



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICO-QUÍMICA E ANALÍTICA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO COM HABILITAÇÃO INDUSTRIAL**

ALINE MAIA FERREIRA ALBANO

**INFLUÊNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA TOTAL NA ANÁLISE DE
NITROGÊNIO TOTAL, POR ESPECTROFOTOMETRIA DERIVATIVA (ED)**

FORTALEZA

2015

ALINE MAIA FERREIRA ALBANO

**INFLUÊNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA TOTAL NA ANÁLISE DE
NITROGÊNIO TOTAL, POR ESPECTROFOTOMETRIA DERIVATIVA (ED)**

Monografia apresentada ao Curso de Química Bacharelado do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Química Industrial.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Helena Becker.

Fortaleza

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- A286i Albano, Aline Maria Ferreira.
Influência da matéria orgânica total na análise de nitrogênio total, por espectrofotometria derivativa (ED). / Aline Maia Ferreira Albano. – 2015.
34 f. : il. color.
- Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Físico-química e analítica, Bacharelado em Química, Fortaleza, 2015.
Orientação: Profª. Dra. Helena Becker
1. Espectrofotometria. 2. Química. I. Título.

ALINE MAIA FERREIRA ALBANO

**INFLUÊNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA TOTAL NA ANÁLISE DE
NITROGÊNIO TOTAL, POR ESPECTROFOTOMETRIA DERIVATIVA (ED)**

Monografia apresentada ao
Curso de Química Bacharelado
do Departamento de Química
Analítica e Físico-Química da
Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para a
obtenção do Título de Bacharel
em Química Industrial.

Aprovada em 05/02/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Helena Becker
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a Ms. Maria do Socorro Pinheiro da Silva
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Francimeyre Freire Avelino
Companhia de Gestão dos Recursos Hídricos (COGERH)

A Deus.

Aos meus pais, Rosa Albano e José Maia.

A minha irmã Cristiane Maia e sobrinha
Clarice.

Ao meu namorado, Diego Henrique.

AGRADECIMENTOS

A Prof.^aDr.^a. Helena Becker e a prof.^aMs Socorro pinheiro por toda a ajuda na construção, desenvolvimento e orientação deste trabalho;

A minha família, especialmente a minha mãe e sobrinha, Rosa Albano e Clarice, por todo apoio emocional e carinho;

Aos meus amigos que fiz ao longo deste curso: Monica Machado, Jessica Miranda, Tiago Melo e Diego Henrique, aos demais amigos e aos amigos de fora da universidade: Rafaela Liberato e Levi Nepomuceno por todo apoio e as boas histórias geradas.

Ao grupo LAQUIM e LAQA por toda ajuda, parceria e desenvolvimento do trabalho;

A COGERH, representada pela Francimeyre Freire Avelino, pela participação na banca e as observações feitas neste trabalho.

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido uma investigação sobre a influência da matéria orgânica total (MOT) no método do Nitrogênio Total (NT) por espectrofotometria derivativa (ED), onde através da análise de amostras de águas brutas, monitoradas pela COGERH e cuja a concentração do MOT foi previamente determinada pelo método do Carbono Orgânico Total (COT) e comparado com o parâmetro da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) para águas consideradas da classe 2, foi constatado que em amostras com teores de MOT entre $2,4 \pm 0$ e $6,4 \pm 0$ mgL^{-1} não foi notado nenhum comportamento anômalo no espectro. Contudo na amostra com o teor de MOT em 16 ± 0 mgL^{-1} foi observado o aparecimento de duas bandas, uma positiva e a outra negativa. Com isto, presumiu-se que o teor de matéria orgânica existente nas amostras, poderia sim ocasionar uma influência negativa no método do NT por ED. Com o intuito de propor uma resolução para amenizar e / ou eliminar este interferente, sem contudo alterar de forma drástica esta metodologia, foi elaborado o estudo que verificou a influência da concentração da solução oxidante de persulfato de potássio na determinação do NT por ED, onde foi utilizado quatro concentrações distintas, incluindo a concentração usual no método ($0,54\% = 2,1$ mL), onde a concentração que apresentou um comportamento satisfatório, em todos os teores de MOT aqui analisados, foi a de $0,77\%$ (3 mL) de solução oxidante de persulfato de potássio, cujo no estudo da linearidade obteve-se também o melhor coeficiente de correlação (0,9947). Outro estudo realizado foi à comparação do método do NT por ED com o método tradicional, o da redução pela coluna de cádmio usualmente utilizado pelo Laboratório de Análises Químicas (LAQUIM)-UFC, onde através do método estatístico do teste T foi determinado que os resultados, obtidos pelas duas metodologias distintas, foram semelhantes.

Palavra-chave: Matéria orgânica Total (MOT), Nitrogênio Total (NT) por ED, NT pela coluna de cádmio, solução oxidante de persulfato de potássio.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Reagentes, solventes e soluções usadas no COT e no NT	20
Tabela 2 - COT e DBO das amostras selecionadas para o estudo	23
Tabela 3 - Espectro das amostras: (a) Lagoa do Catu; (b) Riacho Pacoti (2); (c) Riacho Pacoti (1) e (d) Sobreposição dos espectros das amostras	24
Tabela 4 - Dados estatísticos de cada curva	26
Tabela 5 - Estudo da linearidade através dos espectros das curvas padrões e suas médias: (a) curva da concentração 0,54% juntamente com a sua média (I);(b) curva da concentração 0,64% juntamente com a sua média (II) ;(c) curva da concentração 0,77% juntamente com a sua média(III); (d) curva da concentração 1,28% juntamente com a sua média (IV) e (e) sobreposição das médias das curvas padrões nas diferentes concentrações	26
Tabela 6 - Estudo da oxidação do MOT em águas brutas com concentrações distintas de persulfato de potássio: (I) amostra da Lagoa do Catu coma aplicação da segunda derivada; (II) amostra do Riacho Pacoti (2) com a aplicação da segunda derivada e (III) amostra do Riacho Pacoti (1) coma aplicação da segunda derivada	29
Tabela 7 - Amostras com determinação do NT pelo método ED e pela redução na coluna de cádmio	30

LISTA DE FIGURA

Figura 1- Banda de absorção tipo Gaussiana e respectivamente suas derivadas: primeira ($dA/d\lambda$), segunda ($d^2A/d\lambda^2$), terceira ($d^3A/d\lambda^3$) e quarta derivadas ($d^4A/d\lambda^4$).	16
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

UFC	Universidade Federal do Ceará
COGERH	Companhia de Gestão dos Recursos Hídricos
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
LAQUIM	Laboratório de Análises Químicas
LAQA	Laboratório de Análises de Águas
COT	Carbono Orgânico Total
MOT	Matéria Orgânica Total
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
ED	Espectrofotometria Derivativa
NT	Nitrogênio Total
RCC	Redução pela Coluna de Cádmio

SUMÁRIO

1 Introdução	11
2 Objetivo	12
2.1 Objetivo Geral.....	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 Fundamentos Teóricos	14
3.1 Método de determinação do nitrogênio total	14
3.2 Espectrofotometria Derivativa (ED)	15
3.3 Matéria Orgânica	18
4 Materiais e Reagentes	20
4.1 Preparo de soluções	20
4.2 Curvas de Calibração para Nitrogênio Total	21
4.3 Estudo Experimental	21
4.3.1 Análise de Nitrogênio Total(NT)	21
4.3.2 Determinação do teor de matéria orgânica	22
4.4 Programa Computacional	22
5 Resultados e Discussão dos Resultados	23
5.1 Análise da influência da matéria orgânica no método do NT por ED	23
5.2 Verificação da influência da concentração da solução oxidante de persulfato de potássio na determinação de NT por ED	25
5.3 Comparação do método do NT por ED com o NT pela coluna de cádmio ..	30
6 Conclusão	32
Referências Bibliográficas	33

1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio pode ser apresentado na natureza tanto na forma inorgânica, como nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-) e amônia (NH_3), como na forma orgânica, representada pelo grupo das aminas, amidas, proteínas, aminoácidos, peptídeos, ácidos nucleicos e ureia (POHLING,2009). Este elemento é considerado de suma importância para o ecossistema aquático devido sua participação, juntamente com outros nutrientes como o fósforo, na manutenção do metabolismo aquático através do auxílio na síntese de DNA, RNA e proteínas de todos os seres vivos (PINHEIRO,2013; ENRICH-PRAST, 2005). Sua adição ao meio aquático geralmente se dá através de compostos de origem natural, como resíduos de plantas e organismos autotróficos (algas e bactérias), mas pode ser adicionado também por meio de atividades antropogênicas, como despejos de esgotos domésticos e industriais(POHLING,2009).

O Nitrogênio Total (NT), juntamente com outros parâmetros, é utilizado para fazer o monitoramento dos níveis de nitrogênio nos sistemas aquáticos, com o intuito de se obter os diversos índices do estado trófico destes sistemas. A determinação deste parâmetro é preconizada pelo Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (2005), a qual se caracteriza pela quantificação de todas as formas do nitrogênio, seja ela orgânica e/ou inorgânica, que são convertidas, através da oxidação com o persulfato de potássio em meio alcalino, a nitrato sendo autoclavadas por 30 minutos a uma temperatura de 121°C (PINHEIRO,2013).Logo após, o nitrato é quantificado pelo método da redução na coluna de cádmio e em seguida sofre uma reação de diazotação com a sulfanilamida e uma reação de acoplamento com a naftilamina gerando o composto azo, o qual apresenta uma coloração rósea intenso. As amostras então são lidas no espectrofotômetro no comprimento de onda de 543 nm. Porém, apesar deste método ser de baixo custo, ele apresenta uma grande desvantagem ambiental, que é o uso do metal cádmio. Este metal possui um elevado potencial tóxico e jamais poderá ser descartado no meio ambiente. Logo, visando-se a obtenção de um método ambientalmente maislimpo, ou seja, sem a utilização de metais pesados em sua metodologia e /ou a geração de resíduos tóxicos, e que seja também de baixo custo, o método do Nitrogênio Total(NT) por espectrofotometria derivativa (ED) vem surgindo como uma alternativa mais viável para a determinação do parâmetro do nitrogênio total.

No método proposto, o espectro convencional passa por um tratamento matemático chamado de derivação, onde todos os ruídos são retirados, gerando assim um espectro mais limpo e resultados mais promissores. A leitura das amostras é feita em varredura (200 – 250 nm) com o ponto máximo em 225nm e velocidade de varredura em 600 nm.min⁻¹. Entretanto, desconfia-se que a matéria orgânica possa influenciar de forma negativa nesta metodologia, então, almejando-se comprovar tal fato, foi realizado um estudo para verificar a interferência do mesmo no método. Além disso, foi desenvolvido também uma alternativa para amenizar esta possível interferente, através do estudo das concentrações da solução oxidante de persulfato de potássio aplicadas em teores predeterminados de matéria orgânica. Aofinal, foi comparado o método tradicional, o RCC,com o método proposto, o NT por ED, pelo método estatístico do teste T para verificação da semelhança ou não das metodologias.

Para se estipular o teor de matéria orgânica nas matrizes de águas estudadas, pode-se usar o método do Carbono Orgânico Total (COT) bem como o da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). Cada método foi explicado nos fundamentos teóricos. Essas matrizes são águas superficiais advindas de açudes que são monitorados pela Companhia de Gestão de Recursos Hídricos do Estado do Ceará (COGERH).

Segundo a resolução N^o 357 do CONAMA (2005), para águas superficiais de classe 1 e 2, seus valores não poderão ultrapassar o limite de 1,27 mg L⁻¹ para ambientes lênticos e 2,18 mg L⁻¹ para ambientes lóticos quando o nitrogênio for o fator limitante (PINHEIRO,2013).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- ✓ Analisar a influência da Matéria Orgânica Total (MOT) no método do Nitrogênio Total por espectrofotometria derivativa (ED) em águas brutas.

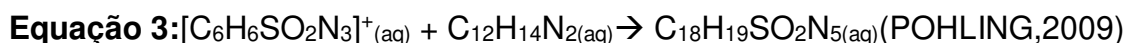
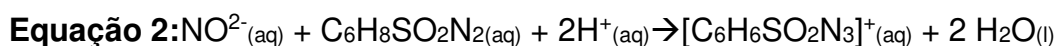
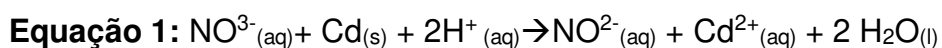
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Quantificar teor de Matéria Orgânica Total (MOT) através do método do Carbono Orgânico Total (COT) titulométrico de oxi-redução;
- ✓ Quantificar o Nitrogênio Total por espectrofotometria derivativa (ED);
- ✓ Analisar a influência da matéria orgânica no método do NT por ED;
- ✓ Verificação da influência da concentração da solução oxidante de persulfato de potássio na determinação de NT por ED;
- ✓ Comparar o método da determinação do Nitrogênio Total por espectrofotometria derivativa (ED) com o método do NT por redução na coluna de cádmio.

3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

3.1 Determinação do Nitrogênio Total (NT)

A determinação do nitrogênio total estabelecida pelo Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (2005), quantifica todas as formas do nitrogênio, ou seja, as formas orgânicas e inorgânicas, através da oxidação do nitrato pelo persulfato de potássio em meio alcalino e autoclavado por 30 minutos a 121°C. Logo após, a concentração de nitrato é determinada pelo método da coluna de cádmio, onde o nitrato é reduzido a nitrito pelo agente redutor cádmio, ocorrendo em seguida a formação de um sal diazônico, representada nas equações 1 e 2, o qual é submetido a uma reação de acoplamento com o N-(1-naftil) etilenodiamina para a formação do azo, cuja cor é róseo, representado na equação 3. A quantificação do nitrogênio total é realizada por espectrofotometria convencional (PINHEIRO, 2013).



Onde: $\text{C}_6\text{H}_8\text{SO}_2\text{N}_2$ = sulfanilamida

$[\text{C}_6\text{H}_6\text{SO}_2\text{N}_3]^{+}$ = sal de diazônico

$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2$ = N-(1-naftil) etilenodiamina

$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{SO}_2\text{N}_5$ = composto azo

No método proposto, a amostra também passa pelo processo de oxidação com a solução de persulfato. Porém após o resfriamento da mesma a temperatura ambiente, é realizado a acidificação do meio, com a solução de HCl 0,1 mol/L, para a retirada de possíveis interferentes como o nitrito e a alcalinidade e então a amostra é lida no espectrofotômetro para a obtenção dos dados do espectro convencional. Nesses dados é realizado a aplicação do tratamento por derivação.

3.2 Espectrofotometria Derivativa (ED)

A espectrofotometria derivativa é a aplicação de um tratamento matemático, conhecido como derivação, no espectro convencional. A partir dos dados deste espectro é gerado o espectro derivado, o qual apresenta resultados mais limpos do que o convencional devido a eliminação dos ruídos pela derivação. Contudo deve-se ficar claro que a aplicação desta derivação não significa o aumento dos conteúdos de informações já existentes, mas sim fará um melhoramento na individualização dos constituintes, existentes na amostra, através do aumento do número de bandas de adsorção, ocorrendo a eliminação de bandas largas e melhorando a detectabilidade das pequenas características espectrais, como os “ombros” (Donato,2010; Paschoal et al., 2003; Ojeda & Rojas, 2004; Watson, 2005).

Está técnica quando comparada com a espectrofotometria convencional, acaba apresentando maior sensibilidade, devido a ampliação do sinal da derivação e conseqüentemente a diminuição dos ruídos, e seletividade, ocasionado pela separação das bandas sobrepostas. Seu uso está baseado no fato de que o sinal obtido, numa determinada faixa de concentração, é proporcional à concentração da substância, ou seja, segue a lei de Lambert-Beer (Donato,2010; Rocha & Teixeira, 2004; Ojeda & Rojas, 2004; Watson, 2005).

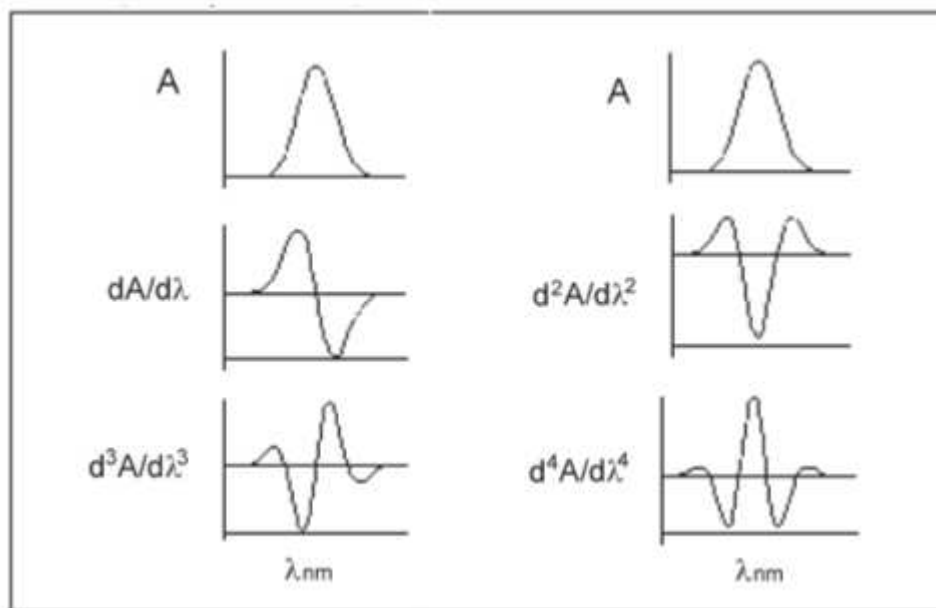
Os principais parâmetros instrumentais que afetam o espectro derivado são:

a) Ordem da Derivada

A escolha deste parâmetro está atrelada com as características do espectro de ordem zero dos constituintes da amostra e dos possíveis interferentes. A primeira derivada é razão entre a variação da absorvância (dA) versus variação do comprimento de onda ($d\lambda$). Assim, plotando-se $dA/d\lambda$ versus λ obtém-se o espectro de absorção de primeira derivada onde a anulação ocorre no ponto referente ao comprimento de onda máximo do espectro de absorção de ordem zero. É negativo onde a absorção decresce e positivo onde a absorção aumenta (Donato,2010; Paschoal et al, 2003, Ojeda & Rojas, 2004; Watson, 2005).

A principal característica do espectro de segunda derivada, ($d^2A/d\lambda^2$) é uma banda de valor negativo sendo o mínimo de absorção no mesmo comprimento de onda do máximo da banda de ordem zero. Apresenta também duas pequenas bandas positivas uma em cada lado da banda principal, apresentando assim, dois pontos de anulação. Os espectros de ordens superiores são obtidos a partir da diferenciação do espectro de ordem zero (Watson, 2005). A Figura 1 mostra os espectros de primeira ($dA/d\lambda$), segunda ($d^2A/d\lambda^2$), terceira ($d^3A/d\lambda^3$) e quarta derivadas ($d^4A/d\lambda^4$) de uma banda de absorção Gaussiana. A presença da banda forte positiva ou negativa no mesmo comprimento de onda do espectro clássico é uma característica de todas as ordens de derivada e o número de bandas observadas é igual ao número da ordem da derivada mais um (Paschoal et al., 2003; Ojeda & Rojas, 2004).

Figura 1: Banda de absorção tipo Gaussiana e respectivamente suas derivadas: primeira ($dA/d\lambda$), segunda ($d^2A/d\lambda^2$), terceira ($d^3A/d\lambda^3$) e quarta derivadas ($d^4A/d\lambda^4$).



Fonte: Donato,2010(PINHEIRO,2013).

b) Fator de escala

Este fator altera apenas a amplitude da onda e ele é usado afim de evitar o efeito de distorção no espectro. Este parâmetro é basicamente visual, mas uma vez selecionado deve permanecer constante em todas as análises (Donato,2010).

c) Delta Lambda

É o principal parâmetro que afeta a forma do espectro. O valor do delta dependerá da largura da banda espectral, da largura da banda instrumental e do equipamento usado no processamento dos dados. Geralmente, o nível de ruído decresce com o aumento do valor do delta, entretanto, o aumento nos valores do delta pode levar a uma pobre resolução espectral (Donato, 2010).

d) Suavização

Apresenta como efeito a redução tanto do sinal quanto do ruído. A importância deste parâmetro aumenta com o aumento da ordem da derivada, pois a relação S/R (sinal/ruído) diminui progressivamente com o aumento da ordem da derivada. O uso do smoothing adequado pode tornar insignificante a degradação da relação S/R em derivadas de ordem mais elevada, quando comparada com o espectro de ordem zero. Altos valores de smoothing não devem ser utilizados porque resulta em acentuada diminuição da amplitude da derivada e perda da resolução espectral. O valor do smoothing, caso necessário, deve ser otimizado na prática para obtenção de uma boa resolução e de uma adequada relação S/R (O uso do smoothing adequado pode tornar insignificante a degradação da relação S/R em derivadas de ordem mais elevada, quando comparada com o espectro de ordem zero. Altos valores de smoothing não devem ser utilizados porque resulta em acentuada diminuição da amplitude da derivada e perda da resolução espectral. O valor do smoothing, caso necessário, deve ser otimizado na prática para obtenção de uma boa resolução e de uma adequada relação S/R (Ojeda & Rojas, 2004; Toral et al., 2001; Toral et al., 2002).

e) Velocidade de Varredura

O aumento da ordem da derivada aumenta a complexidade do espectro e a velocidade de varredura deve ser reduzida para a obtenção do espectro de ordem zero (Donato, 2010).

Segundo O'Haver & Begley (1981) menores velocidades de varredura tanto para o espectro normal como para o derivado, levam a um maior tempo de análise, entretanto, melhoram a relação entre o sinal e o ruído do equipamento (Donato, 2010).

3.3 Matéria Orgânica

A matéria orgânica total (MOT), geralmente, é o resultado da excreção liberada pelos fitoplânctons e pelas macrófitas durante suas fases vegetativas, podendo ser classificado como: substâncias húmicas, que são biopolímeros cujo peso molecular varia de 30 a 30000 u.m.a, contendo grupos fenólicos e carboxílicos e com pequeno número de grupos alifáticos, e não-húmicas. As substâncias não-húmicas ainda são subdivididas em (ESTEVEZ,1998):

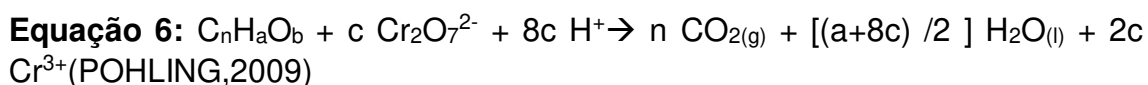
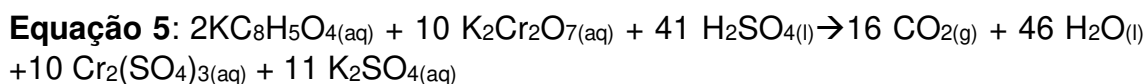
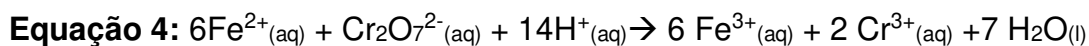
a) Compostos Nitrogenados: são os compostos orgânicos nitrogenados como os aminoácidos livres, como aqueles solúveis em água e os adsorvidos colóides, os peptídeos e as proteínas;

b) Carboidratos solúveis: são representados por uma pequena fração de mono, oligo e polissacarídeos;

c) Lipídeos Totais: são grupos de compostos como os triglicerídeos e os ácidos graxos, que são tanto química como fisiologicamente diferentes entre si;

d) Vitaminas e enzimas: as vitaminas que se destacam são a B₁ (tiamina), B₁₂(cobalamina) e H (biotina) e as enzimas que se destacam são as provenientes de algas, bactérias e fungos.

A matéria orgânica pode ser estimada através da determinação do carbono orgânico total (COT) e da quantidade de oxigênio existente na água (DBO e/ou DQO). Os métodos mais utilizados para se quantificar tal matéria são: oxidação química, a oxidação com luz ultravioleta, a combustão de amostra seca e a oxidação catalítica a elevadas temperaturas. Todos estes métodos baseiam-se na oxidação da matéria orgânica, onde o carbono é convertido a dióxido de carbono (CO₂) e então realizado a medição do mesmo de forma direta ou indireta por procedimentos diferentes, como por exemplo, uma titulação de oxiredução com dicromato de potássio. Nesta titulação a matéria orgânica é oxidada a CO₂ enquanto o dicromato (Cr₂O₇²⁻) é reduzido a Cr³⁺. A oxidação é realizada com o dicromato em excesso em meio de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) sob um determinado intervalo de temperatura. A determinação do consumo do oxidante relaciona-se com o CO₂ através do uso de uma substância padrão como o biftalato de potássio, como mostra a equação 5. Após a digestão, o dicromato em excesso que não foi reduzido é titulado com a solução de sulfato ferroso amoniacal hexahidratado em condições ácidas, como mostra a equação 4. Na equação 6, encontra-se a equação geral de oxidação de compostos orgânicos mais simples(CARMOUZE,1994).



Onde: $c = (2/3)n + (a/b) - b/3$

c= é o número de mols

a= quantidade de hidrogênios

n=quantidade de carbonos

b= quantidade de oxigênio

Já na determinação da quantidade de oxigênio existente na água, pode-se utilizar a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). A DBO estima a quantidade de oxigênio necessária para a oxidação da matéria orgânica por ação das bactérias, onde no laboratório procura retratar o fenômeno que ocorre no corpo hídrico. A BBO5 é considerado um teste padrão, realizado em temperatura constante (20°C) e um tempo fixo de incubação de 5 dias. O aumento deste parâmetro geralmente é provocado por despejos predominantemente orgânicos (CARMOUZE,1994).

4 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Para a elaboração do trabalho foram utilizados reagentes com alto grau de pureza analítico e água ultrapura (água produzida no sistema de purificação mili-Q).

Todas as pesagens foram feitas usando uma balança de precisão analítica digital da marca DENVER INSTRUMENT.

Para a obtenção dos espectros UV-VIS, foi utilizado o espectrofotômetro Cary 1E UV-Visible Spectrophotometer Varian, tendo como fonte de radiação a lâmpada de halogênio tungstênio e cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico e feixe duplo.

O banho-maria foi realizado em um equipamento da marca QUIMIS.

4.1 Preparo de soluções

Na Tabela 1 estão descrito, de forma resumida, todos os reagentes e solventes que foram utilizados no método do Carbono Orgânico Total (COT) e no método do Nitrogênio Total (NT). Nela constam também algumas concentrações dos reagentes, suas formulas moleculares e as respectivas marcas dos fabricantes.

Tabela 1: Reagentes, solventes e soluções usadas na análise do COT e NT

Nome	Formula Molecular	Concentração	Marca do fabricante
Biftalato de Potássio	$KC_8H_5O_4$	300 mg/L	VE TEC
Sulfato Ferroso heptahidratado	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	-----	VE TEC
Sulfato Ferroso Amoniacal hexahidratado	$FeSO_4 \cdot NH_4 \cdot 6H_2O$	0,1 mg/L	VE TEC
Nitrato de Potássio	KNO_3	1000 mg/L	VE TEC
Dicromato de Potássio	$K_2Cr_2O_7$	-----	VE TEC
Persulfato de Potássio	$K_2S_2O_8$	0,54%;0,64%;0,77%;1,28%	VE TEC
Difenilamina	$C_{12}H_{11}N$	-----	VE TEC
Ácido fosfórico P.A	H_3PO_4	Concentrado	SYNTH
Ácido sulfúrico P.A	H_2SO_4	Concentrado	SYNTH
Ácido clorídrico P.A	HCl	1 mol/L	SYNTH

4.2 Curvas de Calibração para Nitrogênio Total

Foram preparadas três curvas de calibração a partir da solução estoque de nitrato de potássio 1000 N-NO₃⁻ mg/L para as quatro concentrações de persulfatos de potássio, que foram 0,54% (2,1 mL); 0,64% (2,5 mL); 0,77% (3 mL) e 1,28% (5 mL). As curvas foram construídas com seis concentrações de padrões de nitrato de potássio (0,3; 0,6; 1,00; 1,50; 2,00 e 3,00 N-NO₃⁻ mg/L).

4.3 Estudo Experimental

4.3.1 Análise de Nitrogênio Total (NT)

A técnica da espectrofotometria derivativa foi usada para a determinação do NT nas amostras de águas superficiais monitoradas pela Cogerh. Tanto para o estudo da validação, através do uso de solução padrão de nitrato, como para a análise das amostras, foi utilizado o processo de oxidação prescrito pelo STANDARD METHODS FOR WATER AND WASTER (2005), em que o nitrogênio nas suas formas orgânica e inorgânicas é convertido a nitrato pelo método do persulfato.

Em tubos de Falcon de 50 mL foi acrescentado volumes específicos da solução estoque de nitrato e adicionado 2,1 mL (0,54%) [2,5 mL (0,64%); 3 mL (0,77%) e 5 mL (1,28%)] de solução oxidante (persulfato de potássio em meio alcalino), onde os tubos foram vedados, agitados e postos na autoclave com temperatura entre 120 – 130 °C por cerca de 30 minutos. Em seguida, com os tubos já frios, cada padrão foi transferido quantitativamente para balão volumétrico de 50 mL, adicionado 1 mL de solução de HCl 1 mol.L⁻¹ e o volume final aferido com água mili-Q. Os volumes das diluições do padrão foram feitos pela equação: $C_1.V_1 = C_2.V_2$

As varreduras foram realizadas no espectrofotômetro UV-VIS da Varian, nos comprimentos de onda de 200 a 250 nm, com caminho óptico de 1 cm, cubetas de quartzo e velocidade de varredura 600 nm.min⁻¹.

As amostras seguiram a mesma metodologia das curvas diferindo apenas no fato da utilização de 10 mL de amostra.

Para a aplicação da metodologia proposta foram utilizadas três amostras de águas superficiais monitoradas pela Cogerh. As amostras foram coletadas por técnicos da Cogerh e mantidas sob refrigeração até a análise realizada no Laboratório de Química Ambiental (LAQA) existente na Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.3.2 Determinação do teor de matéria orgânica

Para realizar a determinação do teor de matéria orgânica nas amostras de água foi utilizado o método do Carbono Orgânico Total (COT) por titulação de oxi-redução segundo uma adaptação do método da titulação potenciométrica da professora Helena Becker(UFC) juntamente com o da titulação de oxiredução proposto pelo STANDARD METHODS FOR WATER AND WASTER (2005).

Na análise das amostras, foi utilizado 25 mL de cada amostra de água que foram postos em tubos de vidro de 50 mL. Em seguida, adicionou-se 1 mL do ácido fosfórico concentrado. Os tubos então foram vedados e colocados em banho-maria (100-110°C) por cerca de 30 minutos. Logo após, nos mesmos tubos, foi acrescentado 2,5 mL da solução oxidante de dicromato de potássio em meio ácido, onde os quais foram novamente vedados e retornaram ao banho-maria por mais 60 minutos. Após o resfriamento dos tubos, cada solução foi transferida quantitativamente para erlenmeyers de 250 mL, onde foi adicionado 15 gotas do indicador difenilamina e, por fim, realizado a titulação destas soluções com a solução de Fe(II).

Todas as amostras foram feitas em duplicata, com a presença de brancos e um padrão de biftalato de potássio.

Os teores da matéria orgânica foram estimados de acordo com o teor do COT de cada amostra. Para se calcular tais teores, foi usado a formula abaixo:

$$\text{COT(mg/L)} = (100 \cdot m_{\text{padrão}} / V'_{\text{amostra}}) \times (V_{\text{branco}} - V_{\text{amostra}}) / (V_{\text{branco}} - V_{\text{padrão}})$$

Onde: $m_{\text{padrão}}$ = massa do carbono existente no padrão

V'_{amostra} = alíquota da amostra (exemplo= 25 ml)

V_{amostra} = volume gasto na titulação da amostra

V_{branco} = volume gasto na titulação do branco

$V_{\text{padrão}}$ = volume gasto na titulação do padrão

4.4 Programa Computacional

Para construção dos espectros de absorção e seus respectivos espectros derivados, bem como para a análise estatística, utilizou-se o programa computacional R, versão 3.0. Quando necessário, alguns espectros foram suavizados (smoothing), também pelo programa R, utilizando-se o método SAVITZKY-28GOLAY (SAVITZKY e GOLLAY,1964) com o intuito de minimização de ruídos espectrais e melhoria dos sinais analíticos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Análise da influência da matéria orgânica no método do Nitrogênio Total (NT) por ED

Foram selecionadas três amostras de águas superficiais para realizar o estudo sobre a influência da matéria orgânica total na análise do Nitrogênio Total (NT) por ED, onde inicialmente foi efetuada a determinação da quantidade de matéria orgânica em cada amostra. Em seguida, foi feita a determinação do NT por ED.

Os valores de DBO foram cedidas pela Cogeh. O limite de tolerância para a classe de águas aqui estudada foi de 5 mgO₂/L. Este parâmetro serviu como referência para orientar se o teor de COT é considerado alto ou baixo para a classe das águas em questão. Logo, na amostra da Lagoa do Catu, pode-se dizer, através da comparação dos valores de COT com DBO, que esta amostra apresentou o menor teor de matéria orgânica, seguida da amostra do Riacho Pacoti(2). A amostra do Riacho Pacoti (1), que está em vermelho, foi a que apresentou o maior teor.

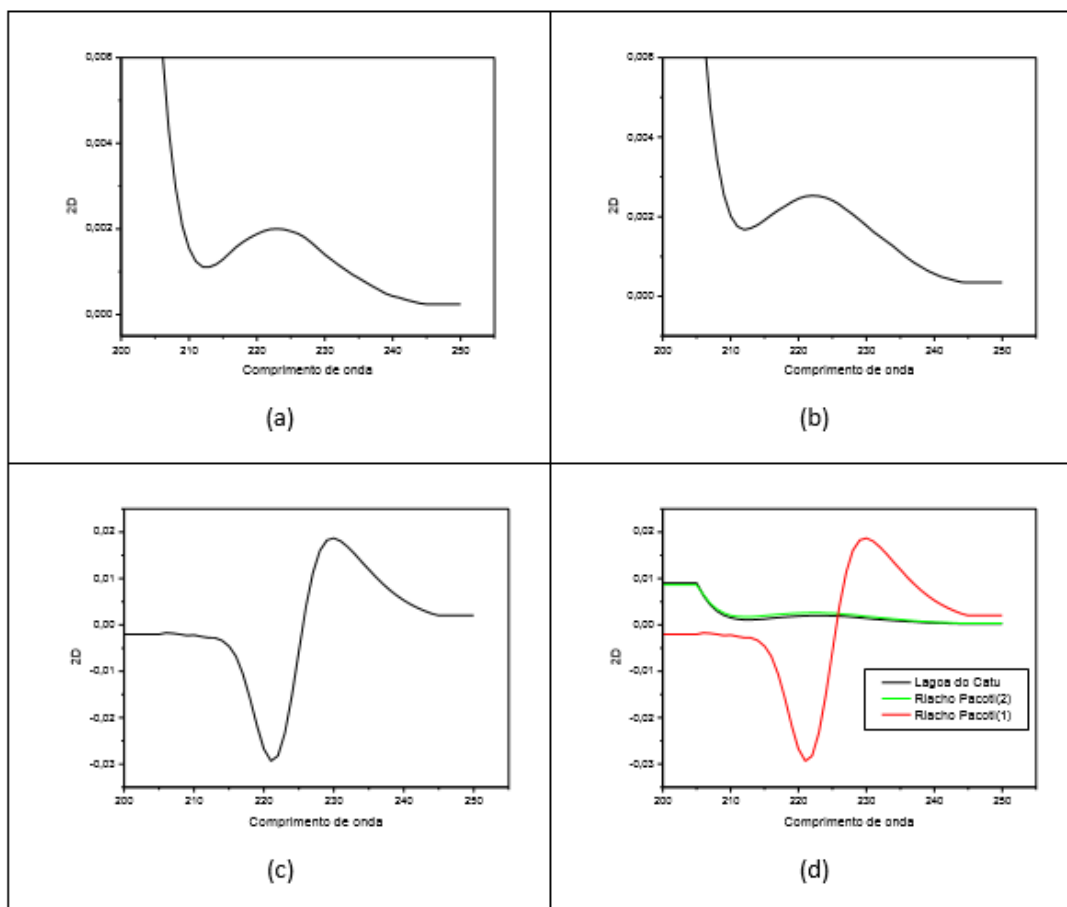
Tabela 2: Concentrações de COT e DBO das amostras selecionadas para o estudo

Local	Data da coleta	COT(mg/L)	DBO(mgO ₂ /L)
Lagoa do Catu	19/05/15	2,4 ± 0,0	2,648
Riacho Pacoti(2)	10/06/15	6,4 ± 0,0	7,000
Riacho Pacoti (1) *	10/06/15	16 ± 0,0	122,5

*A discrepância no valor dessa amostra pode ser justificado por degradação da amostra ocasionado pela demora na análise.

Pela análise do Nitrogênio Total (NT) por ED, realizada nessas três amostras, obteve-se os seguintes espectros no UV, já derivados e suavizados, que foram expostos na Tabela 3.

Tabela 3: Espectro das amostras: (a) Espectro da Lagoa do Catu; (b) Riacho Pacoti (2);(c) Riacho Pacoti (1) e (d) Sobreposição dos espectros das amostras



Observa-se nas amostras com os menores teores de MOT, ou seja, o item (a) com $2,4 \text{ mg L}^{-1}$ COT e o item (b) com $6,4 \text{ mg L}^{-1}$ COT, não foi notório uma influência negativa proveniente do MOT no método do NT por ED. Já no alto teor de matéria orgânica, representado no item (c) com 16 mg L^{-1} COT, foi observado o surgimento de duas bandas, uma positiva e a outra negativa, que serviram como indicativos de uma possível interferência ocasionada pelo alto teor do COT nesta amostra. Para se confirmar esta suspeita deve-se realizar mais estudos aprofundados, como por exemplo, os tipos de matéria orgânica que predominam em águas brutas e que podem estar interferindo no método.

5.2 Verificação da influência da concentração da solução oxidante de persulfato de potássio na determinação de NT por ED

Visando uma possível solução para amenizar a interferência do MOT no método aqui aplicado, foi desenvolvido um estudo que avalia a eficácia da solução oxidante de persulfato de potássio com diferentes concentrações em águas brutas, cujo teor de MOT foi determinado no item 5.1

Para realizar este estudo, foi usado as mesmas amostras do item anterior, aonde foi incluso a mesma concentração usual do método, a de 0,54%(2,1mL). Mas, antes de iniciar a aplicação do método nas amostras, foi feito um estudo de validação para a metodologia, cujo objetivo foi avaliar, através do coeficiente de correlação, a linearidade das curvas padrões de nitrogênio total quando é variada a concentração de persulfato de potássio obtendo-se assim a melhor curva para o método.

Validação

- Linearidade

A linearidade foi determinada, para cada concentração de persulfato (0,54%;0,64%;0,77% e 1,28%), através da análise da curva de calibração, feita em triplicata, cujas as 6 concentrações foram obtidas a partir da diluição da solução padrão de nitrato 1000 N-NO₃⁻ mg L⁻¹(0,3; 0,6; 1; 1,5; 2 e 3 mg L⁻¹).Os resultados obtidos da segunda derivada na faixa entre 200-250nm foram tratados pelo método dos mínimos quadrados para a obtenção dos coeficientes de correlação e seus respectivos desvios padrões (S).O resultado da linearidade encontram-se nas Tabelas 4 e 5.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram obtidos através de 11 brancos, onde os mesmos foram calculados a partir das formulas abaixo.

$$LQ = 10S/b \text{ e } LD = 3S/b$$

Onde: S= desvio padrão dos brancos

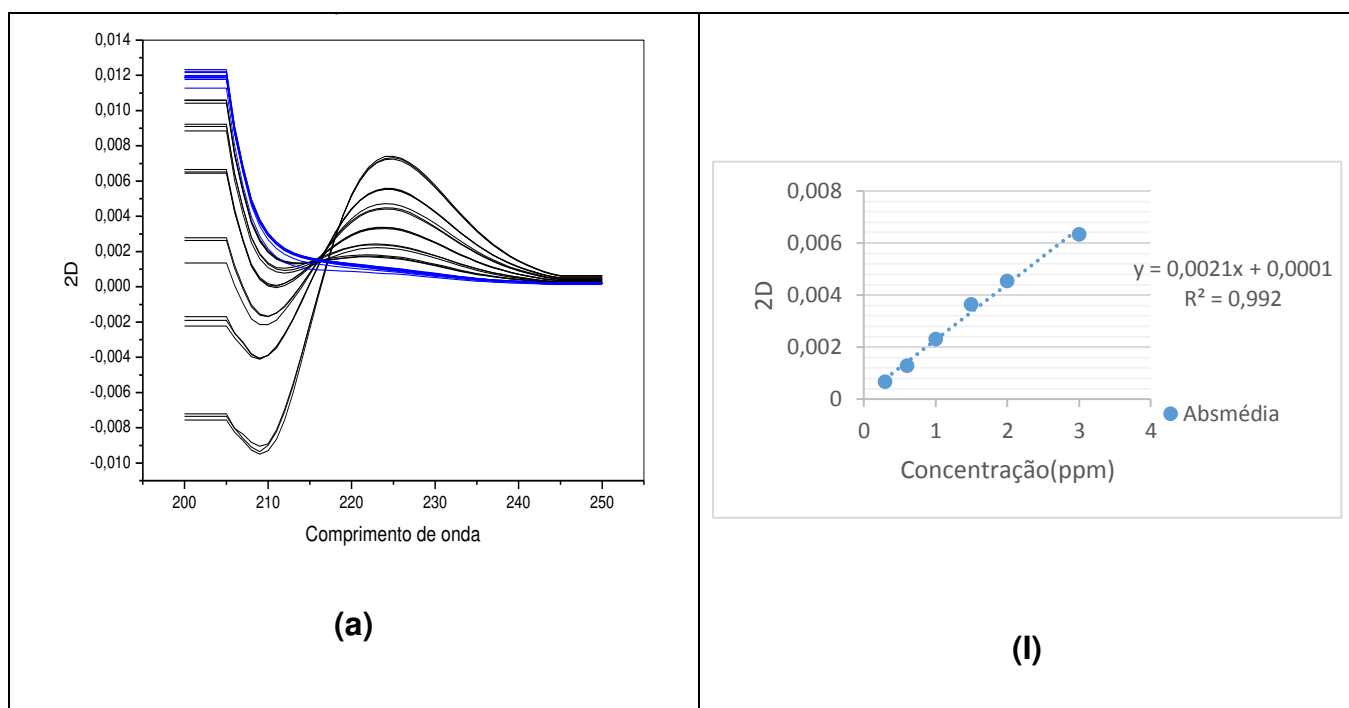
b=coeficiente angular da curva

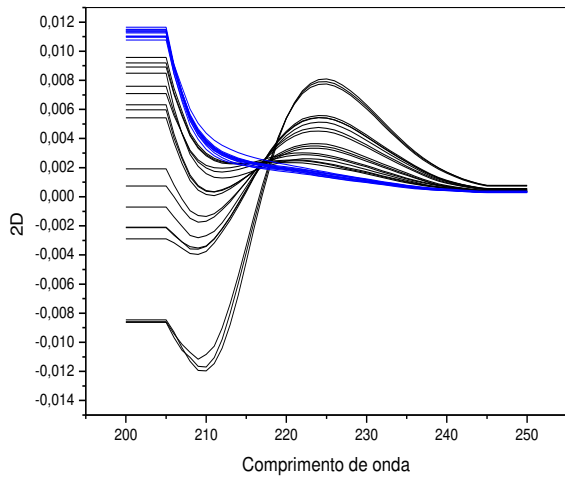
Tabela 4: Dados estatísticos de cada curva

Curvas	Média dos Brancos	LD*	LQ*	S	Coefficiente de correlação
2,1 mL (0,54%)	$7,45 \cdot 10^{-5}$	0,106	0,355	0,994	0,9920
2,5 mL (0,64%)	$9,10 \cdot 10^{-5}$	0,130	0,433	0,994	0,9918
3,0 mL (0,77%)	$8,85 \cdot 10^{-5}$	0,121	0,402	0,994	0,9947
5,0 mL (1,28%)	$7,68 \cdot 10^{-5}$	0,154	0,512	0,994	0,9914

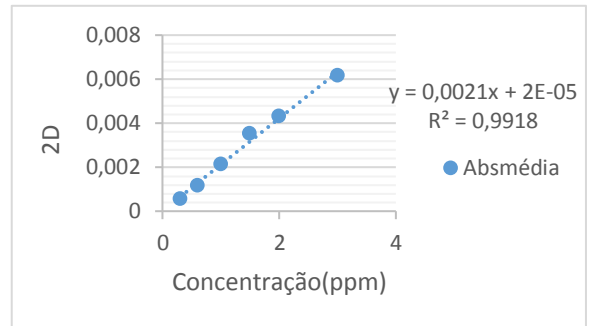
Nota: O LD e o LQ foram obtidos a partir dos brancos.

Tabela 5: Estudo dalinearidade através dos espectros das curvas padrões e suas médias: (a) curva da concentração 0,54% juntamente com a sua média (I);(b) curva da concentração 0,64% juntamente com a sua média(II);(c) curva da concentração 0,77% juntamente com a sua média(III); (d) curva da concentração 1,28% juntamente com a sua média (IV) e (e) sobreposição das médias das curvas padrões nas diferentes concentrações

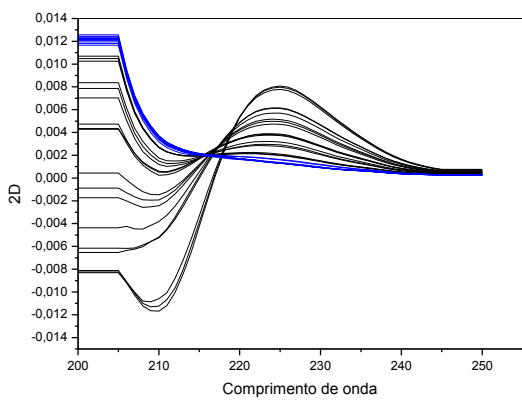




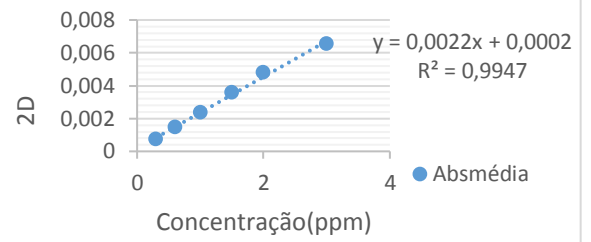
(b)



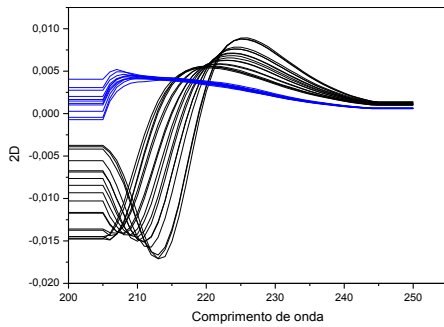
(II)



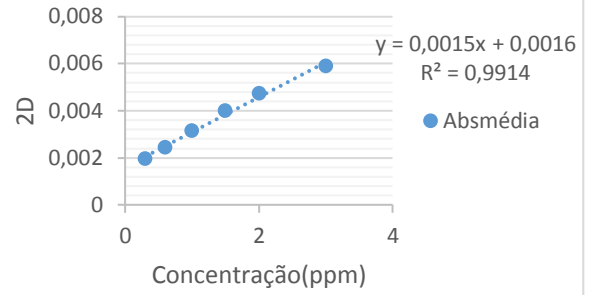
(c)



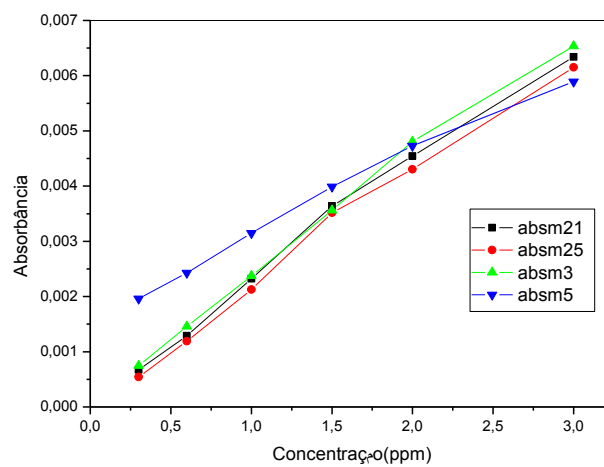
(III)



(d)



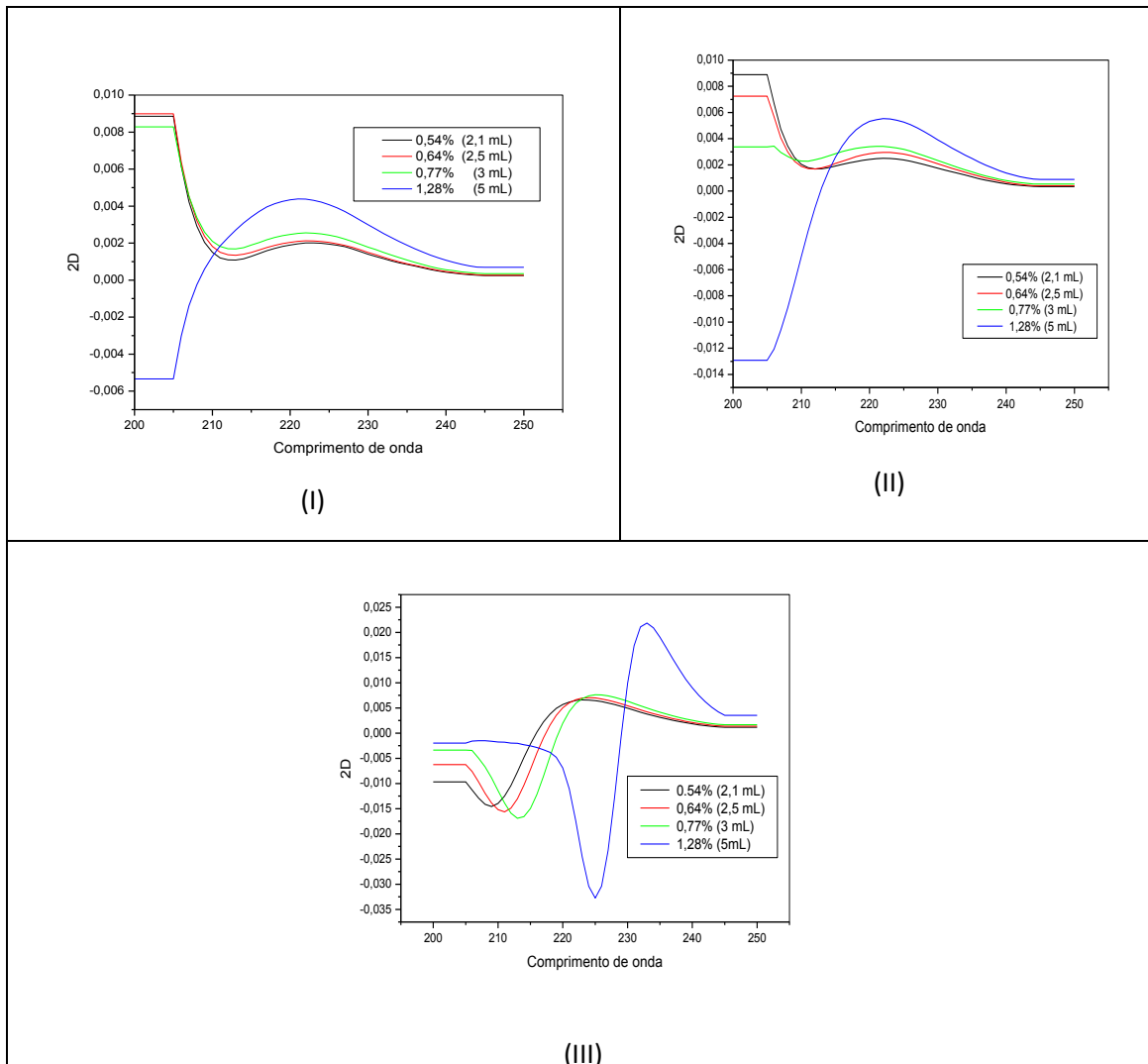
(IV)



(e)

Através da análise dos espectros das curvas dá a análise da sobreposição da média delas, pode-se observar que o espectro que apresentou a melhor linearidade, e por consequência sendo considerada a melhor curva com coeficiente de correlação de 0,9947, foi a concentração de 0,77% (3mL) de persulfato de potássio. Porém, como nestas curvas não há presença de matéria orgânica, apenas nitrogênio proveniente da solução estoque de nitrato, para realizar a avaliação real da eficiência destas concentrações na oxidação do MOT foi aplicado o mesmo estudo em amostras de águas brutas cujo o teor de MOT foi predeterminado no item 5.1. Os resultados deste estudo encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6: Estudo da oxidação do MOT em águas brutas com concentrações distintas de persulfato de potássio: (I) amostra da Lagoa do Catu com a aplicação da segunda derivada; (II) amostra do Riacho Pacoti(2) com a aplicação da segunda derivada e (III) amostra do Riacho Pacoti(1) com a aplicação da segunda derivada



Ao se analisar o espectro da segunda derivada de cada amostra, nota-se que a maioria das concentrações da solução oxidante de persulfato de potássio, aparentemente, foram eficientes na oxidação do MOT nas amostras do item (I) com $2,4 \pm 0,0 \text{ mg L}^{-1}$ item (II) com $6,4 \pm 0,0 \text{ mg L}^{-1}$ e item (III) com $16 \pm 0,0 \text{ mg L}^{-1}$, com destaque, novamente para a concentração de 0,77%(3mL), pois apresentou comportamento de oxidação crescente a medida que o teor de MOT foiaumentando. Já a concentração de 1,28%(5 mL), na amostra do item(III), apresentou o mesmo comportamento anômalo observado no item 5.1, useja, o surgimento de duas bandas.

Contudo, neste caso, não faria muito sentido afirmar que a matéria orgânica poderia estar interferindo na análise, pois se sabe que quanto maior a concentração de solução oxidante, maior seria a oxidação do MOT.

Logo, uma hipótese plausível para explicar tal fenômeno poderia estar na interferência ocasionada pelo excesso de persulfato no meio. Para confirmar tal hipótese, deve-se fazer um estudo que se avalie apenas o comportamento do persulfato.

5.3 Comparação entre o método do NT por ED com o NT pela coluna de cádmio:

Este estudo teve como intuito verificar se há uma diferença significativa entre o método aqui aplicado, com a concentração de persulfato usual do método que é de 0,54% (2,1 mL), como método tradicional pela redução na coluna de cádmio, que usa também usa 0,54% da solução oxidante, utilizado no Laboratório de Análises de Águas (LAQA) existente na Universidade Federal do Ceará (UFC).

Para realizar este estudo, foram selecionadas algumas amostras de águas brutas, onde o NT foi determinado pelas duas metodologias. As amostras selecionadas encontram-se na Tabela 7 com os resultados obtidos e seus respectivos tratamentos estatísticos. Para estimar esta diferença foi usado o método estatístico conhecido como teste T. Neste teste calculou-se inicialmente o desvio padrão dos dois métodos. Em seguida foi obtido o T calculado pela fórmula abaixo:

$$T_{\text{calculado}} = (| \text{média dos métodos} | / \text{Desvio padrão dos métodos}) \cdot \sqrt{n}$$

Onde: n = número de amostras analisadas pelos dois métodos.

Tabela 7: Amostras com determinação do NT pelo método E.D e pela redução na coluna de cádmio

Amostras	Método 1*	Método 2*	Dif.(met.2-met 1)	Desvio padrão	Média
Tijuquinha	1,91±0,0	2,174	0,264	15,13	7,02
Acarape do meio(2)	1,15±0,308	1,369	0,219	-----	-----
Lagoa do Catu	1,87±0,22	2,634	0,764	-----	-----
Riacho Pacoti(1)	63,25±0,44	97,318	34,07	-----	-----
Acarape do meio(1)	1,609±0,716	1,369	- 0,24	-----	-----

***Método 1: NT pelo método E.D; Método 2: NT pela coluna de cádmio**

O resultado obtido do T calculado foi de 1,04 e o T tabelado, usado no trabalho, foi de 6,314. Pode-se notar que o T calculado foi menor do que o T tabelado para um nível de confiança de 90% com 4 graus de liberdade, ou seja, houve menos de 90% de chance de que os dois resultados sejam diferentes. Com isso, pode-se dizer que os dois métodos deram respostas semelhantes apesar dos resultados aparentemente terem dado distintos. Isto também pode significar que este método futuramente poderá ser uma boa alternativa para substituir o método pela coluna de cádmio.

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi realizado o estudo sobre a influência da Matéria orgânica Total (MOT) no método do NT por ED, onde foi observado que em amostras com teores de MOT entre 2,4 e 6,4 mg L⁻¹, aparentemente, não foi apresentado nenhum comportamento anormal no espectro. Já na amostra com teor de MOT de 16 mg L⁻¹, foi notado o surgimento de duas bandas, uma negativa e a outra positiva, a qual serviram como um possível indicativo de interferência da MOT no método proposto.

Na verificação da influência da concentração da solução oxidante de persulfato de potássio, das quatro concentrações estudadas, incluindo-se a usualmente utilizada (0,54%), a concentração com melhor desempenho na oxidação do MOT nos três teores de MOT predeterminados (2,4; 6,4 e 16 mg L⁻¹), foi a de 0,77%(3 mL).

Na comparação entre o método do NT por ED com o método do NT pela coluna de cádmio, o qual é realizado com frequência no Laboratório de Análises de Águas (LAQA), foi verificado que não existiu uma diferença significativa nos valores entre os métodos, sugerindo assim que as duas metodologias foram semelhantes e indicando que este método proposto, possivelmente poderá a vim substituir, futuramente, o método da coluna de cádmio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21. ed. Washington: APHA, 2005.

Anuário de Monitoramento Quantitativo dos Açudes Gerenciados pela Cogerh 2009: Estado do Ceará. Fortaleza: Companhia de Gestão dos Recursos Hídricos – COGERH, 2009. Disponível em <<http://portal.cogerh.com.br/servicos/downloads/anuarios-de-monitoramento/anuario-de-monitoramento-2009/Anuario-2009.pdf/view?searchterm=anu%C3%A1rio> > , acesso em: 12 Mar, 2013.

BECKER, H. Controle Analítico de Águas. x f. Apostila - Curso de Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza , 2010.

BRASIL, Resolução nº 357, de 18 de Março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

CARMOUZE ,JeanPierre,1994-O metabolismo dos ecossistemas aquáticos:Fundamentosteóricos,métodos de estudo e análises químicas.-ed.-EdgarBlucher LTDA:FAPESP;

DONATO, E. M. et al. Espectrofotometria derivada: uma contribuição prática para o desenvolvimento de métodos. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 2, n. 31, p.125-130, 2010.

ESTEVES, Francisco de Assis, 1950-Fundamentos de Limnologia/Francisco de Assis Esteves. - 2.ed.-Rio de Janeiro:Interiencia,1998.

HARRIS,DanielC.Analise química quantitativa.TraduçãoJairo Bordinhão...[et al.]. Editora LTC, Rio de Janeiro. 2008.

O'HAVER TC, Begley T. Signal-to-noise ratio in higher order derivative spectrometry. Anal Chem. 1981; 53(12):1876-1878.

OJEDA, C B.; ROJAS, F S. Recent developments in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry. Analytica Chimica Acta, n. 518, p.1-24, ago. 2004.

OJEDA, C.B.; ROJAS, F.S. Recente applications in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry:2009-2011. Microchemical Journal, n. 106, p. 1-16, 2013.

PASCHOAL LR, Ferreira WA, Prado MRD, Vilela APO. Aplicação do método da espectrofotometria de derivadas na identificação e doseamento simultâneo de sistemas multicomponentes. Rev Bras Cienc Farm. 2003;39(1):105-13.

PINHEIRO, S.M. Estudo sobre a aplicação da espectrofotometria derivativa na análise de nitrogênio em diversas matrizes de águas. 116f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

POHLING, Rolf Reações químicas na análise de água, Rolf Pohling.-Fortaleza: Março, 2009.

SAVITSKY, A.; GOLAY, M.J.E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. Analytical Chemistry, Washington, v.36, n.8, p.1627-1639, 1964.

SUZUKI, N.; KURODA, R. Direct simultaneous determination of nitrate and nitrite by ultraviolet second- derivative spectrophotometry. Analyst, , n. , p.1077-1079, July 1987.

WATSON DG. Ultraviolet and visible spectroscopy. In: Watson DG. Pharmaceutical analysis: a textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists. Edinburgh: Elsevier Churchill Livingstone; 2005. p.75-94