

DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ÓPTICOS DE BAIXO CUSTO PARA MONITORAMENTO DE NITROGÊNIO AMONICAL EM VIVEIROS DE PISCICULTURA

SILVA, M. S.¹; ROMANHOLO, P.V.V. ²; MARCIONÍLIO, S. M. L. O.¹ SGOBBI, L. F.²

¹Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 75906-750, Rio Verde Goiás, Brasil

²Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, 74690-900, Goiânia-GO, Brasil;

RESUMO

A busca por métodos de detecção de nitrogênio amoniacal que ofereçam praticidade, e que possam ser realizados *in loco*, que sejam financeiramente viáveis e de baixa complexidade, tem recebido um considerável avanço, como por exemplo, através da utilização de sensores ópticos. Assim, objetivou-se desenvolver uma ferramenta óptica portátil e de baixo custo para o monitoramento de nitrogênio amoniacal em água de piscicultura, utilizando papel para identificar a alteração de cor na presença de diferentes concentrações de reagente. Observou-se que o sensor proposto para detectar NH_4OH é promissor, visto que já se obteve a detecção de amônio em altas concentrações. Apesar disso, a ideia é diminuir essas concentrações para cerca de 10ppm para garantir que o mesmo poderá ser utilizado em amostras reais de água de piscicultura, para tanto será necessário realizar otimizações nas condições do Reagente de Riegler para que a detecção seja permanente e precisa.

Palavras-chave: sensor óptico; nitrogênio amoniacal; piscicultura.

INTRODUÇÃO

A detecção convencional de nitrogênio amoniacal em água de piscicultura pode ser considerada complexa se levar em consideração a necessidade de equipamentos de alto custo, o treinamento de pessoas qualificadas, e a dificuldade de coleta e transporte das amostras ambientais até os laboratórios. Uma alternativa aos métodos convencionais é o uso de sensores ópticos para o monitoramento ambiental, que apresenta benefícios devido à possibilidade de criação de dispositivos portáteis, de baixo custo e que permitem um monitoramento rápido feito no local de interesse. Uma das formas de desenvolver estes dispositivos sensores, é pelo uso de papéis, que apresentam baixo custo, e que, com a utilização de determinados reagentes, podem sofrer alteração de cor e contribuir para a confirmação da presença ou ausência de contaminação ambiental (MATTEIS, et al. 2020).

Uma característica preocupante das águas de piscicultura é a eutrofização, causada por contaminação ambiental. De acordo com Vista (2017), este fator pode ocorrer devido ao aumento excessivo da quantidade de nutrientes disponíveis no meio. Conforme é realizado o arraçoamento nos viveiros de piscicultura, há um aumento na concentração de matéria orgânica

no meio. Com a elevação de nutrientes, a possibilidade de eutrofização aumenta devido à proliferação de algas e conseqüentemente, os peixes são submetidos a um estresse considerável.

A maneira que os nutrientes se encontram nos criatórios, se dá principalmente em função do pH. A faixa ideal de pH na piscicultura, está entre 6,5 e 8,0. Conforme este valor aumenta, e se aproxima de 10, o nitrogênio será encontrado como amônia NH_3 que apresenta toxicidade aos peixes. Por isso, é importante monitorar periodicamente os níveis de nitrogênio amoniacal no meio (HURTADO, 2018).

Considerando a necessidade de estudos para detectar parâmetros da qualidade da água de piscicultura de maneira eficiente e acessível, o presente projeto de pesquisa, visa propor a elaboração de sensores ópticos de papel para possibilitar a identificação e quantificação de nitrogênio amoniacal em água de piscicultura. Assim, objetiva-se desenvolver uma ferramenta óptica portátil e de baixo custo para o monitoramento de nitrogênio amoniacal em água de piscicultura, utilizando papel para identificar a alteração de cor na presença de diferentes concentrações de reagente.

MATERIAL E MÉTODOS

a) Fabricação e otimização da configuração do dispositivo analítico baseado em papel

A fabricação do dispositivo óptico em papel para detecção dos parâmetros de qualidade da água de piscicultura foi baseada no uso de canetas permanentes (NIE, 2012). O processo de fabricação envolveu o uso de molde impresso, e a demarcação feita com caneta permanente no papel para formar barreiras hidrofóbicas e delimitar as zonas de detecção. Essa técnica é rápida, barata e permite a fabricação de grande número de dispositivos. O tipo de papel utilizado foi avaliado, considerando a absorção das soluções de análise e efeito de capilaridade. Inicialmente, foram avaliados papéis de filtro qualitativo e quantitativo (velocidades alta, média e baixa). Após a demarcação do padrão na superfície do papel, este permaneceu em superfície plana a fim de evitar que a tinta da caneta escorresse. Foram realizados testes iniciais a fim de determinar se a necessidade de se desenhar em apenas um lado do papel, ou em ambos os lados. Inicialmente, o padrão consistiu em microzonas circulares (5mm) que foram posteriormente modificadas com os reagentes específicos para detecção de cada parâmetro.

b) Modificação das microzonas de detecção colorimétrica dos parâmetros

Inicialmente, foi avaliada a detecção de nitrogênio amoniacal, usando reagente específico, que reagiu formando um produto colorido que foi quantificado. A escolha do reagente considerou a especificidade com o parâmetro de interesse, e a formação de transição de cor para valores de comprimento de onda distintos. Para a identificação de nitrogênio amoniacal em água foi escolhido o teste de Riegler, utilizando soluções de paranitroanilina e ácido clorídrico que foram gotejadas na microzona e após sua secagem estava pronta para análise. A figura 1 mostra a reação entre a paranitroanilina e a amônia (TAN, 2012).

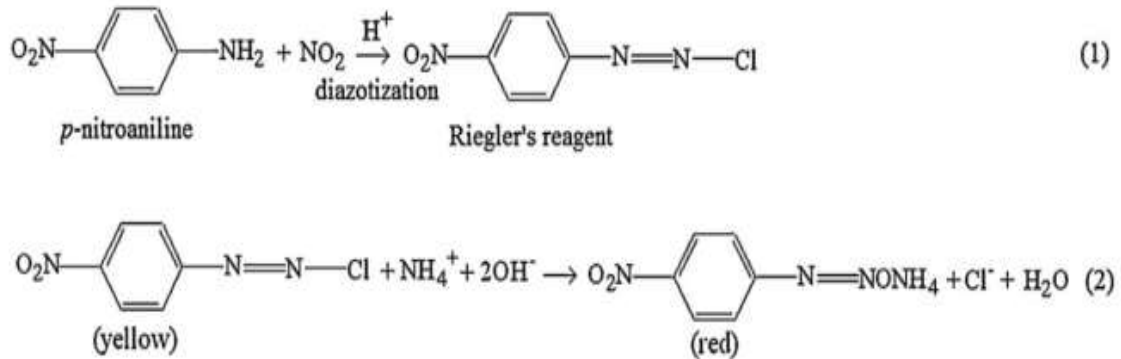


Figura 1. (1) Reação de diazotização entre p-nitroanilina e NO_2^- e (2) reação química entre o reagente de Riegler e NH_4^+

A reação de diazotização entre a paranitroanilina e o nitrito e nitrato, permite uma alteração da coloração amarela para vermelha na presença de hidróxido de sódio.

c) *Síntese do reagente de Riegler e Preparo de Hidróxido de Amônio*

O Reagente de Riegler utilizado para detectar nitrogênio amoniacal foi preparado em diferentes condições, conforme tabela a seguir:

Tabela 1. Condições propostas para o preparo do Reagente de Riegler.

Riegler	Condição 1	Condição 2	Condição 3
Nitrito	5%	5%	5%
HCl	2mol/L	0,2mol/L	0,1mol/L
P-nitroanilina	0,4g	0,4g	0,2
Temperatura	200°C	200°C	150°C

Tempo de Aquecimento HCl + P-nitroanilina: Até dissolver totalmente: em torno de 15 minutos. Tempo de resfriamento: 2min. em baixo da torneira e após acrescentar o nitrito agitação intensa por 2 minutos. As soluções foram preparadas em água ultrapura.

As concentrações utilizadas de Hidróxido de Amônio foram C1=10.000ppm; C2=1000ppm; C3=500ppm; C4=250ppm; C5=100ppm e C6=50ppm, C7= 25ppm; C8=10ppm; C9=5ppm; C10=1ppm; Foram desenhadas 12 zonas, sendo Z1 a Z10 referentes a concentração C1 a C10 respectivamente, zona 11=Riegler puro e Zona 12=Riegler e tampão, indicando o branco. Inicialmente, preparou-se uma solução estoque de Hidróxido de Amônio a partir do Reagente concentrado (Hidróxido de Amônio – PA 30%). Para a solução estoque na concentração de 10.000ppm utilizou-se água ultrapura, e para preparar as soluções das demais concentrações partindo da concentração C1, utilizou-se tampão de fosfato dibásico e monobásico para que o pH fosse mantido em 7,0. As microzonas de detecção foram preparadas adicionando 1,5ul de reagente de Riegler e aguardando o período de penetração no papel por dois minutos. Após os dois minutos de secagem, adicionou-se em cada microzona 1,5ul de soluções de amônia, com concentração variando de 10.000 a 50 ppm, conforme descrito anteriormente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) *Fabricação e otimização da configuração do dispositivo analítico baseado em papel*

Utilizou-se papel filtro quantitativo para realizar a confecção dos dispositivos analíticos, por ser um papel de fácil aquisição e baixo custo. Para fabricar os dispositivos de papel, utilizou-se molde impresso e caneta permanente para desenhar as zonas de detecção. Desenhou-se dos dois lados do papel e em um dos lados foi aplicado fita durex para evitar possíveis vazamentos do reagente utilizado.

A Figura 2 a seguir apresenta o molde impresso para elaboração das microzonas e o papel com as demarcações.

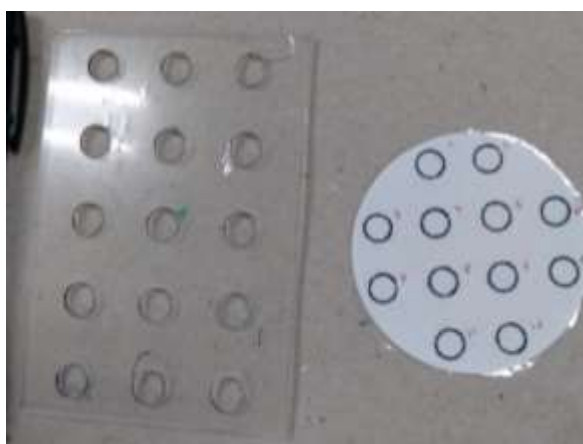


Figura 2. Molde impresso; papel com as demarcações feitas com caneta permanente

Conforme apresentado na Figura 2, as zonas de detecção foram desenhadas com caneta permanente dos dois lados do papel. Fatores como a espessura da ponta da caneta e a quantidade de camadas, foram corrigidos e aprimorados mediante testes laboratoriais.

b) *Interação entre Reagente de Riegler e Hidróxido de Amônio*

Na condição 1 apresentada na Tabela 1, utilizando ácido clorídrico 2 mol/L, o reagente de Riegler apresentou coloração amarela e não houve mudança de cor em nenhuma das concentrações propostas. Este resultado pode ser explicado devido ao fato do pH do reagente estar muito ácido e, neutralizando o NH_4OH adicionado, impedindo a reação com a p-nitroanilina. Para corrigir esse fator, foi realizado o teste novamente utilizando a condição 2, diminuindo a concentração do ácido usado para preparar o reagente de Riegler. Apesar de ocorrer inicialmente a mudança de cor, a instabilidade mostrou-se aparente. Não permanecia a coloração no papel após alguns minutos. Testou-se então a condição 3, utilizando menor quantidade de p-nitroanilina e menor concentração de ácido clorídrico.

A temperatura foi diminuída em 50°C na condição 3, para analisar se haveria alguma interferência nos resultados do Reagente de Riegler. A terceira condição proposta foi a que

obteve resultados mais significativos. A Figura 2 mostra os resultados obtidos pela aplicação do reagente de Riegler no papel comparando a condição 1, 2 e 3.

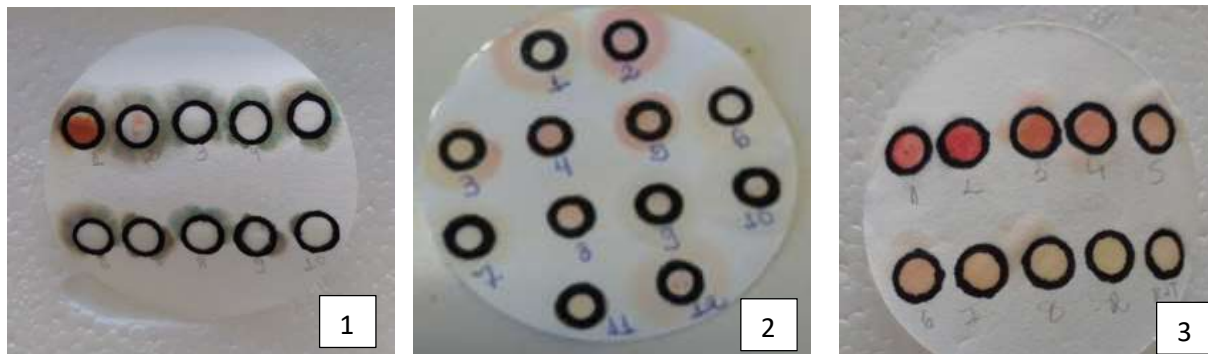


Figura 3. Comparação das condições 1, 2 e 3 do Reagente de Riegler

Nas três condições, a solução de NH_4OH foi preparada em solução tampão pH 7,0, para que não houvesse predominância do NH_3 . Para condição 1, a concentração de 10.000ppm de hidróxido de amônio apresentou uma coloração vermelha, mas a partir dessa concentração não houve mais alteração de cor. Em 2, percebe-se que a coloração vermelha começou a aparecer, no entanto o melhor resultado foi para a parte 3, onde se pode observar a alteração gradual da cor amarelo para vermelho com as intensidades sendo diminuídas conforme as concentrações eram menores. Essa foi a condição que apresentou melhor resultado e alteração da cor permaneceu no papel por maior tempo, cerca de uma hora, sendo que após a secagem a cor vermelha permaneceu, perdendo apenas a intensidade.

A tabela a seguir mostra a comparação de cada condição testada indicando o resultado obtido.

Tabela 2. Comparação entre as condições de preparo de Riegler e as concentrações

Riegler	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
Condição 1	R	PR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Condição 2	R	R	R	PR	PR	NR	NR	NR
Condição 3	R	R	R	R	R	PR	NR	NR

PR= pouco reativo / R= reativo / NR= não reativo

Conforme apresentado pela tabela a condição que demonstrou melhor resultado foi a terceira, onde pode-se observar a alteração da coloração amarela para vermelha por mais tempo e menores concentrações. No entanto, o reagente de Riegler aplicado e seco não apresenta bom funcionamento em nenhuma condição. Após 20 minutos da aplicação do Riegler, não há mais ocorrência da mudança de cor em nenhuma das condições e, portanto, testes ainda estão sendo feitos no laboratório para otimizar o funcionamento do Riegler. Ressalta-se que o reagente de Riegler é aplicado no dispositivo de papel e após 2 minutos as concentrações de amônia já são aplicadas, tendo a ocorrência da reação. No caso de amostras reais, esse fator deverá ser otimizado pois não é possível aplicar o Riegler diretamente em campo, ele deverá vir no dispositivo, por isso os testes precisam fluir bem com o Riegler seco no papel, motivo do estudo

contínuo desta proposta. Além disso, o reagente de Riegler na condição 3 apresenta alteração de cor satisfatória apenas até certa concentração. Para concentrações abaixo de 100ppm ainda não pode ser perceptível a mudança de cor, permitindo a visualização apenas da cor real do reagente de Riegler, que é naturalmente amarelo.

c) Otimização das zonas hidrofóbicas – camadas

Além da alteração da cor, outro fator importante de se analisar é observar a zona de detecção, onde irá ocorrer a reação entre o reagente e o analito de interesse. Nesse caso, é necessário que não ocorra vazamentos para fora da área delimitada. Para corrigir a situação foi realizado o desenho de duas camadas com a caneta permanente dos dois lados do papel, sendo que o verso do papel foi isolado com fita isolante para evitar vazamento. A figura 4 mostra a comparação entre as microzonas de detecção desenhadas sem o isolamento e com uma camada de cada lado, e duas camadas, com isolamento em um dos lados.



Figura 4. Comparação das zonas de detecção.

A figura 4 apresenta a zona de detecção com caneta permanente de ponta grossa desenhada com duas camadas dos dois lados do papel e 1,5 microlitros de reagente de Riegler com 1,5 microlitros de solução de hidróxido de amônio na concentração de 10.000ppm. É de fundamental importância que a zona de detecção seja bem delimitada para que não ocorra vazamentos e a reação ocorra apenas no local indicado.

CONCLUSÕES

O desenvolvimento de sensores de baixo custo, miniaturizados, de fácil operação, com possibilidade de realização de análises em campo é de grande interesse para a área de monitoramento ambiental. O tipo de papel selecionado mostrou bom funcionamento e apresenta-se promissor para a continuidade das pesquisas. A interação entre Reagente de Riegler e o Hidróxido de Amônio também fluiu como o esperado e, portanto, os objetivos do trabalho foram atendidos. Apesar disso, a concentração de detecção ainda está elevada e necessita-se de melhorias nas técnicas aplicadas para que concentrações menores que 50ppm possam ser monitoradas. No entanto, o dispositivo sensor de papel proposto, pode funcionar como método de triagem, apresentando baixo custo e podendo ser uma alternativa aos métodos convencionais, sendo então muito útil para locais precários onde não existe a possibilidade de realizar análises laboratoriais.

REFERÊNCIAS

HURTADO, F. B.; FIGUEIREDO, F. M.; COSTA, R. L.; BOMFIM, S. C., QUEIROZ, C. B.; PONTES, W. P. Parâmetros limnológicos em viveiros de piscicultura semi-intensiva de Tambaqui com abastecimento em disposição sequencial. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 11, n. 1, p. 9-30, 2018.

MATTEIS, D. V. CASCIONE, M., FELLA, G., MAZZOTTA, L., & RINALDI, R. Colorimetric Paper-Based Device for Hazardous Compounds Detection in Air and Water: A Proof of Concept. **Sensors**, v. 20, n. 19, p. 5502, 2020.

NIE, J.; ZHANG, Y.; LIN, L., ZHOU, C.; LI, S.; ZHANG, L.; LI, J. Low-cost fabrication of paper-based microfluidic devices by one-step plotting. **Analytical chemistry**, v. 84, n. 15, p. 6331-6335, 2012.

TAN, L. L.; MUSA, A.; LEE, Y. H. Reflectance based optical fibre sensor for ammonium ion using solid-state Riegler's reagent. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 173, p. 614-619, 2012.

VISTA, Campus Cuiabá–Bela. **Avaliação dos Parâmetros de Qualidade da Água em Viveiros de Piscicultura no Município de Livramento–MT**. 2017.