor máximo permitido 50mg.L⁻¹, expresso em nitrato⁴.

O consumo de nitratos está associado a efeitos adversos a saúde humana como a indução a metahemoglobinemia, quando convertido a nitrito no estômago pela ação bacteriana, especialmente em crianças com idade até três meses e a formação potencial de nitrosaminas e nitrosamidas carcinogênicas⁵.

Vários métodos são citados na literatura para determinação e quantificação do íon nitrato em águas, dentre

esses: cromatografia iônica, nitração de compostos fenólicos, método do eletrodo íon seletivo para nitrato, método da redução em coluna de cádmio e método espectrofotométrico na região do ultravioleta^{2,6,7}.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o desempenho dos métodos: ácido fenoldissulfônico, espectrofotométrico direto na região do ultravioleta a 205nm, espectrofotométrico direto na região do ultravioleta 205nm modificado e espectrofotométrico na região do ultravioleta 220nm e 275nm, a fim de selecionar os mais adequados quanto à exatidão e precisão para determinação de nitrato em águas para consumo humano a ser aplicado na rede oficial de laboratórios de saúde pública do estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Para esse estudo foi utilizada uma amostra de água natural envasada previamente analisada quanto a sua potabilidade, cujos resultados estão dispostos abaixo:

aspecto	límpido;
odor	característico;
cor	menor que 2,0 Hazen;
turbidez	0,15 FTU;
resíduo seco à 180°C	41,0 mg.L ⁻¹ ;
perda por calcinação	6,0 mg.L ⁻¹ ;
resíduo fixo	35,0 mg.L ⁻¹ ;
pH	7,9;
alcalinidade de hidróxidos	0,0 mg.L ⁻¹ em CaCO ₃ ;
alcalinidade de carbonatos	0,0 mg.L ⁻¹ em CaCO ₃ ;
alcalinidade de bicarbonatos	0,0 mg.L ⁻¹ em CaCO ₃ ;
dureza de não carbonatos	0,0 mg.L ⁻¹ em CaCO ₃ ;
dureza de carbonatos	28,9 mg.L ⁻¹ em CaCO ₃ ;
dureza total	28,9 mg.L ⁻¹ em CaCO ₃ ;
gás carbônico	1,2 mg.L ⁻¹ ;
oxigênio consumido em meio ácido	0,2 mg.L ⁻¹ de oxigênio;
nitrogênio amoniacal	abaixo de 0,01 mg.L ⁻¹ de nitrogênio;
nitrogênio nitroso	abaixo de 0,0007 mg.L ⁻¹ de nitrogênio;
ferro	abaixo de 0,05 mg.L ⁻¹ ;
cloretos	3,0 mg.L ⁻¹ de cloro;
sulfatos	menor que 10,0 mg.L ⁻¹ ;
condutividade a 25°C	37,04 μS.cm ⁻¹
Coliformes totais	ausência em 100 mL;
<i>E. coli</i> ou Coliformes Termotolerantes ..	ausência em 100 mL.

O valor estimado do teor de nitratos foi realizado intralaboratorialmente em triplicata, por dez dias, utilizando-se a metodologia descrita no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (espectrofotométrico na região do ultravioleta 220/275nm)².

Soluções/Reagentes:

- Soluções-padrão nas concentrações de 0,2; 3,5; 10,0 e 100mg N (NO₃⁻).L⁻¹ e 0,15; 0,2; 3,5; 10,0 e 100mg NO₃⁻(NO₃⁻).L⁻¹ preparadas a partir de solução estoque de nitrato de sódio 1000mg NO₃⁻(NO₃⁻).L⁻¹ NIST-SRM 723b Merck,
- Solução de ácido fenoldissulfônico(8)
- Solução de hidróxido de sódio a 50%
- Solução de ácido clorídrico 1 mol.L⁻¹ (1M)
- Água purificada: água de abastecimento público que sofreu processo de destilação, seguido de deionização, bidestilação e por último purificação (sistema de ultrapurificação de água NANOpure Dlamond UF – Barnstead/Thermolyne – modelo nº D11921).

Equipamentos

- Banho-maria a 100°C
- Espectrofotômetro UV/VIS, marca Hewelett- Packard 8453

Métodos para determinação de nitrato

Método espectrofotométrico com ácido fenoldissulfônico (1) descrito no Livro de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz⁸.

Baseia-se na reação de íons nitrato com ácido fenoldissulfônico e posterior alcalinização com hidróxido de sódio, obtendo-se um composto de coloração amarela que é o sal sódico do ácido pícrico, formado pela nitração do fenol; a coloração é medida em espectrofotômetro na região do visível, cujo procedimento foi transferir 50mL da amostra para cápsula de porcelana de 150mL e evaporar até a secura. Adicionar 1mL da solução de ácido fenoldissulfônico e raspar intimamente com bagueta de vidro. Lavar com 10mL de água purificada e adicionar 5mL de solução de hidróxido de sódio 50%, sob agitação, até obter uma coloração amarela estável. Transferir para um balão volumétrico de 50mL completando volume com água purificada e homogeneizar. Proceder a leitura após 15 minutos em espectrofotômetro a 410nm, utilizando como branco água purificada preparado nas mesmas condições da amostra. Determinar a concentração de nitrato utilizando a curva-padrão previamente estabelecida a partir da solução estoque de 100mg NO₃⁻(NO₃⁻).L⁻¹ no intervalo de 0 a 7mg (NO₃⁻).L⁻¹, expresso em nitrato com leitura em espectrofotômetro a 410nm.

Método espectrofotométrico direto na região do ultravioleta a 205nm (2) descrito na próxima edição do Livro de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz em fase de publicação⁹.

Baseia-se na leitura direta da absorbância da amostra de água, com adição de ácido clorídrico 1 mol.L⁻¹, em espectrofotômetro a 205nm aplicável em águas com baixo teor de matéria orgânica, cujo procedimento foi transferir 100mL da amostra para um balão volumétrico de 100mL, adicionar 1mL de ácido clorídrico 1 mol.L⁻¹. Homogeneizar e medir a absorbância em espectrofotômetro na região do ultravioleta a 205nm

utilizando como branco água purificada preparado nas mesmas condições da amostra. Determinar a concentração de nitrato utilizando a curva padrão previamente estabelecida a partir da solução estoque de $100\text{mg NO}_3^- (\text{NO}_3^-) \cdot \text{L}^{-1}$, no intervalo de 0 a $7\text{mg (NO}_3^-) \cdot \text{L}^{-1}$, expresso em nitrato com leitura em espectrofotômetro a 205nm .

Método espectrofotométrico direto na região do ultravioleta 205nm modificado para esse estudo (3).

Baseia-se na leitura direta da absorbância da amostra de água, com adição de ácido clorídrico $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, em espectrofotômetro a 205nm aplicável em águas com baixo teor de matéria orgânica, cujo procedimento foi transferir 50mL da amostra para um balão volumétrico de 50mL e adicionar 1mL de ácido clorídrico $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Homogeneizar e medir a absorbância em espectrofotômetro na região do ultravioleta a 205nm utilizando como branco, água purificada preparado nas mesmas condições da amostra. Determinar a concentração de nitrato utilizando a curva padrão previamente estabelecida a partir da solução estoque de $100\text{mg NO}_3^- (\text{NO}_3^-) \cdot \text{L}^{-1}$, no intervalo de 0 a $7\text{mg (NO}_3^-) \cdot \text{L}^{-1}$, expresso em nitrato com leitura em espectrofotômetro a 205nm .

Método espectrofotométrico na região do ultravioleta a 220/275nm (4) descrito na 20ª edição do Standard Methods for the examination of Water and Wastewater².

Aplicável em águas com baixo teor de matéria orgânica. Baseia-se na medida de absorção na região do ultravioleta a 220nm do nitrato utilizando ácido clorídrico $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ para eliminar interferentes. Dado que a matéria orgânica também absorve radiação a 220nm e que o nitrato não absorve a 275nm , uma segunda medição a 275nm , corrige o valor da leitura correspondente a nitrato.

O procedimento analítico utilizado para determinação de nitratos foi transferir 50mL da amostra para um balão volumétrico de 50mL e adicionar 1mL de ácido clorídrico $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Homogeneizar e medir a absorbância em espectrofotômetro na região do ultravioleta a 220nm e 275nm utilizando como branco água purificada preparado nas mesmas condições da amostra. O valor da absorbância referente ao íon nitrato ($\lambda=220\text{nm}$) deve ser corrigido para interferências de compostos orgânicos ($\lambda=275\text{nm}$) através da fórmula: $A = A_{220} - 2 \cdot A_{275}$. Se o valor da absorbância corrigida (A) for maior que 10% do valor de absorbância a 220nm (A_{220}), o método não deve ser usado. Determinar a concentração de nitrato utilizando a curva padrão previamente estabelecida a partir da solução padrão de $10\text{mg (NO}_3^-) \cdot \text{L}^{-1}$, expresso em nitrogênio no intervalo de 0 a $7\text{mg N (NO}_3^-) \cdot \text{L}^{-1}$.

Análise Estatística

As características de desempenho dos métodos estudados incluíram a determinação dos seguintes parâmetros de validação: limite de detecção, limite de quantificação, desvio padrão, intervalo de confiança, coeficiente de variação,

precisão, exatidão, linearidade e recuperação entre os métodos. As análises foram realizadas em triplicata por dez dias.

Limite de detecção

O limite de detecção para os métodos 1, 2 e 3 foi obtido através das leituras em espectrofotômetro de um branco analítico, preparado nas mesmas condições da amostra, com água purificada, acertando o zero de absorbância do equipamento entre uma leitura e outra com água purificada. Para o método 4, o limite de detecção foi obtido através das leituras em espectrofotômetro do branco com adição da menor concentração aceitável do analito, acertando o zero de absorbância do equipamento com um branco preparado nas mesmas condições da amostra¹⁰.

$$\text{LDM} = t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot (s)$$

LDM: limite de detecção do método

$t_{(n-1, 1-\alpha)}$: valor da abscissa t (Student) para $(1-\alpha)$. 95% nível de confiança e $(n-1)$ graus de liberdade, sendo s : desvio padrão das análises em replicata.

Limite de quantificação

O limite de quantificação foi calculado como sendo dez vezes o valor do desvio padrão para os métodos 1, 2 e 3 das leituras em espectrofotômetro de um branco analítico, preparado nas mesmas condições da amostra, com água purificada, acertando o zero de absorbância do equipamento entre uma leitura e outra com água purificada. Para o método 4, o limite de quantificação foi calculado como dez vezes o valor do desvio padrão obtido através das leituras em espectrofotômetro do branco com adição da menor concentração aceitável do analito, acertando o zero de absorbância do equipamento com um branco preparado nas mesmas condições da amostra¹⁰.

LQ: $10 \cdot (s)$, sendo LQ: limite de quantificação e s : desvio padrão

Intervalo de confiança

O intervalo de confiança foi calculado utilizando-se a fórmula a seguir:

$$\bar{x} \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}}$$

\bar{x} : média das concentrações da amostra

$t_{(n-1, 1-\alpha)}$: valor da abscissa t (Student) para $(1-\alpha)$. 95% nível de confiança e $(n-1)$ graus de liberdade. Sendo s : desvio padrão da média e n : número de determinações

Coefficiente de variação

O coeficiente de variação foi calculado utilizando-se a fórmula abaixo:

CV: $s \cdot 100 / \bar{x}$, sendo CV: coeficiente de variação, \bar{x} : média das concentrações da amostra e s : desvio padrão da média

Precisão

A precisão foi determinada por meio da repetitividade, expressa como desvio padrão. Para comparar a precisão entre os métodos estudados foi utilizado o teste F^{11} .

Exatidão

A determinação da exatidão foi realizada empregando-se teste de recuperação com análise de amostra de concentração conhecida adicionada de quantidades do analito em três níveis de concentração: próximo ao limite de quantificação para cada método, próximo à concentração máxima permitida pela legislação em vigor 10mg L^{-1} e próximo à concentração média da faixa de uso do método, $3,5\text{mg L}^{-1}$, expresso em nitrato (para os métodos 1, 2 e 3) e expresso em nitrogênio para o (método 4).

$$\text{Recuperação (\%)}: [(C_1 - C_2) / C_3] \cdot 100$$

Onde:

C_1 : concentração determinada na amostra adicionada

C_2 : concentração determinada na amostra não adicionada

C_3 : concentração adicionada

O t-teste(11) (comparação dos resultados do método testado com o método espectrofotométrico na região UV 220/275nm)(2) também foi aplicado para o estudo da exatidão.

Linearidade

A linearidade dos métodos foi observada pelo cálculo da equação da regressão linear, determinada pelo método dos mínimos quadrados e observando-se o coeficiente de correlação linear. Foram calculados também os resíduos entre os valores medidos e os valores calculados a partir da equação de regressão linear (cálculo do valor de t)¹⁰.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A razão de ser de um laboratório é produzir resultados analíticos confiáveis. Assim, o analista no seu dia-a-dia preocupa-se em obter resultados que afastem qualquer dúvida razoável com respeito a sua exatidão e que possuam uma precisão adequada para o propósito a que se destina¹².

A responsabilidade na emissão de dados confiáveis por um laboratório pertencente à rede oficial de laboratórios de saúde pública aumenta na medida em que os dados gerados através de programas de controle de águas para consumo humano fornecem subsídios para tomada de ações junto ao Ministério Público em relação a sua qualidade, bem como a revisão dos parâmetros da legislação pelo Ministério da Saúde.

Na água, a matéria orgânica é proveniente da matéria vegetal em decomposição e dos produtos de excreção dos animais e dos seres humanos, estando relacionada com a produção de cor, turbidez e bactérias presentes. A determinação de oxigênio consumido é um parâmetro adequado para a avaliação da presença de matéria orgânica na água, isto é, a

capacidade da água em consumir oxigênio. Uma água que não é contaminada e contém níveis baixos de matéria orgânica consumirá muito pouco oxigênio¹³.

Estudo de avaliação de 1114 amostras de águas (tratada, nascente, poço e mineral)¹⁴ revelou baixa porcentagem de condensação (menor que 0,1%) para oxigênio consumido, com resultado acima de $3,5\text{mg.L}^{-1}$. Este mesmo estudo mostrou ainda que o valor máximo de oxigênio consumido nas amostras aprovadas foi de $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de oxigênio, indicativa de baixa concentração de matéria orgânica. Baseado no exposto acima, para esse trabalho foi escolhida amostra de água natural envasada com característica semelhante em relação à matéria orgânica, fator limitante nos métodos espectrofotométricos com leitura na faixa do ultravioleta.

É fundamental que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para demonstrar, através da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzam a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida.

O intervalo de confiança é a região estimada na qual é altamente provável que se encontre o verdadeiro valor entre várias determinações obtidas, sendo esta a estratégia adotada no presente trabalho para estimar com 95% de certeza o teor de nitrato na amostra tomada como padrão. Os intervalos calculados para os métodos estão dispostos na Tabela 1.

Caulcutt e Boddy¹⁵ definem limite de detecção como a menor concentração do analito da qual temos 95% de confiança que será detectada pelo método; o Codex Alimentarius¹⁶ declara ser o limite de detecção convencionalmente aceito como três vezes o desvio padrão do branco da amostra. Os limites de detecção dos métodos estudados, calculados segundo Caulcutt e Boddy foram de 0,02; 0,04; 0,02; 0,02 mg.L^{-1} para os métodos 1 (espectrofotométrico com ácido fenoldissulfônico), 2 (espectrofotométrico direto na região do UV a 205 nm), 3 (espectrofotométrico direto na região do UV a 205 nm modificado) e 4 (espectrofotométrico na região do UV a 220 /275 nm) respectivamente, como pode ser observado na Tabela 1.

O limite de quantificação é a concentração mínima do analito a qual se consegue obter uma resposta analítica significativa e para os métodos estudados o limite de quantificação foi de 0,15; 0,2; 0,15 e 0,2 mg.L^{-1} para os métodos 1, 2, 3 e 4 respectivamente, como apresentados na Tabela 1.

A observação direta (Tabela 1) dos valores de detecção e quantificação dos quatro métodos avaliados mostra que não existe diferença aparente entre eles.

Precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. As duas formas mais comuns de expressá-la são por meio da repetitividade e reprodutibilidade, sendo usualmente expressa pelo desvio padrão. Quanto menor o desvio padrão, maior a precisão do método. Sendo assim, o método 4 é o mais preciso (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros estatísticos dos métodos estudados

	Métodos			
	1	2	3	4
Média (mg.NO ₃ L ⁻¹)	1,04	2,15	2,12	1,89
Desvio padrão (mg.NO ₃ L ⁻¹)	0,16	0,05	0,09	0,03
Intervalo de confiança (mg.NO ₃ L ⁻¹)	1,04 ± 0,1	2,15 ± 0,03	2,12 ± 0,06	1,89 ± 0,02
Coefficiente de variação (%)	15,94	2,49	4,66	1,50
Limite de detecção (mg.NO ₃ L ⁻¹)	0,02	0,04	0,02	0,02
Limite de quantificação (mg.NO ₃ L ⁻¹)	0,15	0,20	0,15	0,20

A comparação da precisão entre dois conjuntos foi realizada através do teste F¹¹, onde foi utilizada a análise da variância, tomando-se como referência o método 4 em relação aos métodos 1, 2 e 3. Nesta comparação, somente o método 2 (espectrofotométrico direto na região do UV a 205 nm) não apresentou diferença significativa entre as duas precisões ao nível de 95%, já que o resultado da equação do valor de distribuição F (2,93) foi menor que o valor de F tabelado (3,18).

O coeficiente de variação é também chamado de estimativa do desvio padrão relativo e expressa a relação porcentual da estimativa do desvio padrão em relação à média dos valores obtidos¹¹. Horwitz et al.¹⁷ demonstraram que o coeficiente de variação interlaboratorial de qualquer método não depende do instrumento utilizado, da matriz, ou técnica empregada e sim do teor em que o componente analisado se encontra na amostra. Assim por exemplo, uma concentração expressa em 1 ppm (mg L⁻¹) permite um coeficiente de variação em torno de 16%. Para um estudo intralaboratorial o valor do coeficiente de variação situa-se entre meio e um terço do valor acima (8,0 e 5,3%). Apenas o método 1 apresentou coeficiente de variação acima do estabelecido. Uma das explicações para isso pode ser devido às várias etapas no procedimento analítico exigidas nesse método.

A avaliação final dos parâmetros contidos na Tabela 1 permitiu a seleção do método 4 (espectrofotométrico na região do UV a 220/275 nm)² como referência para comparação com os outros métodos.

A linearidade é a capacidade de um método analítico em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração. A linearidade dos métodos avaliados está apresentada na Tabela 2 pelas equações de regressão linear e pelo coeficiente de correlação. O coeficiente de correlação mede a intensidade com que se manifesta uma associação linear entre duas variáveis x e y, sendo um número adimensional, que varia entre -1 e 1. Os resultados de R² dispostos na Tabela 2, próximos da unidade positiva, indicam grande concentração dos pontos em torno de uma reta imaginária e mostram a tendência de uma variável aumentar, quando a outra aumenta¹⁸.

Muitas vezes os desvios da linearidade são difíceis de serem detectados visualmente e deste modo, foi verificada a

sua adequação por meio do cálculo dos resíduos entre os valores medidos e os valores calculados a partir da equação de regressão.

Nos métodos 1, 2 e 4 os valores de t calculados para todos os pontos da curva de calibração foram menores que o valor de t tabelado demonstrando que todos os pontos pertencem à curva de calibração, confirmando a sua linearidade. Embora o coeficiente de correlação do método 3 tenha apresentado um valor positivo próximo da unidade, quando se calculou o resíduo, os valores de t calculados 10,84; 13,67; 13,34; 13,45; 17,00 e 10,07 para os pontos de concentração 1; 2; 3; 4; 5 e 7 mg.L⁻¹ da curva foram maiores que o valor de t tabelado (2,57), indicando a não linearidade da mesma.

Exatidão descreve o quanto o valor encontrado se aproxima do valor real do constituinte analisado, ou quanto o valor de certa medida varia, mais ou menos uniformemente, da quantidade de analito presente na amostra em investigação. A determinação da exatidão dos métodos foi realizada empregando-se testes de recuperação com análise de amostra contendo concentrações conhecidas e comparando-se os métodos estudados, com o método 4, selecionado como referência.

Tonks¹⁹ aceita como método exato àqueles que apresentam porcentagens de recuperação acima de 85%. As porcentagens de recuperação dos métodos estudados (Tabela 3) foram superiores a esse valor nas três faixas de concentração estudadas. Os valores da média e coeficiente de variação das porcentagens de recuperação podem ser observados na Tabela 3, evidenciando-se que o método 4

Tabela 2. Resultados da regressão linear e o coeficiente de correlação dos métodos estudados

Métodos	Regressão linear	Coefficiente de correlação (R ²)
1	y = 0,1005x + 0,0057	0,9994
2	y = 0,1518x - 0,0008	0,9998
3	y = 0,1535x - 0,0169	0,9996
4	y = 0,2498x + 0,0192	0,9994

Tabela 3. Recuperação de nitrato (%) em amostras fortificadas

Métodos	amostra (média)	mg.NO ₃ L ⁻¹ adicionado	recuperado (média)	recuperação	% média/coeficiente de variação*
1	1,04	0,15	1,17	87	89 / 11
		3,50	4,11	88	
		10,0	10,35	93	
2	2,15	0,20	2,33	87	93 / 2
		3,50	5,52	96	
		10,0	11,67	95	
3	2,12	0,15	2,25	90	92 / 1,7
		3,50	5,38	93	
		10,0	11,52	94	
4	1,89	0,20	2,85	96	100 / 2,8
		3,50	17,73	102	
		10,0	23,34	102	

* Média e coeficiente de variação das três concentrações adicionadas

obteve a melhor porcentagem de recuperação. Com relação ao coeficiente de variação, pode-se observar que para os métodos 2, 3 e 4, os valores estão adequados, pois se encontram na faixa entre 5,3 a 8,0%, já o método 1 possui um coeficiente de variação médio de 11% inadequado para o propósito.

A comparação entre as médias utilizando o teste de Tukey foi realizada apenas entre o método 4, tomado como referência e o método 2, que não apresentaram diferença significativa em relação à precisão. O método 1 por apresentar precisão e coeficiente de variação inadequados e o método 3, por apresentar precisão inadequada e desvios de linearidade foram excluídos desta avaliação estatística.

A comparação entre o método testado e o de referência não apresentou diferença estatística significativa, pois o valor calculado de t (1,03 para o método 2) foi menor que o valor de t tabelado (1,83 a uma probabilidade de 95%), demonstrando que o método testado possui a exatidão necessária para as finalidades a que se propõem.

O método espectrofotométrico na região do ultravioleta a 205 modificado (método 3) devido a seus desvios de linearidade (cálculo dos resíduos) e de precisão foi considerado inadequado para determinação de nitratos em águas para consumo humano.

O método espectrofotométrico na região do ultravioleta a 220/275nm (método 4) já referenciado pelo Standard Methods² e o método espectrofotométrico na região do ultravioleta direto a 205nm (método 2) mostraram-se os mais adequados estatisticamente quanto à exatidão e precisão. Este último estará descrito na próxima edição do livro de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz⁹, por apresentar, assim como o método 4, características de desempenho adequadas para determinação de nitrato em águas destinadas para o consumo humano, com baixo teor de matéria orgânica. Ambos, além de serem métodos de simples execução, utilizam reagente único e fornecem resultados rápidos, atendendo ao propósito dos laboratórios de saúde pública.

CONCLUSÃO

O método do ácido fenoldissulfônico (método 1), apesar de ser uma alternativa aos laboratórios que não dispõem de espectrofotômetro na região do ultravioleta, apresentou-se inadequado às finalidades pretendidas tanto pela avaliação dos parâmetros estatísticos como pela baixa operacionalidade do método que não permite resultados rápidos, utiliza-se de reagentes tóxicos e envolve várias etapas de reações, dificultando sua execução, o que pode levar a erros por parte do analista.

REFERÊNCIAS

1. Burden EHWJ. The toxicology of nitrates and nitrites with particular reference to the potability of water supplies. *Analyst* 1961; 86: 429-33.
2. American Public Health Association. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. 20^a ed. Washington (DC): APHA; 1999. p.1220.
3. Brasil, Leis, Decretos, etc. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Diário Oficial, Brasília, 26 de março de 2004, seção I, p. 266-70. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências.

4. Brasil, Leis, Decretos, etc. Resolução RDC nº 54 de 15 de junho de 2000. Diário Oficial, Brasília, 19 de junho de 2000, seção I, p. 37-8. Dispõe sobre o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de água mineral natural e água natural.
5. Bouchard DC, Williams MD, Surampalli RY. Nitrate contamination of ground water sources and potencial health effects. *J Ame Water Works Assoc* 1992; 84: 85-90.
6. Belgrano RF, Colasurdo V, Diaz OA. Métodos ultravioleta selectivo y de reducci3n com hidracina em la determinaci3n del i3n nitrato an aguas subterranas. *Quim Nova* 2003; 26(5): 766-8.
7. Oliveira JJV, Vallilo MI, Pedro AR, Zenebon O. Estudo comparativo de métodos para determinação de nitrato em águas naturais. *Rev Inst Adolfo Lutz* 1987; 47 (1/2): 25-30.
8. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físicos e químicos para análise de alimentos. 3ªed. São Paulo: O Instituto; 1985. p.533.
9. Instituto Adolfo Lutz. Grupo de Análise Físico-Química de Águas. In: Padronização de metodologia e validação de ensaios analíticos, São Paulo (SP); 2004.
10. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial [INMETRO]. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos; 2002. p.31.
11. Leite F. Validação em análise química. In: 4ªed. Campinas (SP): Ed Atomo; 2002.
12. Soares LMV. Como obter resultados confiáveis em cromatografia. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2001; 60 (1): 79-84.
13. Universidade Federal do Paraná. Controle de qualidade da água, Curitiba (PR): A Universidade; 1983.
14. Mazon EMA, Freitas VPS, Brígido BM, Badolato MIC. Avaliação das análises físico-químicas em águas para o consumo humano ano 2001. *Bol Inst Adolfo Lutz* 2003; ano 13(1): 13-6.
15. Caulcutt R, Boddy R. *Statistics for analytical chemists*, 1ª edição, Londres: Chapman and Hall; 1983. p.253.
16. Codex Alimentarius Commission. Criteria for evaluating acceptable methods of analysis for Codex purposes. Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling, Documento CX/MAS 98/5; 1998.
17. Horwitz W, Kamps LR, Boyer KW. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents. *J Assoc Off Anal Chem* 1980; 63: 1344-1355.
18. Ribeiro Júnior JI. Análises estatísticas no Excel: guia prático, Viçosa (MG):Ed. UFV; 2004, p.250.
19. Tonks DB. *Quality control in clinical laboratories*, 2ª ed., Ontario: Warner-Chilcott, 1972, 34-7.