

# A determinação de nitrato em águas por espectrofotometria UV: usos e precauções

## The nitrate determination in water by UV spectrophotometry: uses and precautions

RIALA6/1066

Marco A. M. SOUTO<sup>1</sup>, Marina M. OKADA<sup>1</sup>, Isaura A. OKADA<sup>1</sup>, Sérgio DOVIDAUSKAS<sup>1\*</sup>

\* Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Instituto Adolfo Lutz, Laboratório I de Ribeirão Preto, R. Minas, 877, CEP 14085-410, Ribeirão Preto, SP. e-mail: sdovidanskas@ial.sp.gov.br

Recebido: 31/03/2006 – Aceito para publicação: 04/07/2006

### RESUMO

Esta breve comunicação procura ressaltar algumas interferências espectrais na determinação de nitrato em águas por métodos espectrofotométricos na região UV. São analisados dois métodos: o primeiro utiliza a absorvância em 220 nm (com correção empírica para a presença de matéria orgânica) e o segundo faz a leitura da absorvância em 205 nm (sem qualquer tipo de correção). Usando este segundo método, foi realizado um estudo de interferência para o íon cloreto. Observou-se que a interferência de cloreto é notada em concentrações acima de 50 mg L<sup>-1</sup>, aproximadamente. Ademais, algumas atividades de interferência do íon nitrito e de surfatantes foram também investigadas.

**Palavras-Chave.** nitrato, espectrofotometria UV, água, interferências espectrais.

### ABSTRACT

The present short communication proposes to point out some spectral interferences on nitrate determination in water by means of UV spectrophotometry methods. Two techniques were analysed: the first technique employed absorbance value at 220 nm (with empirical correction in presence of organic material), and for the second one the absorbance value at 205 nm (without any correction factor) was used for reaction reading. Based on the second technique an interference study on chloride ion was performed. Chloride interference was noted at concentrations above 50 mg L<sup>-1</sup> approximately. Additionally, some interferences activities from nitrite and surfactants were shallowly investigated.

**Key Words.** nitrate, UV spectrophotometry, water, spectral interferences.

### INTRODUÇÃO

A determinação precisa e acurada das concentrações de nitrato em águas para consumo humano tem se tornado objeto de interesse em Saúde Pública frente à contaminação antropogênica do meio ambiente e às associações que se tem feito entre o consumo de águas com níveis elevados de nitrato e a incidência de metahemoglobinemia e de diversos tipos de câncer<sup>1,2,3,4</sup>. O íon nitrato ocorre geralmente em concentrações relativamente baixas em águas superficiais, mas pode atingir níveis altos em águas subterrâneas; é encontrado em pequenas quantidades em águas residuárias domésticas, mas alcança concentrações superiores a 30 mg de nitrato como nitrogênio por litro em efluentes de plantas de tratamento biológico nitrificante<sup>5</sup>. Um limite de 10 mg de nitrato como N/L em águas potáveis tem sido imposto em países como o Brasil<sup>6</sup> e os Estados Unidos<sup>5</sup>.

Embora existam vários métodos analíticos disponíveis, a determinação da concentração de nitrato em soluções aquosas não é tarefa trivial: os procedimentos, em sua maioria, são relativamente complexos e as faixas de concentração de alguns dos métodos analíticos são limitadas, além de existir a alta probabilidade da presença de interferentes. A cromatografia iônica, por exemplo, embora permita medidas rápidas e simultâneas com outros íons de interesse (como cloreto, fosfato, sulfato e nitrito), é uma técnica relativamente cara, não estando livre de interferentes; já métodos envolvendo a pré-redução do nitrato para nitrito em coluna de cádmio, seguido de desenvolvimento de cor por diazotização, são trabalhosos e, novamente, sujeitos à interferentes<sup>5</sup>. Assim, os métodos mais simples disponíveis, baseados em espectrofotometria na região UV, são extremamente atraentes devido não somente à simplicidade mas também devido ao baixo custo. Contudo, tais métodos também sofrem sérias limitações no que diz respeito a

interferentes, sendo imprescindível que o analista esteja atento a tal situação.

O primeiro (e mais antigo) método UV constitui-se na acidificação de 50 mL da amostra de água com 1 mL de HCl 1 mol L<sup>-1</sup>, seguindo-se leitura da absorbância em 220 nm com correção para absorção não específica (oriunda de matéria orgânica porventura presente) e comparação com curva padrão previamente estabelecida<sup>5</sup>. Esta correção totalmente empírica é baseada na leitura da absorção em 275 nm, onde nitrato não absorve. Para calcular a absorção devida ao nitrato, subtrai-se do sinal em 220 nm duas vezes a absorção em 275 nm (neste método, estima-se que a absorção devida a compostos orgânicos seja duas vezes maior em 220 nm do que em 275 nm), salientando-se que se esta correção (a absorbância em 275 nm multiplicada por 2) for maior do que 10% do valor da absorbância em 220 nm, o método não deve ser aplicado devido à suspeita de quantidade considerável de compostos orgânicos interferindo significativamente no sinal. Interessante observar que no artigo de Mazon et al.<sup>7</sup>, este critério não foi adequadamente descrito. Transcrevendo *ipsis litteris* do quarto parágrafo, primeira coluna, da página 112 da “Revista do Instituto Adolfo Lutz”, onde consta o referido artigo: “...*O valor da absorbância referente ao íon nitrato ( $\lambda=220$  nm) deve ser corrigido para interferências de compostos orgânicos ( $\lambda=275$  nm) através da fórmula:  $A = A_{220} - 2A_{275}$ . Se o valor das absorbância corrigida (A) for maior que 10% do valor da absorbância a 220 nm ( $A_{220}$ ), o método não deve ser usado...*” Usando a simbologia dos autores, a condição para ser possível a utilização do método seria  $A < 0,1 \cdot A_{220}$  – no entanto, o método original recomenda o limite  $2 \cdot A_{275} < 0,1 \cdot A_{220}$ .

Devido à sua natureza empírica, este fator de correção depende da origem da água e, conseqüentemente, pode variar; idealmente, ele deve ser estabelecido pelo analista através de estudos baseados em técnicas de adição de padrões e em análises por outros métodos analíticos (cromatografia iônica ou potenciometria com eletrodo íon seletivo, por exemplo). Em resumo: uma correção adequada poderia exigir que a absorção em 275 nm fosse multiplicada por um número diferente de 2, ou até mesmo que não fosse aplicada. Tal fato adquire importância se levarmos em consideração as dimensões de um país como o Brasil e a diversidade das origens das águas consumidas pela população nas diferentes regiões.

Este método (leitura em 220 nm, correção em 275 nm) é oriundo do “Standard Methods for Examination of Water and Wastewater”<sup>5</sup>. Curiosamente, ele foi inicialmente desenvolvido na década de 50 não para a análise de nitrato em águas, mas sim para a análise de nitrato (como contaminante) em carbonatos de metais alcalino terrosos, utilizados na indústria eletrônica como materiais de recobrimento de catodos: Bastian et al.<sup>8</sup> trataram amostras dos carbonatos com ácido perclórico, seguindo-se leituras das absorbâncias em 210 ou 220 nm – os autores decidiram não trabalhar com o comprimento de onda da máxima absorção (203 nm, nas condições analíticas empregadas) por considerar que muitas interferências tornavam-se muito mais importantes em 203 nm do que nos outros dois

comprimentos de onda, o que não justificava a relativamente pequena melhoria na sensibilidade ao se efetuar a leitura em comprimentos de onda menores. Estimaram, por exemplo, que a interferência do íon cloreto era aproximadamente 20 vezes maior em 203 do que em 210 nm. Além disso, a correção para orgânicos não foi aplicada por, simplesmente, não ser necessária: as matrizes eram inorgânicas.

Em 1961 o método para a determinação de nitrato por espectrofotometria UV em 220/275 nm foi proposto para águas potáveis em uma forma muito semelhante à atual – somente o fator de correção era diferente: Goldman e Jacobs<sup>9</sup> propuseram que a absorbância em 275 nm fosse multiplicada por 2,5 antes de ser subtraída da absorbância em 220 nm. Finalmente, este método UV, como é aplicado hoje, consta como método tentativo na 13ª edição do “Standard Methods for Examination of Water and Wastewater” de 1971<sup>10</sup> que já indicava como interferentes os surfatantes e os íons nitrito e Cr<sup>6+</sup>, além da provável presença de orgânicos – a acidificação com HCl 1 mol L<sup>-1</sup> elimina a interferência de hidróxido e de carbonatos (até 1000 mg L<sup>-1</sup>, como CaCO<sub>3</sub>).

Um segundo método UV para a análise de nitrato em águas foi proposto recentemente<sup>11</sup>. É baseado na acidificação de 100 mL da amostra de água com 1 mL de HCl 1 mol L<sup>-1</sup>, seguindo-se leitura da absorbância em 205 nm (sem qualquer tipo de correção) e comparação com curva padrão previamente estabelecida. Chama a atenção na descrição deste método, a falta de qualquer tipo de informação a respeito de interferentes, principalmente levando-se em consideração a região de comprimentos de onda que faz uso, muito sujeita à absorção não somente de compostos orgânicos mas também de espécies inorgânicas como Cl<sup>-</sup>, por exemplo, como discutido anteriormente.

Desta forma, e focalizando a atenção na questão das interferências espectrais, é objetivo desta comunicação fazer uma contribuição inicial à discussão quanto à segura e confiável aplicabilidade do método UV de leitura direta da absorbância em 205 nm na determinação de nitrato em águas para consumo humano, frente a suas limitações intrínsecas (oriundas da região do espectro eletromagnético em que procura trabalhar), tendo em vista sua recente proposição no livro “Métodos físico-químicos para análise de alimentos”<sup>11</sup>, preparado pelo Instituto Adolfo Lutz e editado pelo Ministério da Saúde.

## MATERIAL E MÉTODOS

O HCl, o KNO<sub>3</sub>, o NaNO<sub>2</sub> e o NaCl utilizados (todos da marca Merck) eram de grau analítico. O detergente neutro Extran® (Merck) foi utilizado diluindo-se o produto concentrado. As soluções padrão 100 mg L<sup>-1</sup> em NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 100 mg L<sup>-1</sup> em NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e 1000 mg L<sup>-1</sup> em Cl<sup>-</sup> foram preparadas como descrito na literatura<sup>11</sup> a partir de KNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub> e NaCl, respectivamente.

As medidas de absorbância, assim como o registro dos espectros eletrônicos de soluções aquosas de NaCl, de NaNO<sub>2</sub> e de Extran® neutro, foram realizadas em espectrofotômetro marca Hach modelo DR 4000U.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No intuito de constatar a extensão da absorção de cloreto na região UV de interesse, foram preparadas 5 soluções padrão de  $\text{Cl}^-$  em água destilada e desionizada, a partir de diluições da solução padrão  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ . Após as preparações, as soluções continham 50, 100, 150, 250 e  $350 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cl}^-$ . Esta última concentração foi incluída no estudo por ser aproximadamente a mesma que a produzida pela adição de  $1 \text{ mL}$  de  $\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$  a  $100 \text{ mL}$  de água isenta de cloretos. Os espectros eletrônicos foram então registrados entre 200 e  $225 \text{ nm}$  e estão mostrados na Figura 1A, onde podemos observar que, realmente, a absorção de cloreto torna-se cada vez maior à medida que decresce o comprimento de onda, sendo menos significativa em  $210 \text{ nm}$  e nula em  $220 \text{ nm}$ . O coeficiente de absorção molar ( $\epsilon$ ) em  $205 \text{ nm}$  foi estimado em  $3,1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$  (a solução  $1 \text{ mL}$  de  $\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}/100 \text{ mL}$  de água apresentou uma absorbância em torno de 0,028). A alternativa de se utilizar  $\text{H}_2\text{SO}_4$  nas mesmas condições ( $1 \text{ mL}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}/100 \text{ mL}$  de água) diminuiria a interferência espectral pois a absorbância em  $205 \text{ nm}$  nestas condições é, aproximadamente, 0,010, mas a possibilidade de turvação da solução pela precipitação de sulfatos pouco solúveis poderia comprometer o resultado, uma vez que os dois métodos aqui discutidos são de calibração univariada. Por exemplo: ao se adicionar  $1 \text{ mL}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  a  $100 \text{ mL}$  de uma amostra de água contendo

$20 \text{ mg}$  de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $500 \text{ mg L}^{-1}$  como  $\text{CaCO}_3$ , o valor máximo permitido para a dureza de uma água para consumo humano segundo a Portaria 518<sup>6</sup>), o quociente de reação de precipitação  $Q_{\text{ps}}$  do  $\text{CaSO}_4$  é aproximadamente  $2,5 \times 10^{-5}$ , um valor um pouco maior que o produto de solubilidade  $K_{\text{ps}}$  do  $\text{CaSO}_4$  (igual a  $2,4 \times 10^{-5}$  a  $25^\circ\text{C}$ )<sup>12</sup>; a interferência pode adquirir mais importância se a amostra de água estiver sujeita à presença de outros cátions que produzam sulfatos com valores de  $K_{\text{ps}}$  ainda menores (por exemplo, os íons contaminantes  $\text{Ba}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ )<sup>12</sup>.

Para estimar o impacto desta absorção de cloreto em  $205 \text{ nm}$  na determinação de nitrato em águas através do método proposto pelo Instituto Adolfo Lutz<sup>11</sup>, foram preparadas 35 soluções padrão  $1,00 \text{ mg L}^{-1}$  em nitrato a partir da solução estoque  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , contaminando-se as soluções com concentrações crescentes de cloreto a partir da solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  em cloreto. Cada contaminação foi efetuada em 7 réplicas e cada solução apresentou um volume final de  $100 \text{ mL}$ . Assim, 7 soluções padrão  $1,00 \text{ mg L}^{-1}$  em nitrato não foram contaminadas (concentração de cloreto adicionado na forma de  $\text{NaCl} = 0 \text{ mg L}^{-1}$ ), outras 7 foram contaminadas com  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cl}^-$ , outras 7 com  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Cl}^-$ , e assim sucessivamente até uma contaminação máxima de  $250 \text{ mg L}^{-1}$  em  $\text{Cl}^-$  (esta concentração coincide com o valor máximo permitido para cloreto segundo a Portaria 518<sup>6</sup>, que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de

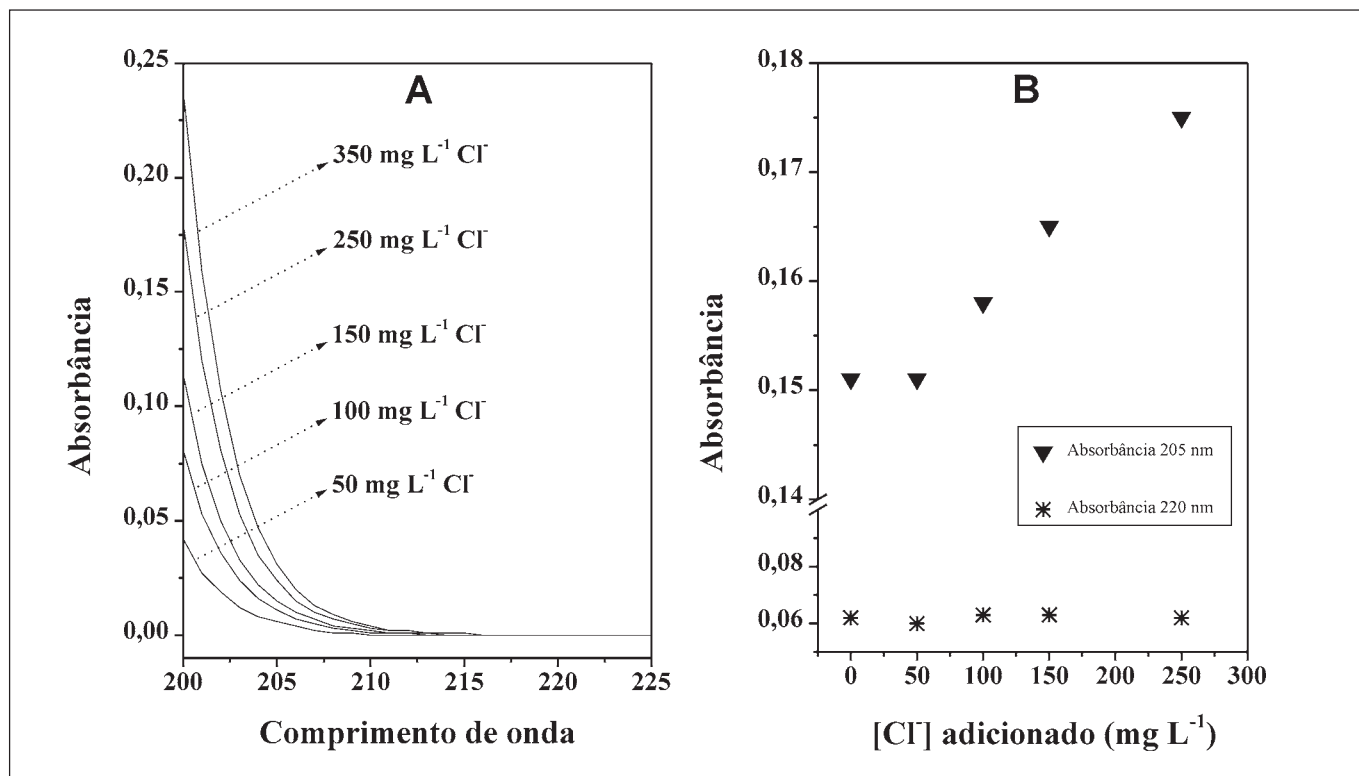


Figura 1. (A) Espectros eletrônicos de soluções padrão de cloreto. (B) Absorção em 205 e  $220 \text{ nm}$  de soluções padrão  $1,00 \text{ mg L}^{-1}$  em nitrato, contaminadas com concentrações crescentes de cloreto.

potabilidade). A seguir, após a adição de 1 mL de HCl 1 mol L<sup>-1</sup> a cada solução, foram realizadas as leituras de absorbância em 205 e 220 nm. Os resultados, mostrados na Figura 1B, sugerem que a interferência positiva de cloreto na absorção de nitrato em 205 nm passa a ser observada a partir de 50 mg L<sup>-1</sup>, aproximadamente. Por outro lado, pode também ser observado nesta Figura 1B que a absorção em 220 nm de soluções padrão 1,00 mg L<sup>-1</sup> em nitrato não sofre interferência na faixa de concentração de cloreto investigada (0 a 250 mg L<sup>-1</sup>).

Esta interferência positiva de cloreto conduz a uma questão prática importante: ao utilizarmos o método proposto pelo Instituto Adolfo Lutz, estamos introduzindo um interferente através da adição de 1 mL de HCl 1 mol L<sup>-1</sup>. Para que esta adição não resulte em desvios de exatidão, o branco da análise (água destilada e desionizada), as soluções padrão da curva de calibração e as amostras de água devem receber exatamente a mesma quantidade de HCl. Tal fato não é salientado na descrição do método e adquire importância se levarmos em consideração que é prática comum fazer este tipo de adição através de pipetas graduadas não calibradas (ou de outros dosadores não calibrados). Interessante notar que Mazon et al.<sup>7</sup>, ao modificar este método fazendo a adição de 1 mL de HCl 1 mol L<sup>-1</sup> a 50 mL das soluções padrão de nitrato e das amostras, observaram desvios de linearidade da curva de calibração além de perda de precisão: uma provável origem para estas dificuldades pode estar relacionada ao aumento da concentração do interferente Cl<sup>-</sup> (de 350 para 700 mg L<sup>-1</sup>,

aproximadamente) ao se diminuir o volume das soluções – uma variação, por exemplo, de ± 10% no volume adicionado de HCl (0,9 a 1,1 mL) produziria concentrações de Cl<sup>-</sup> na faixa de 630 a 770 mg L<sup>-1</sup>, causando diferentes contribuições ao sinal supostamente oriundo apenas do íon nitrato.

Outro possível interferente inorgânico no método proposto pelo Instituto Adolfo Lutz é o íon nitrito. A acidificação com 1 mL de HCl 1 mol L<sup>-1</sup> conduz à formação de HNO<sub>2</sub> propiciando, inclusive, mecanismos mais favoráveis para a transformação nitrito → nitrato: HNO<sub>2</sub> em meio aquoso prontamente desproporciona-se através da reação  $3\text{HNO}_{2(aq)} \rightarrow \text{NO}_{3(aq)}^- + 2\text{NO}_{(g)} + \text{H}_3\text{O}_{(aq)}^+$ , com potencial padrão e constante de equilíbrio iguais a 0,05V e 50, respectivamente<sup>13</sup>. Esta acidificação reduz a absorção na região, mas não a níveis que possam ser negligenciados, como indicado na Figura 2A. Nesta figura também podemos observar a já relatada interferência deste íon no método descrito no “Standard Methods for Examination of Water and Wastewater” (leitura da absorbância em 220 nm)<sup>5</sup>.

Um outro interferente citado no método do “Standard Methods for Examination of Water and Wastewater” e que também influencia os resultados no método proposto pelo Instituto Adolfo Lutz é a presença de surfatantes. A Figura 2B mostra o espectro eletrônico de um surfatante muito utilizado por laboratórios na limpeza de vidrarias de precisão. Interessante observar que, neste caso, apesar da significativa absorção na região de interesse, o monitoramento de orgânicos pela leitura

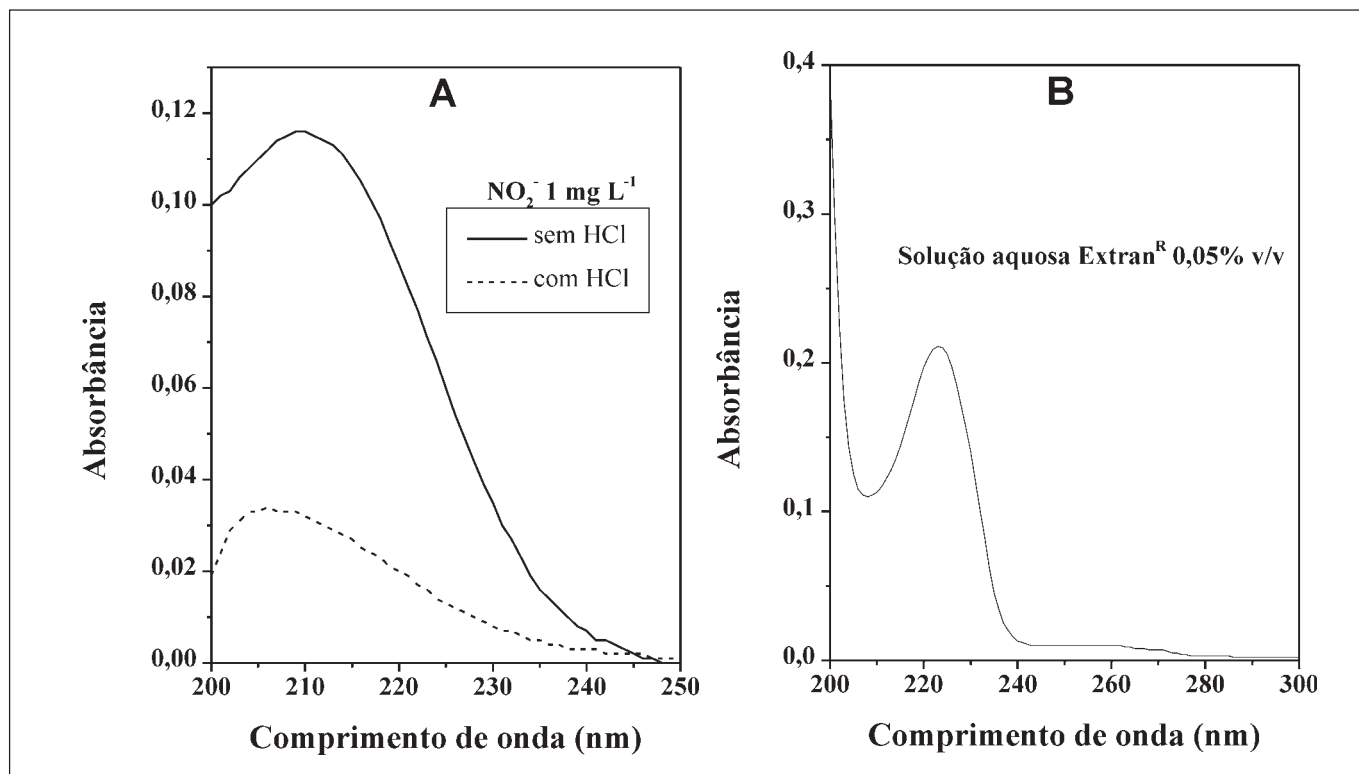


Figura 2. (A) Espectros eletrônicos de solução aquosa de nitrito 1 mg L<sup>-1</sup> na ausência (linha cheia) e presença (linha tracejada) de HCl. (B) Espectro eletrônico de solução aquosa de Extran® neutro 0,05 % v/v. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6(2): 89-117.



da absorvância em 275 nm não produziria o efeito esperado, ou seja, um controle sobre a presença do contaminante interferindo no sinal analítico, uma vez que o surfatante analisado possui absorção muito baixa em 275 nm. Em resumo: ambos os métodos ("Standard Methods for Examination of Water and Wastewater" e Instituto Adolfo Lutz) são vulneráveis a este tipo de interferência.

## CONCLUSÕES

Métodos espectrofotométricos UV para a determinação de nitrato em águas são extremamente atraentes devido à simplicidade e ao baixo custo, mas o uso de tais métodos deve ser criterioso tendo em vista as interferências na região do espectro em que procuram trabalhar e o conhecimento prévio que se deve ter da origem da amostra de água a ser analisada. O método oriundo do "Standard Methods for Examination of Water and Wastewater", embora inclua em seu procedimento uma correção para a presença de orgânicos, não é absolutamente infalível neste propósito pois a correção é essencialmente empírica. Por outro lado, o método proposto pelo Instituto Adolfo Lutz, que apresenta a deficiência de introduzir o interferente íon cloreto, além de presumir já antes da análise da água que se trata de uma amostra sem qualquer tipo de contaminação orgânica, presume também que espécies inorgânicas não estarão presentes em quantidades suficientes para causar interferências. Se considerarmos a diversidade de origens das águas para consumo humano em um país com as dimensões do Brasil, tais suposições podem conduzir a resultados carentes de exatidão.

O exposto acima indica que os dois métodos espectrofotométricos UV citados para a determinação de nitrato em águas não devem ser utilizados como análises conclusivas, mas, isto sim, podem atuar como uma avaliação exploratória inicial, procurando-se determinar aproximadamente a faixa de concentração de  $\text{NO}_3^-$ , de modo a escolher a estratégia analítica mais adequada à análise (diazotização, cromatografia de íons, etc), como já sugerido anteriormente<sup>5,10</sup>. Por exemplo: o método de leitura em 220 e 275 nm poderia ser o mais útil para realizar de forma exploratória um grande número de amostras de águas potáveis para verificar a aceitabilidade tendo-se em mente a Saúde Pública – se alguma amostra apresentasse teor significativo de  $\text{NO}_3^-$ , este teor poderia ser confirmado por técnicas alternativas.

Apesar das dificuldades apontadas, a espectrofotometria UV, assim como outras técnicas analíticas, têm tido a gama de aplicações significativamente aumentada, assim como melhorada a qualidade dos resultados, pela aplicação de métodos quimiométricos<sup>14</sup>. Karlsson et al.<sup>15</sup>, por exemplo, utilizaram a espectrofotometria UV com calibração multivariada na determinação de nitrato em águas residuárias da cidade de Estocolmo (Suécia), sem qualquer tipo de pré-tratamento (como

filtração, decantação, etc) ou adição de reagentes, utilizando 316 valores de absorvância na faixa entre 190 a 820 nm. Segundos os autores, outros analitos podem também ser simultaneamente determinados quantitativamente (como fósforo total, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal e ferro). Contudo, os mesmos autores alertam que o modelo de calibração desenvolvido não implica que o mesmo possa ser utilizado em áreas geográficas com diferentes parques industriais daquele existente em Estocolmo.

## REFERÊNCIAS

1. Baird C. Environmental Chemistry. 2<sup>nd</sup> ed. New York: W. H. Freeman and Company; 2000.
2. Weyer PJ, Cerhan JR, Kross BC, Hallberg GR, Kantamneni J, Breuer G, et al. Municipal drinking water nitrate level and cancer risk in older women: the Iowa women's health study. *Epidemiology* 2001;11:327-38.
3. Ward MH, Mark SD, Cantor KP, Weisenburger DD, Correa-Villasenor A, Law GR, et al. Non-Hodgkin's lymphoma and nitrate in drinking water. *J Epidemiol Community Health* 2000;54:772-3.
4. Cocco P, Broccia G, Aru G, Casula P, Muntoni S, Cantor KP, et al. Nitrate in community water supplies and incidence of non-Hodgkin's lymphoma in Sardinia, Italy. *J Epidemiol Community Health* 2003;57:510-1.
5. American Public Health Association (US), American Water Works Association (US), Water Environment Federation (US). Inorganic nonmetallic constituents / Nitrate. Eaton AD, Clesceri LS, Greenberg AE, editores. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 19<sup>th</sup> ed. Washington (DC): American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation; 1995. p. 4-85 e 4-86.
6. Brasil. Portaria nº 518 de 2004 do Ministério da Saúde. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 mar. 2004.
7. Mazon EMA, Oliveira ACG, Brígido BM, Freitas VPS. Estudo comparativo de métodos para a determinação de nitrato em águas para consumo humano. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2005;64:110-6.
8. Bastian R, Webwerling R, Paliilla F. Ultraviolet spectrophotometric determination of nitrate - Application to analysis of alkaline earth carbonates. *Anal Chem* 1957;29:1795-7.
9. Goldman E, Jacobs R. Determination of nitrates by ultraviolet absorption. *J Am Water Works Assoc* 1961;53:187-91.
10. American Public Health Association (US), American Water Works Association (US), Water Pollution Control Federation (US). Physical and chemical examination of natural and treated waters in the absence of gross pollution / Nitrogen (Nitrate). Taras MJ, Greenberg AE, Hoak RD, Rand MC, editores. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 13<sup>th</sup> ed. Washington (DC): American Public Health Association (US), American Water Works Association (US), Water Pollution Control Federation (US); 1971. p. 237-9.
11. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos 4<sup>a</sup> ed. Brasília: Ministério da Saúde / Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2005.
12. Atkins P, Jones L. Princípios de Química - Questionando a vida moderna e o meio ambiente. Cararelli I, Zukerman-Spector J, Camillo RL, Lemos FCD, Santos RHA, Gambardella MTP et al tradutores. Porto Alegre: Bookman; 2002.
13. Shriver DF, Atkins PW. Inorganic Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford: Oxford University Press; 1999. p.384.
14. Miller JN, Miller JC. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. 4<sup>th</sup> ed. Dorchester: Pearson Education Limited; 2000.
15. Karlsson M, Karlberg B, Olsson RJO. Determination of nitrate in municipal waste water by UV spectroscopy. *Anal Chim Acta* 1995;312:107-13.