

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL**  
**MESTRADO EM SANEAMENTO AMBIENTAL**

**VICTOR COCHRANE SANTIAGO SAMPAIO**

**AVALIAÇÃO DE MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO**  
**COMERCIAL PARA DETERMINAÇÃO DE TRIHALOMETANOS EM**  
**ÁGUA DE ABASTECIMENTO HUMANO**

**FORTALEZA – CE**

**2010**

VICTOR COCHRANE SANTIAGO SAMPAIO

**AVALIAÇÃO DE MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO  
COMERCIAL PARA DETERMINAÇÃO DE TRIHALOMETANOS EM  
ÁGUA DE ABASTECIMENTO HUMANO**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil.

Área de concentração: Saneamento Ambiental

Orientador: Prof. Dr. José Capelo Neto

FORTALEZA

2010

S181a Sampaio, Victor Cochrane Santiago  
Avaliação de método espectrofotométrico comercial para determinação de trihalometanos em água de abastecimento humano. -- Fortaleza, 2010.  
141 f. ; il. color. enc.

Orientador: Prof. Dr. José Capelo Neto  
Área de concentração: Saneamento Ambiental  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Depto. de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Fortaleza, 2010.

1. Espectrofotometria. 2. Abastecimento de água. 3. Cromatografia a gás.  
I. Capelo Neto, José (Orient.). II. Universidade Federal do Ceará – Pós-Graduação em Engenharia Civil. III. Título.

VICTOR COCHRANE SANTIAGO SAMPAIO

**AVALIAÇÃO DE MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO  
COMERCIAL PARA DETERMINAÇÃO DE TRIHALOMETANOS EM  
ÁGUA DE ABASTECIMENTO HUMANO**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil.

Aprovada em 17/11/2010.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. José Capelo Neto (Orientador)

Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota

Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dr. Manoel do Vale Sales

Companhia de Água e Esgoto do Ceará – CAGECE

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força e sabedoria dada ao longo desse trabalho e por todas às minhas vitórias conquistadas.

Aos meus pais, Francisco Grangeiro Sampaio e Maria José Cochrane Santiago Sampaio (*In Memoriam*), que nunca mediram esforços na educação de seus filhos.

Aos meus irmãos, Marcelo e Leonardo, pela amizade e o apoio.

A todos os familiares, pelos conselhos.

Ao Prof. Dr. José Capelo Neto, pela excelente orientação e pelo grande apoio no trabalho.

Ao Prof. Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota e ao Prof. Dr. Manoel do Vale Sales por participarem da banca examinadora.

Ao meu grande amigo Ítalo Lima dos Santos, pela indispensável ajuda no desenvolvimento da pesquisa.

Aos amigos do SELAQUA, Fernando Victor, Ticiane, Frank, Diego e Naiane.

A todos do NUTEC, LABOSAN e LAT, pela disposição e boa vontade em ajudar.

Aos todos os meus colegas de pós-graduação, pelos bons momentos dentro e fora de sala de aula.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA).

Ao CNPQ, pelo apoio financeiro da bolsa de mestrado (Processo 130967/2009-2).

À Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE), pelo total financiamento da pesquisa, em especial a Gerência de Pesquisa e Desenvolvimento Operacional (GEPED).

A todos que compõem a Estação de Tratamento de Água Gavião e à Gerência de Controle de Qualidade (GECOQ) da CAGECE, pelos conhecimentos transmitidos.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

## RESUMO

A formação de trihalometanos na água de abastecimento humano representa um grande problema para a saúde pública, visto que esses compostos são suspeitos de serem carcinogênicos. A técnica referenciada para determinação de trihalometanos na água é a cromatografia gasosa, onde se utiliza o detector de captura de elétrons. Essa técnica apresenta algumas desvantagens que inviabilizam sua implantação em uma estação de tratamento de água (ETA). Um método espectrofotométrico desenvolvido pela empresa Hach® pode auxiliar a operação de uma ETA quanto ao monitoramento dos trihalometanos, pois esse método analítico tem menor custo, uma resposta imediata dos resultados e é de fácil implantação e operação quando se compara com a cromatografia gasosa. Nesta pesquisa, foi realizada uma avaliação do método espectrofotométrico comercial por alguns parâmetros do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) e foi dividida em três etapas. Na primeira etapa, realizou-se um teste para certificar-se que o agente redutor neutralizava todo o cloro residual presente na água. Foi adicionado tiosulfato de sódio na água final da ETA Gavião e determinou-se concentração de “zero” mg L<sup>-1</sup> na determinação de cloro residual. A segunda etapa consistiu na implantação e operação da análise de trihalometanos por cromatografia gasosa. Foram realizadas duas curvas utilizando dois padrões diferentes: um padrão de clorofórmio e um padrão de uma mistura contendo os quatro trihalometanos, todos com a mesma concentração. Nessa etapa, todas as curvas construídas apresentaram um índice de correlação dentro da faixa exigida pelas normas do INMETRO e do método. A terceira etapa consistiu na construção de curvas utilizando novamente os dois padrões, porém utilizando a técnica espectrofotométrica. Foram realizadas duas curvas de cada padrão pelo mesmo analista e uma curva de cada padrão por outro analista. Com os dados obtidos, estudou-se a precisão, exatidão, robustez, seletividade, linearidade, faixa de trabalho e faixa linear. Além disso, foram realizados testes de adição de padrão e um teste para verificar a interferência de diferentes matrizes na análise. Constatou-se que o método não apresentou precisão, nem exatidão. Pequenas mudanças realizadas no procedimento analítico causaram alteração no resultado, indicando falta de robustez do método analítico, além de ser extremamente suscetível a erros aleatórios e, possivelmente, quantificar outros subprodutos da desinfecção.

Palavras-chave: trihalometanos, espectrofotometria, cromatografia gasosa, adição de padrão.

## ABSTRACT

The formation of trihalomethanes in human water supply represents a big problem to the public health, since these compounds are suspected carcinogens. The technique referred for determination of trihalomethanes in water is gas chromatography, which uses an electron capture detector. This technique has some disadvantages that unfeasible the implantation in the water treatment plant. A spectrophotometry method developed by Hach® can assist the operation of a water treatment plant on the monitoring of trihalomethanes, since this analytical method has a lower cost, an immediate response by the results and is easy to implantation and operate when compared with gas chromatography. In this research, an evaluation of commercial spectrophotometry method was realized for some parameters of the Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) and was divided into three stages. In the first stage, performed a test to make sure that the reducing agent neutralize any residual chlorine in the water. Sodium thiosulfate was added treated water of Gavião's water treatment plant, to determine the concentration of "zero" mg L<sup>-1</sup> in the determination of residual chlorine. The second stage consists in the implantation and operation of the analysis of trihalomethanes by gas chromatography. Two curves were performed using two different standards: a standard of chloroform and a standard of a mixture containing the four trihalomethanes, all with the same concentration. At this stage, all curves constructed showed a correlation coefficient in the range required by the rules of the INMETRO and of the method. The third step was the construction of curves by using again the two standards, but using the spectrophotometric method. Two curves of each standard by the same analyst and a curve of each standard of the other analyst were performed. With the data obtained, was studied the precision, accuracy, robustness, selectivity, linearity, working range and linear range. In addition, a standard addition test and a test for interference in the analysis of different matrices were performed. It was found that the method no had precision and accuracy. Small changes made in the analytical procedure caused change in the result, indicating lack of robustness of the analytical method, besides being extremely susceptible to random errors and possibly quantify other disinfection byproducts.

Keywords: trihalomethanes, spectrophotometry, gas chromatography, standard addition.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Reação do ácido hipocloroso com a matéria orgânica.....	28
Figura 02 – Cadeia formada pela clivagem.....	28
Figura 03 – Formação do clorofórmio.....	28
Figura 04 – Esquema de um cromatógrafo gasoso.....	30
Figura 05 – Detector de captura de elétrons detalhado .....	31
Figura 06 – Exemplo de uma extração líquido-líquido .....	33
Figura 07 – Esquema de um dispositivo de purga e aprisionamento .....	34
Figura 08 - Estrutura geral de uma base de Schiff .....	36
Figura 09 - 1ª etapa do mecanismo de reação do método espectrofotométrico .....	37
Figura 10 - 2ª etapa do mecanismo de reação do método espectrofotométrico .....	38
Figura 11 – Conceito de precisão .....	44
Figura 12 – Inter-relação entre exatidão e precisão.....	46
Figura 13 – Gráficos do método adição de padrão. Em (a), gráfico de calibração e em (b), determinação da massa .....	47
Figura 14 – Fluxograma esquemático da 2ª etapa da parte experimental da pesquisa... 51	
Figura 15 – Fluxograma esquemático da 3ª etapa da parte experimental da pesquisa... 54	
Figura 16 – Agitação da cubeta após a adição do reagente 1 .....	55
Figura 17 – Agitação da cubeta após a adição do reagente 2 .....	55
Figura 18 – Esquema do procedimento analítico de determinação de trihalometanos por espectrofotometria .....	56
Figura 19 – Gráfico da curva da cromatografia com extração manual. ....	64
Figura 20 – Gráfico da curva da cromatografia com extração na centrífuga. ....	65

Figura 21 – Gráfico da comparação da extração manual com a extração na centrífuga.	66
Figura 22 – Gráfico da curva da cromatografia na extração com o agitador de tubos sem o ponto de concentração $70 \mu\text{g L}^{-1}$ .	67
Figura 23 – Comparação das diferentes extrações.	68
Figura 24 – Gráfico Média das áreas x Concentração do clorofórmio.	69
Figura 25 – Gráfico Média das áreas x Concentração do bromofórmio.	70
Figura 26 – Gráfico Média das áreas x Concentração do dibromoclorometano.	71
Figura 27 – Gráfico Média das áreas x Concentração do bromodichlorometano, com rejeição do ponto de concentração $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .	72
Figura 28 – Gráfico da comparação do clorofórmio (individual) e clorofórmio (MIX).	73
Figura 29 – Gráfico da curva da espectrofotometria retirando o ponto de concentração $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .	74
Figura 30 – Padrões da espectrofotometria, onde houve problemas no ponto de concentração $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esquerda para direita: “branco”, $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , $150 \mu\text{g L}^{-1}$ , $200 \mu\text{g L}^{-1}$ .	75
Figura 31 – Gráfico da curva da espectrofotometria rejeitando o ponto de concentração $70 \mu\text{g L}^{-1}$ e retirando a terceira amostra do ponto de concentração $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .	76
Figura 32 – Curva do clorofórmio iniciando do ponto “zero” ao $350 \mu\text{g L}^{-1}$ .	81
Figura 33 – Curva do clorofórmio rejeitando os pontos de concentração $100 \mu\text{g L}^{-1}$ e $150 \mu\text{g L}^{-1}$ .	81
Figura 34 – Gráfico comparativo entre as absorvâncias da curva do clorofórmio e a recuperação.	83
Figura 35 – Gráfico comparativo das médias das absorvâncias do clorofórmio e do MIX.	85
Figura 36 – Curva da solução MIX iniciando do ponto “zero” ao $350 \mu\text{g L}^{-1}$ .	85

Figura 37 – Curva da mistura rejeitando os pontos de concentração 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ . .....	86
Figura 38 – Gráfico comparativo entre as absorvâncias da curva da mistura e a recuperação. .....	87
Figura 39 – Curva do clorofórmio iniciando do ponto de concentração “zero” ao 320 $\mu\text{g L}^{-1}$ feita pelo analista 2. ....	89
Figura 40 – Curva do clorofórmio do analista 2 rejeitando os pontos de concentração 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	89
Figura 41 – Gráfico comparativo entre as médias das absorvâncias de cada analista para a curva do clorofórmio. ....	90
Figura 42 – Curva da mistura de trihalometanos iniciando do ponto “zero” ao 350 $\mu\text{g L}^{-1}$ feita pelo analista 2. ....	92
Figura 43 – Curva do analista 2 do clorofórmio iniciando do ponto de concentração “zero” ao 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	92
Figura 44 – Gráfico comparativo entre as médias das absorvâncias de cada analista para a curva da mistura. ....	93
Figura 45 – Gráfico comparativo entre as absorvâncias da curva (MIX) do analista 2 e a recuperação. ....	95
Figura 46 – Média das absorvâncias para cada padrão adicionado no método de adição de padrão do analista 2. ....	97
Figura 47 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no método da adição de padrão do analista 2 para o padrão MIX. ....	98
Figura 48 – Curva do clorofórmio refeita pelo analista 1 iniciando do ponto “zero” ao 350 $\mu\text{g L}^{-1}$ . .....	100
Figura 49 – Curva do clorofórmio refeita pelo analista 1 rejeitando os pontos de concentração 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	101

Figura 50 – Comparação das médias das absorvâncias de todas as curvas do clorofórmio para os pontos de concentração 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	102
Figura 51 – Gráfico comparativo entre as absorvâncias da curva (clorofórmio) do analista 1 e a recuperação. ....	103
Figura 52 – Curva da mistura refeita pelo analista 1 iniciando do ponto “zero” ao 350 $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	105
Figura 53 – Curva da mistura do analista 1 rejeitando os pontos de concentração 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 350 $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	106
Figura 54 – Comparação das médias das absorvâncias de todas as curvas da mistura para os pontos de concentração 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 350 $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	107
Figura 55 – Gráfico comparativo entre as absorvâncias da curva (MIX) do analista 1 e a recuperação. ....	108
Figura 56 – Média das absorvâncias para cada padrão adicionado no primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1. ....	110
Figura 57 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no primeiro teste do método da adição de padrão do analista 1 para o padrão de clorofórmio. ....	111
Figura 58 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no primeiro teste do método da adição de padrão do analista 1 para o padrão MIX.....	112
Figura 59 – Média das absorvâncias para cada padrão adicionado no segundo teste do método de adição de padrão do analista 1. ....	115
Figura 60 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no segundo teste do método da adição de padrão do analista 1 para o padrão de clorofórmio. ....	116
Figura 61 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no segundo teste do método da adição de padrão do analista 1 para o padrão MIX.....	117
Figura 62 – Gráfico do teste do efeito da matriz da amostra utilizando água da torneira....	119
Figura 63 – Varredura do comprimento de onda com uma solução de trihalometanos.	127

Figura 64 – Picos dos quatro trihalometanos na análise cromatográfica da amostra utilizada para o teste de varredura do comprimento de onda. .... 128

Figura 65 – Cromatograma da amostra utilizada para o teste de varredura do comprimento de onda. .... 139

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Interferentes e níveis máximos testados no método espectrofotométrico. .	39
Tabela 02 – Composição do reagente 1.....	39
Tabela 03 – Composição do reagente 2.....	40
Tabela 04 – Composição do reagente 3.....	40
Tabela 05 – Composição do reagente 4.....	40
Tabela 06 – Reagentes utilizados para cromatografia. ....	60
Tabela 07 – Reagentes utilizados para espectrofotometria .....	61
Tabela 08 – Equipamentos e acessórios de uso geral.....	62
Tabela 09 – valores referentes a inexatidão e imprecisão das micropipetas. ....	62
Tabela 10 – Relação concentração x área na extração manual.....	63
Tabela 11 – Relação concentração x área na extração com a centrífuga. ....	64
Tabela 12 – Comparação da extração manual com a extração na centrífuga.....	65
Tabela 13 – Relação concentração x área na extração com o agitador de tubos.....	66
Tabela 14 – Comparação da extração manual com a extração na centrífuga e com o agitador de tubos.....	67
Tabela 15 – Relação Área x Concentração do clorofórmio.....	69
Tabela 16 – Relação Área x Concentração do bromofórmio. ....	69
Tabela 17 – Relação Área x Concentração do dibromoclorometano. ....	70
Tabela 18 – Relação Área x Concentração do bromodiclorometano. ....	71
Tabela 19 – Comparação das áreas de duas análises de clorofórmio e somente o clorofórmio na solução MIX. ....	72

Tabela 20 – Relação das concentrações com suas absorvâncias da implantação do método. .....	74
Tabela 21 – Relação das concentrações com suas absorvâncias e média da segunda curva. .....	75
Tabela 22 – Cálculo do coeficiente de variação das amostras da segunda curva.....	76
Tabela 23 – Absorvâncias utilizando cubeta redonda de percurso óptico de 2,5 cm no equipamento DR 2500™. ....	77
Tabela 24 – Cálculo do coeficiente de variação para o equipamento DR 2500™ utilizando cubeta redonda de percurso óptico de 2,5 cm.....	77
Tabela 25 – Absorvâncias utilizando cubeta quadrada de percurso óptico de 2,5 cm no equipamento DR 2500™. ....	78
Tabela 26 – Cálculo do coeficiente de variação para o equipamento DR 2500™ utilizando cubeta quadrada de percurso óptico de 1,0 cm. ....	78
Tabela 27 – Absorvâncias utilizando cubeta quadrada de percurso óptico de 1,0 cm no equipamento Nicolet Evolution 100™. ....	78
Tabela 28 – Cálculo do coeficiente de variação para o equipamento Nicolet Evolution 100™ utilizando cubeta quadrada de percurso óptico de 1,0 cm. ....	79
Tabela 29 – Método ANOVA para as concentrações 50, 200 e 500 µg L <sup>-1</sup> .....	79
Tabela 30 – Absorvâncias de cada concentração da curva do clorofórmio.....	80
Tabela 31 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva do clorofórmio. .....	80
Tabela 32 – Absorvâncias da concentração 150 µg L <sup>-1</sup> da recuperação da curva do clorofórmio. ....	82
Tabela 33 – Cálculo do coeficiente de variação para as absorvâncias da concentração 150 µg L <sup>-1</sup> da recuperação da curva do clorofórmio.....	82
Tabela 34 – Cálculo da recuperação para a curva do clorofórmio. ....	83

Tabela 35 – Absorbâncias de cada concentração da curva da mistura.....	84
Tabela 36 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva da mistura. .	84
Tabela 37 – Absorbâncias da concentração 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ da recuperação da curva da mistura. .....	86
Tabela 38 – Cálculo do coeficiente de variação para as absorbâncias da concentração 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ da recuperação da curva da mistura. ....	86
Tabela 39 – Cálculo da recuperação para a curva da mistura. ....	87
Tabela 40 – Absorbâncias de cada concentração da curva do clorofórmio feita pelo analista 2. .....	88
Tabela 41 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva do clorofórmio do analista 2.....	88
Tabela 42 – Comparação entre as médias das absorbâncias de cada analista para a curva do clorofórmio.....	90
Tabela 43 – Absorbâncias de cada concentração da curva da mistura feita pelo analista 2. .....	91
Tabela 44 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva da mistura do analista 2.....	91
Tabela 45 – Comparação entre as médias das absorbâncias de cada analista para a curva do clorofórmio.....	93
Tabela 46 – Absorbâncias de cada concentração da recuperação da curva (MIX) feita pelo analista 2.....	94
Tabela 47 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da recuperação da curva (MIX) do analista 2. ....	94
Tabela 48 – Cálculo da recuperação para a curva da mistura do analista 2.....	95
Tabela 49 – Absorbâncias do método de adição de padrão do analista 2 utilizando água de torneira.....	96

Tabela 50 – Cálculo do coeficiente de variação das absorvâncias do método de adição de padrão do analista 2 utilizando água de torneira. ....	96
Tabela 51 – Absorvâncias de cada concentração da curva do clorofórmio refeita pelo analista 1. ....	99
Tabela 52 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva do clorofórmio refeita pelo analista 1. ....	100
Tabela 53 – Comparação entre as médias das absorvâncias de todas as curvas do clorofórmio. ....	101
Tabela 54 – Absorvâncias de cada concentração da recuperação da curva (clorofórmio) feita pelo analista 1. ....	103
Tabela 55 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da recuperação da curva (clorofórmio) do analista 1. ....	103
Tabela 56 – Cálculo da recuperação para a curva do clorofórmio do analista 1. ....	104
Tabela 57 – Absorvâncias de cada concentração da curva da mistura feita pelo analista 1. ....	104
Tabela 58 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva da mistura do analista 1. ....	105
Tabela 59 – Comparação entre as médias das absorvâncias de todas as curvas da mistura. ....	106
Tabela 60 – Absorvâncias de cada concentração da recuperação da curva (MIX) feita pelo analista 1. ....	107
Tabela 61 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da recuperação da curva (MIX) do analista 1. ....	107
Tabela 62 – Cálculo da recuperação para a curva da mistura do analista 1. ....	108
Tabela 63 – Absorvâncias do primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1 utilizando água da torneira ....	109

Tabela 64 – Cálculo do coeficiente de variação das absorvâncias do primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1 utilizando água da torneira. ....	110
Tabela 65 – Absorvâncias da análise da água da torneira sem diluição no primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1. ....	113
Tabela 66 – Cálculo do coeficiente de variação das absorvâncias da análise da água da torneira sem diluição no primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1. ....	113
Tabela 67 – Absorvâncias do segundo teste do método de adição de padrão do analista 1 utilizando água da torneira ....	114
Tabela 68 – Cálculo do coeficiente de variação das absorvâncias do segundo teste do método de adição de padrão do analista 1 utilizando água da torneira. ....	114
Tabela 69 – Absorvâncias do teste de efeito da matriz da amostra utilizando água da torneira. ....	118
Tabela 70 – Cálculo do coeficiente de variação das absorvâncias do teste de efeito da matriz da amostra utilizando água da torneira.....	119
Tabela 71 – Cálculo do coeficiente de variação das médias das absorvâncias para a etapa da repetitividade (clorofórmio) para as duas curvas do analista 1. ....	120
Tabela 72 – Cálculo do coeficiente de variação das médias das absorvâncias para a etapa da repetitividade (MIX) para as duas curvas do analista 1.....	120
Tabela 73 – Cálculo do coeficiente de variação para a etapa da precisão intermediária (clorofórmio) entre a segunda curva do analista 1 e curva do analista 2.....	121
Tabela 74 – Cálculo do coeficiente de variação para a etapa da precisão intermediária (MIX) entre a segunda curva do analista 1 e curva do analista 2. ....	121
Tabela 75 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias dos dois padrões da curva do analista 1.....	122
Tabela 76 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias dos dois padrões da curva do analista 2. ....	123

Tabela 77 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias dos dois padrões da segunda curva do analista 1. ....	124
Tabela 78 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias das três curvas para o padrão de clorofórmio. ....	125
Tabela 79 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias das três curvas para o padrão MIX. ....	126

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA - Análise de variância

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

LABOSAN - Laboratório de Saneamento

NUTEC - Fundação Núcleo de Tecnologia do Estado do Ceará

SELAQUA - Seção Laboratorial de Qualidade de Água

USEPA - *US Environmental Protection Agency*

Cl<sub>2</sub> – Cloro

H<sub>2</sub>O – Água

HClO – Ácido hipocloroso

HCl – Ácido clorídrico

CHCl<sub>3</sub> – Clorofórmio

CHBrCl<sub>2</sub> – Bromodiclorometano

CHBr<sub>2</sub>Cl – Dibromoclorometano

CHBr<sub>3</sub> – Bromofórmio

-OH/OH<sup>-</sup> - Radical hidroxila

C – Carbono

-CCl<sub>3</sub> – Carbono triclorado

HBrO – Ácido hipobromoso

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	23
2. OBJETIVOS.....	26
2.1 Geral.....	26
2.2 Específicos.....	26
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	27
3.1 Cloro e Trihalometanos.....	27
3.2. Análise de trihalometanos.....	29
3.2.1. Método cromatográfico.....	29
3.2.2. Método espectrofotométrico.....	35
3.3. Avaliação do método espectrofotométrico.....	40
3.3.1. Seletividade.....	41
3.3.2. Linearidade.....	41
3.3.3. Faixa de trabalho e faixa linear.....	42
3.3.4. Limite de detecção.....	42
3.3.5. Limite de quantificação.....	43
3.3.6. Tendência/recuperação.....	43
3.3.7. Precisão.....	44
3.3.8. Robustez.....	45
3.3.9. Precisão x Exatidão.....	46
3.4. Método da adição de padrão.....	46

3.5. Teste ANOVA .....	47
3.6. Tipos de erros .....	48
4. METODOLOGIA.....	50
4.1. 1ª etapa.....	50
4.2. 2ª etapa.....	50
4.2.1. 1ª fase da 2ª etapa .....	51
4.2.2. 2ª fase da 2ª etapa .....	51
4.2.3. 3ª fase da 2ª etapa .....	52
4.3. 3ª etapa.....	53
4.3.1. 1ª fase da 3ª etapa .....	54
4.3.2. 2ª fase da 3ª etapa .....	57
4.3.3. 3ª fase da 3ª etapa .....	58
4.3.4. 4ª fase da 3ª etapa .....	58
4.4. Procedimento para avaliação .....	59
4.5. Lavagem de materiais.....	59
5. MATERIAIS .....	60
5.1. Método cromatográfico .....	60
5.2. Método espectrofotométrico.....	61
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	63
6.1. 1ª etapa – Teste de confirmação de neutralização do cloro residual na água tratada....	63
6.2. 2ª etapa – Método cromatográfico.....	63
6.2.1. Implantação do método cromatográfico.....	63

6.2.2. Curva de calibração do clorofórmio utilizando um agitador de tubos .....	66
6.2.3. Curva de calibração do padrão MIX utilizando um agitador de tubos.....	68
6.3. 3ª etapa – Método espectrofotométrico .....	73
6.3.1. Implantação do método espectrofotométrico .....	73
6.3.2. Construção de duas curvas de calibração utilizando padrões de diferentes (analista 1).....	80
6.3.3. Construção de duas curvas de calibração utilizando padrões de diferentes por outro analista (analista 2) .....	88
6.3.4. Método de adição de padrão realizado pelo analista 2 .....	96
6.3.5. Repetição da construção de duas curvas de calibração utilizando padrões de diferentes pelo analista 1 .....	99
6.3.6. Método de adição de padrão realizado pelo analista 1 .....	109
6.3.7. Teste de verificação do efeito da matriz da amostra .....	118
6.3.8. Avaliação da repetitividade .....	119
6.3.9. Avaliação da precisão intermediária.....	121
6.3.10. Teste estatístico para confirmação da quantificação de todos os trihalometanos pelo método espectrofotométrico (seletividade).....	122
6.3.11. Teste estatístico para estudo de homogeneidade entre as absorbâncias de cada ponto nas três curvas de cada padrão.....	124
6.3.12. Varredura do comprimento de onda .....	126
6.4. Avaliação .....	128
6.4.1. Seletividade .....	128
6.4.2. Linearidade .....	129
6.4.3. Faixa de trabalho e faixa linear .....	129

6.4.4. Tendência/recuperação .....	129
6.4.5. Precisão.....	130
6.4.6. Robustez .....	130
7. CONCLUSÕES .....	131
8. RECOMENDAÇÕES.....	133
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	134
APÊNDICE .....	139
Apêndice A – Cromatograma.....	139
ANEXOS .....	140
Anexo A – Análise de cloro residual total.....	140

## 1. INTRODUÇÃO

A água é um bem essencial para a vida de todos os seres do Planeta, visto que é o solvente universal e é a substância mais abundante em todos os sistemas vivos. Além disso, o planeta Terra é composto em aproximadamente dois terços de água em sua superfície. A água influi em diversos aspectos na sociedade, como econômicos, por exemplo.

A desinfecção da água é uma etapa importante do processo de tratamento de água, sendo executada, normalmente, no final. Segundo Meyer (1994), o processo de desinfecção da água é executado há milênios e existem relatos de que havia recomendações de fervura da água em 500 a.C. Daniel *et al.* (2001) relata, entretanto, que esse tipo de procedimento desde de muito antes já era utilizado.

Muitos agentes químicos são usados para desinfecção da água, onde se tem como objetivo garantir a produção de água potável, a destruição de microorganismos patogênicos e, conseqüentemente, evitar a transmissão de doença por veiculação hídrica. Entretanto, alguns agentes desinfetantes da água geram subprodutos que podem ser tóxicos. (DANIEL *et al.*, 2001)

Um dos subprodutos gerados na desinfecção são as trihalometanos os quais são suspeitos de serem cancerígenos e estão enquadrados como um dos parâmetros de controle estabelecidos pela Portaria 518 (2004) do Ministério da Saúde. A concentração máxima imposta é de  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  e, de acordo com Piveli e Kato (2005), tem forte tendência a ser reduzido nas próximas revisões da legislação vigente. Para Rizzo *et al.* (2005), outros países também adotam limites máximos de trihalometanos na água tratada, onde Austrália tem a concentração limite de  $250 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ; Canadá, Japão, Coréia do Sul, Taiwan e Reino Unido têm concentração limite de  $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ; Estados Unidos têm concentração limite de  $80 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ; França e Itália tem concentração limite de  $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ; Dinamarca e Alemanha têm concentrações limites de  $15 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  e  $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, enquanto não há limite estipulado pela Turquia.

Conforme Souza *et al.* (2008), diversos estudos confirmaram o poder carcinogênico do clorofórmio em mamíferos. O clorofórmio produz neoplasma maligno e metástase (ou metastático: surgimento de uma foco secundário, no curso da evolução de um tumor maligno ou de um processo inflamatório) comprovado numa experiência com camundongos, e, em outros estudos, tumores nos ratos e camundongos. Em algumas

experiências, os compostos bromados apresentavam maior atividade cancerígena que seus análogos clorados. Testes realizados utilizando a bactéria *Salmonella typhimurium* demonstraram que o clorofórmio não apresentava propriedades mutagênicas, porém os outros trihalometanos já causavam esse tipo de dano.

Um grande desafio das estações de tratamento de água é conseguir aperfeiçoar o processo de tratamento de modo a reduzir os custos e garantir um produto de melhor qualidade. Para isso, é necessário ter respostas rápidas e precisas nas análises do controle de qualidade da água para que seja possível realizar alguma alteração no processo em tempo hábil.

De acordo com Di Bernardo, Di Bernardo e Centurione Filho (2001), na existência de matéria orgânica natural (substâncias húmicas) no manancial, pode ser necessário o uso de um oxidante antes da coagulação. Se houver a presença de algas no manancial, a pré-oxidação pode ser necessária para produzir água tratada que atenda os limites da Portaria 518. Segundo Wiecheteck *et al.* (2005), o uso de pré-oxidantes apresenta benefícios como: remoção de cor, controle de sabor e odor, diminuição de poluentes orgânicos específicos, precipitação de metais, diminuição na dosagem de coagulante e melhoria na etapa da coagulação. Porém, conforme Di Bernardo, Di Bernardo e Centurione Filho (2001), o oxidante pode reagir com a matéria orgânica natural ou com as excretas das algas e formar substâncias tóxicas às pessoas. De acordo com as pesquisas de Paschoalato *et al.* (2005), o dióxido de cloro formou menor quantidade de subprodutos que o cloro, quando comparados. Apesar disso, o cloro tem sido a opção técnica mais viável na etapa da pré-oxidação em algumas estações de tratamento de água. (PASCHOALATO *et al.*, 2005)

A análise de determinação de trihalometanos na água é realizada por cromatografia gasosa, técnica analítica bastante complexa que se utiliza de equipamentos e acessórios de alto custo de aquisição e manutenção. Além disso, é uma análise que demanda muito tempo para se obter o resultado, um fator importante para análises de qualidade de processo.

A análise espectrofotométrica para determinação de trihalometanos desenvolvida pela empresa Hach® pode ser uma opção viável para suprir esta necessidade, devido à sua simples operação, baixo custo de aquisição de equipamentos e reagentes e obtenção rápida da concentração do analito na água. Para a implantação desse procedimento analítico em escala

real, entretanto, para garantir sua confiabilidade é necessário um processo de validação onde vários parâmetros são avaliados tais como: seletividade, linearidade, faixa de trabalho e faixa linear, tendência/recuperação, precisão e robustez.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Avaliar o método espectrofotométrico comercial para determinar trihalometanos em laboratórios de processo em estações de tratamento de água.

### **2.2 Específicos**

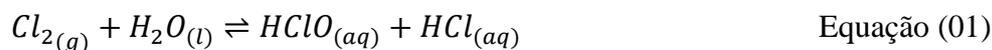
- i) Implementar a metodologia espectrofotométrica, comparando-a ao método certificado por cromatografia gasosa no parâmetro da linearidade.
- ii) Realizar determinações de concentração em amostras sintéticas e naturais com diversas concentrações dos analitos, de forma a estudar a precisão e exatidão.
- iii) Avaliar os custos da realização de análises de trihalometanos via espectrofotometria em laboratório de processo.
- iv) Avaliar a seletividade do método quanto aos quatro principais trihalometanos e outros subprodutos da desinfecção e verificar a existências de interferentes presentes na matriz da água tratada da Região Metropolitana de Fortaleza.
- v) Identificar falhas e estudar a possibilidade de implementação de melhorias no método.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Cloro e Trihalometanos

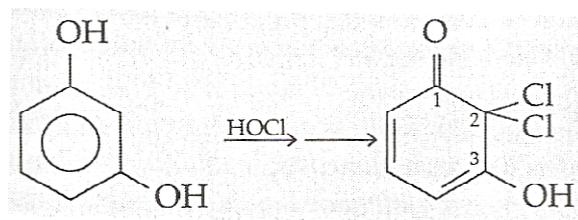
Assadi *et al.* (2007) cita que o cloro é largamente usado não só por ser efetivo no controle de seres patogênicos, mas por ter baixo custo também. Além disso, Richter e Azevedo Netto (1991) destacam que o cloro é facilmente disponível como gás, líquido ou sólido (hipoclorito); fácil de aplicar por causa de sua alta solubilidade e deixa um residual em solução que protege o sistema de distribuição. Entretanto, o cloro apresenta algumas desvantagens, porque é um gás venenoso e corrosivo, além de atribuir gosto e odor à água. (RICHTER, 2009).

Libânio (2008) destaca que a ação dos desinfetantes físicos e químicos sobre os microorganismos ocorre por ruptura da parede celular, difusão do desinfetante no interior do microorganismo e interferência na reprodução celular. Macedo *et al.* (1999) mostra a reação do cloro na água na Equação 01. A ação oxidante do cloro é controlada pelo ácido hipocloroso, que é um produto da hidrólise da substância clorada.



Entretanto, Tominaga e Mídio (2003) argumentam que a água clorada pode conter subprodutos da desinfecção. Para Sorlini e Collivignarelli (2005), a cloração de água que tenha matéria orgânica natural e brometo leva à formação de trihalometanos totais. Segundo Budziak e Carasek (2007), essa matéria orgânica é composta principalmente por ácidos húmicos e fúlvicos. Conforme Ali Tor (2006), os trihalometanos são compostos organoclorados sendo os mais comuns o clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ), o bromodiclorometano ( $\text{CHBrCl}_2$ ), o dibromoclorometano ( $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ ) e o bromofórmio ( $\text{CHBr}_3$ ).

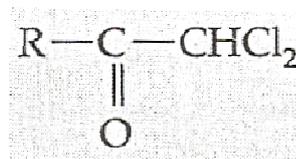
Os ácidos húmicos, que contêm anéis de 1,3-diidroxibenzeno, são de particular importância. O átomo de carbono (C-2), que se localiza entre os carbonos aos quais estão os radicais  $-\text{OH}$ , recebe átomos de cloro oriundos do ácido hipocloroso (Figura 01) (BAIRD, 2002).



Fonte: Adaptado de Baird, 2002.

Figura 01 – Reação do ácido hipocloroso com a matéria orgânica.

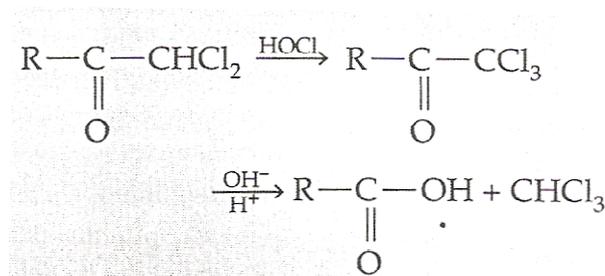
Assim, ocorre uma clivagem entre o C2 e o C3 que forma uma cadeia (Figura 02).



Fonte: Adaptado de Baird, 2002.

Figura 02 – Cadeia formada pela clivagem.

Na ocorrência de ácido hipocloroso, o carbono terminal se torna triclorado, de forma que o  $-CCl_3$  é facilmente deslocado pelo  $OH^-$  da água para formar clorofórmio (Figura 03).



Fonte: Adaptado de Baird, 2002.

Figura 03 – Formação do clorofórmio.

Uma sequência de reações análogas produzem outros trihalometanos. Mediante a ação sobre materiais húmicos, o ácido hipobromoso,  $HOBr$  é formado quando o íon brometo, em meio aquoso, desloca o cloro do  $HOCl$  (Equação 02).



Liang e Singer (2003) afirmam que mais trihalometanos são formados do que ácidos haloacéticos em água com pH 8, o que ocorre ao contrário em água com pH 6. De

acordo com Cho, Kong e Oh (2003), os trihalometanos são suspeitos de serem carcinogênicos. Conforme Zhao, Lao e Xu (2004), diferentes países estabeleceram limites de trihalometanos em água potável. A *US Environmental Protection Agency* (USEPA) determinou o limite de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . Segundo Baird (2002), esse limite não é determinado para regular somente os trihalometanos, mas serve também de indicador de que a produção de outros subprodutos da desinfecção não é excessiva.

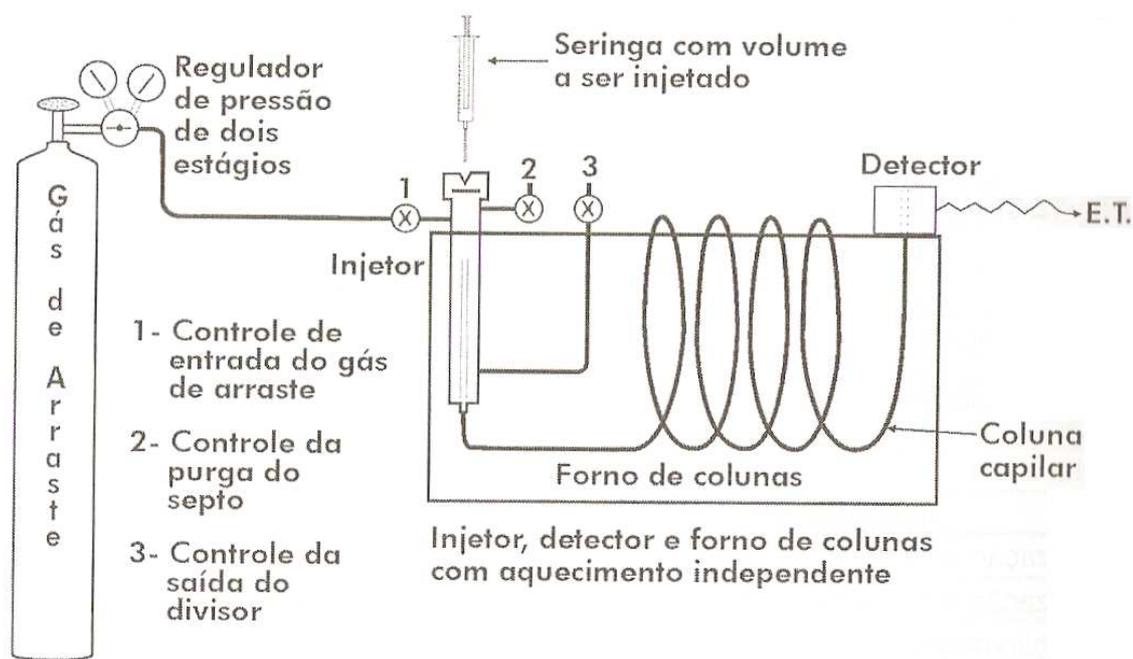
### 3.2. Análise de trihalometanos

De acordo com o Apha (2005), os trihalometanos são determinados por cromatografia gasosa pelo método da extração líquido-líquido ou por *purge and trap*. Uma técnica alternativa foi proposta pela empresa Hach®, onde os trihalometanos são quantificados por espectrofotometria.

#### 3.2.1. Método cromatográfico

A cromatografia gasosa é a técnica de análise de trihalometanos recomendada pela Apha (2005), onde estão também descritos os métodos de extração líquido-líquido e *purge and trap*. Neto e Nunes (2003) definem a cromatografia gasosa como uma técnica de separação dos componentes de uma mistura através de uma fase gasosa móvel sobre um sorvente estacionário. É uma técnica voltada para compostos voláteis, onde esses devem apresentar uma pressão de vapor adequada com a temperatura de separação.

O cromatógrafo gasoso (Figura 04) pode ser dividido em: cilindro de gás de arraste; controle de vazão e pressão do gás; injetor; forno; coluna; detector e dispositivos para o registro do sinal.



E.T. - Estação de trabalho, microprocessador, integrador / registrador.

Fonte: NETO; NUNES (2003).

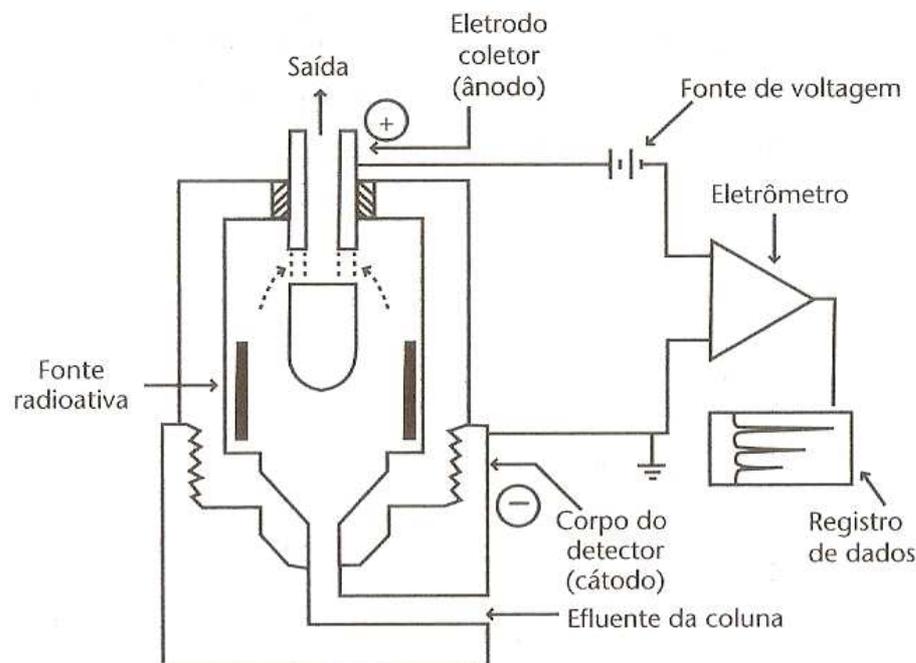
Figura 04 – Esquema de um cromatógrafo gasoso.

De acordo com Soares (2006), a cromatografia gasosa tem alto poder de resolução. Além de separar vários componentes de uma mesma amostra, sua sensibilidade pode chegar a  $10^{-12}$  g, dependendo do detector. Entretanto, a etapa de preparação da amostra pode ser extensa e difícil.

Segundo Harris (2008), moléculas que contêm halogênios, carbonilas conjugadas, nitrilas, nitrocompostos e compostos organometálicos são sensíveis para o detector de captura de elétrons, porém insensíveis a hidrocarbonetos, alcoóis e cetonas. O gás nitrogênio ou uma mistura de 5% de metano em argônio pode ser utilizado como gás de arraste, porém Collins, Braga e Bonato (2006) reportam que a umidade e oxigênio diminuem a sensibilidade do detector, afetando a linearidade.

Collins, Braga e Bonato (2006) relatam sobre o funcionamento do detector de captura de elétrons (Figura 05), onde o gás de arraste é ionizado por partículas beta emitidas por uma fonte de  $^{63}\text{Ni}$  quando passa pelo detector. Dessa forma, elétrons são produzidos e multiplicam-se dentro do detector. Em seguida, esses elétrons produzidos são coletados em um anodo, que gera uma corrente que é amplificada por um eletrômetro, formando uma linha

de base. Moléculas eluindo da coluna, que são capazes de sequestrar elétrons, diminuem essa corrente e gera um sinal que é proporcional à concentração.



Fonte: COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006.

Figura 05 – Detector de captura de elétrons detalhado.

Para Lanças (2009), a finalidade da etapa de preparo da amostra é adequar o soluto a ser analisado às condições da técnica e do método utilizados. O termo “extração” denomina a etapa em que o analito da matriz original é removido e é transferido para um solvente apropriado.

Segundo Pavón *et al.* (2008), a extração líquido-líquido é uma técnica de preparo da amostra bastante comum em análise de água, onde Lanças (2009) considera como simples e de baixo custo. De acordo com as pesquisas de Nikolaou *et al.* (2002), o método mais sensível (baixo limite de detecção e maiores taxas de recuperação que outras técnicas cromatográficas) para determinação de THM em água é utilizando o método de preparo extração líquido-líquido em um cromatógrafo gasoso equipado com Detector Captura de Elétrons. De acordo com Pavón *et al.* (2008), a extração líquido-líquido é importante, porém sua utilização em laboratórios vem diminuindo e sendo substituída por outras técnicas de preparo da amostra, pois solventes orgânicos são prejudiciais ao meio ambiente e os laboratórios tendem a tomar ações ambientalmente corretas.

Conforme Queiroz, Collins e Jardim (2001), na extração líquido-líquido acontece a divisão da amostra entre duas partes imiscíveis (aquosa e orgânica), onde a eficiência da extração depende da razão das fases, do número de extrações e da afinidade do soluto pelo solvente. Para Lanças (2009), a constante de equilíbrio é expressa pela lei de distribuição de Nernst (Equação 03):

$$K_D = \frac{[X]_B}{[X]_A}, \quad \text{Equação (03)}$$

Onde:

$K_D$  é a constante de equilíbrio;

$[X]_B$  é a concentração de X na fase do solvente e;

$[X]_A$  é a concentração de X na fase que contém o analito de interesse.

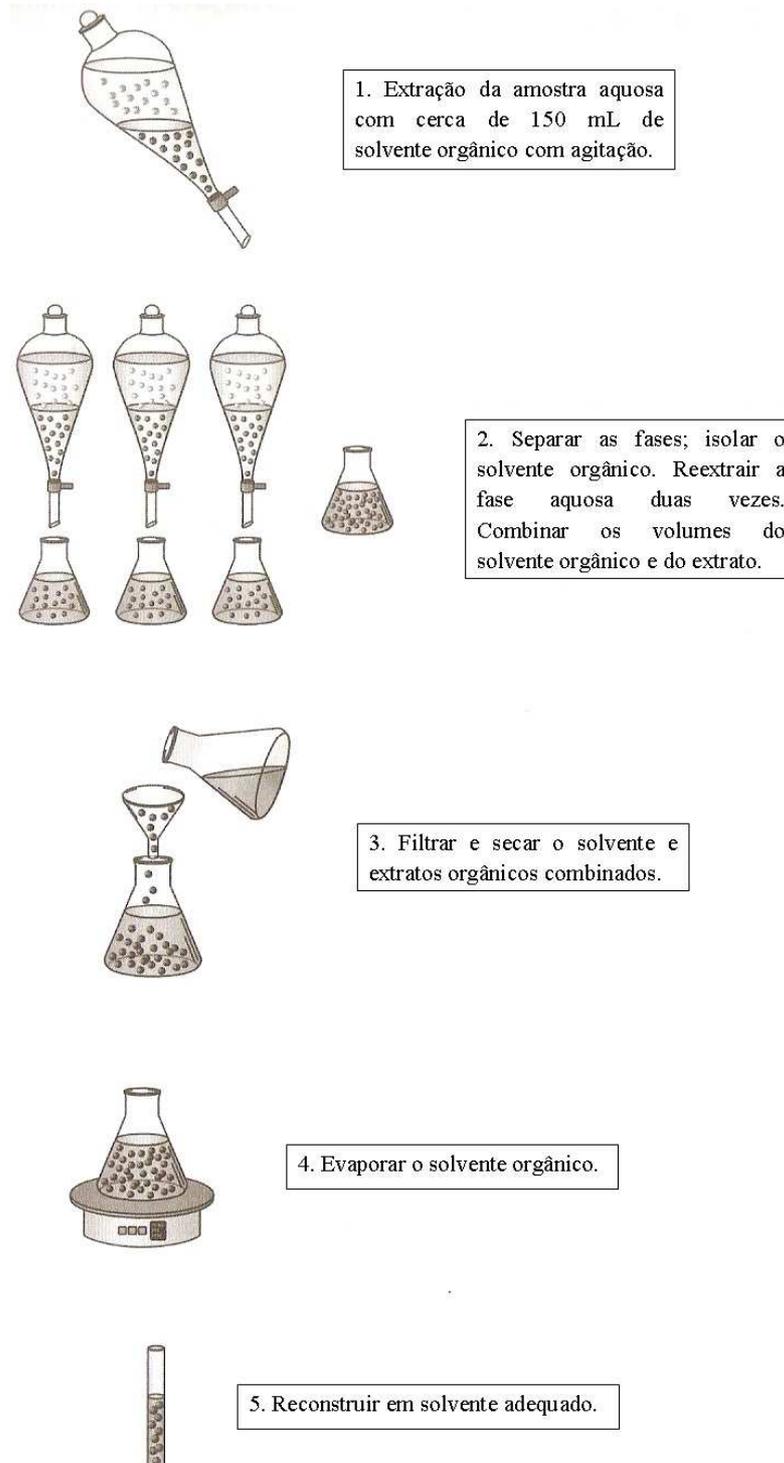
A situação ideal seria um alto valor de  $K_D$ , ou seja, uma alta transferência do analito para a fase do solvente. Queiroz, Collins e Jardim (2001) afirmam que o valor da constante pode ser aumentado pelo ajuste do pH, evitando a ionização de ácidos ou bases, pela formação de par iônico com solutos ionizáveis, pela formação de complexos lipofílicos com íons metálicos ou pela adição de sais neutros, para diminuir a solubilidade de compostos orgânicos na fase aquosa.

Pedersen-Bjergaard e Rasmussen (2008) citam os três principais objetivos da extração líquido-líquido:

- Isolar o analito desejado da amostra, onde contém outros componentes.
- Pré-concentrar o analito de modo que concentre, no mínimo, até o limite de detecção do aparelho.
- Transferir o analito desejado para um meio compatível com o sistema cromatográfico.

A vantagem da extração líquido-líquido (Figura 06) é a simplicidade e a possibilidade de utilização de um grande número de solventes, que fornecem uma grande faixa de solubilidade e seletividade. Porém, as desvantagens são: amostras com alta afinidade com a água não são totalmente extraídas, resultando em perda do analito; os solventes precisam ser ultrapuros para não haver interferência; se ocorrer emulsão, haverá uma maior demanda de tempo; Em alguns casos, necessita-se de um uso de grande quantidade de amostra

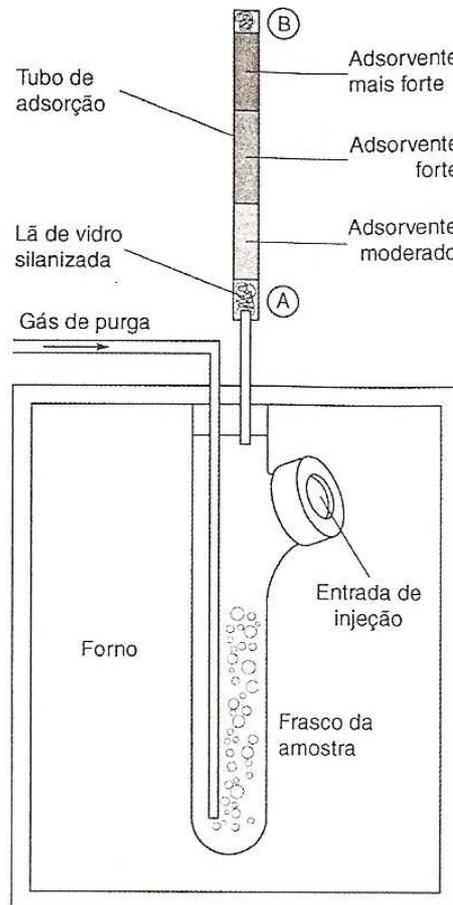
e solvente, onde ocorre problema com descarte; os solventes são tóxicos, há uma probabilidade de adsorção do analito na vidraria; durante a etapa da pré-concentração, poderá haver decomposição de compostos instáveis termicamente; processo de difícil automação e suscetível a erros (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM , 2001).



Fonte: Adaptado de Lanças, 2009.

Figura 06 – Exemplo de uma extração líquido-líquido.

Outro método de preparo da amostra recomendado pela Apha (2005) é o de purga e aprisionamento ou *purge and trap* (Figura 07). Esse método remove os analitos voláteis de líquidos e sólidos e os concentra, e introduz no cromatógrafo gasoso. O objetivo desse método é remover 100% do analito presente na amostra (HARRIS, 2008).



Fonte: HARRIS, 2008.

Figura 07 – Esquema de um dispositivo de purga e aprisionamento.

Nesse processo, o gás de purga é borbulhado na amostra por meio de uma agulha de aço e o frasco da amostra é aquecido para facilitar a evaporação dos analitos. O gás de purga sai do frasco da amostra e passa por um tubo de adsorção contendo três camadas de adsorventes, onde a ordem é do material de menor adsorção no início para o material de maior adsorção no final. Após purgar todos os analitos para os adsorventes (sentido A para B), o gás é purgado no sentido contrário (sentido B para A) para retirar o máximo possível a água ou outro solvente retido na armadilha de aprisionamento. A saída A do tubo é ligada à entrada de injeção do cromatógrafo gasoso; a armadilha é aquecida, e os analitos dessorvidos fluem para o interior da coluna do cromatógrafo, onde são retidos no aprisionamento a frio. Após o

término da dessorção pela armadilha de aprisionamento, a coluna é aquecida e o processo de separação é iniciado (HARRIS, 2008).

### 3.2.2. Método espectrofotométrico

Visto que a determinação de trihalometanos é realizada por cromatografia gasosa, técnica de alto custo para uma estação de tratamento de água e que demanda muito tempo nas análises, a empresa Hach® desenvolveu um método alternativo de quantificação desses subprodutos da desinfecção da água. As vantagens e os benefícios teóricos listados por Hach (1999) seriam:

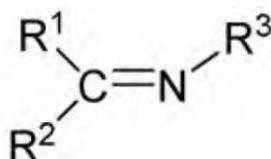
- Resultados imediatos: cada teste dura em média 30 minutos.
- Baixo custo: se gasta menos de dez dólares por teste.
- Simples operação: qualquer operador de baixo nível técnico pode realizar a análise.
- Alta precisão: o método apresenta excelente recuperação.
- Faixa de trabalho: trabalha na faixa de 0 – 200 ppb reportado em clorofórmio.
- Limite de detecção estimado: 6 ppb.

Segundo Cancho e Ventura (2005), o THM Plus™, patenteado pela Hach®, é um método colorimétrico adaptado às estações de tratamento de água que permite uma resposta rápida sobre a formação de trihalometano na estação e na rede de distribuição. Não há uso de solventes e outros materiais voláteis e perigosos, além das etapas de extração e pré-concentração da amostra serem dispensadas.

Baseado no sumário de Hach (1999), os trihalometanos presentes na amostra reagem com a N,N-dietilnicotinamida em condição alcalina e sob aquecimento para formar um dialdeído intermediário. Assim, a amostra é resfriada e acidificada para o pH 2,5. O dialdeído intermediário irá reagir com o composto 7-naftilamina-1,3 ácido dissulfônico para formar a base colorida Schiff que absorverá a cor a 515 nm. A cor formada é proporcional a quantidade de trihalometanos presentes na amostra e os resultados são reportados em ppb de clorofórmio, visto que o clorofórmio é o padrão usado para construir a curva de calibração desse método.

Lord (2004) diz que a piridina é utilizada como reagente no método do THM Plus™, baseada na reação de Fujiwara. Conforme Reith, Ditmarsch e Ruiter (1974), Fujiwara descobriu que quando o clorofórmio e outros haletos orgânicos são aquecidos reagindo com piridina e hidróxido de sódio, desenvolve-se uma coloração avermelhada.

Segundo Da Silva *et al.* (2010), as bases de Schiffs (Figura 08) são formadas quando uma amina primária reage com um aldeído ou uma cetona em condições específicas. Para Esteves-Souza *et al.* (2004); as bases de Schiff são iminas derivadas da condensação de substâncias carbonílicas com amina. A figura 10 ilustra a estrutura geral de uma base de Schiff. Esteves-Souza *et al.* (2004) diz que a parte CH=N- funciona como uma ponte transmitindo os efeitos eletrônicos entre os anéis aromáticos, o que irá favorecer a planaridade do sistema e dar características mesogênicas.

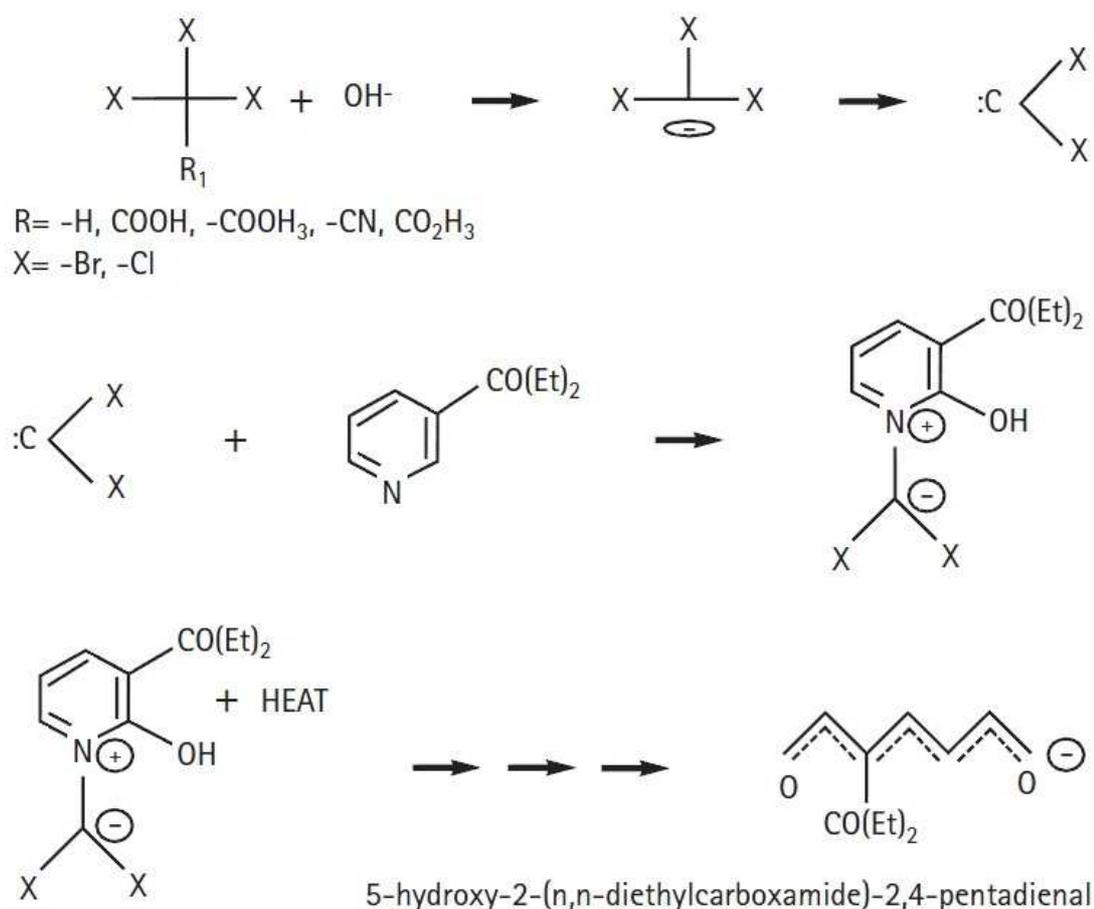


$\text{R}^1, \text{R}^2, \text{ and/or } \text{R}^3 = \text{alkyl or aryl}$

Fonte: DA SILVA *et al.* 2010.

Figura 08 - Estrutura geral de uma base de Schiff.

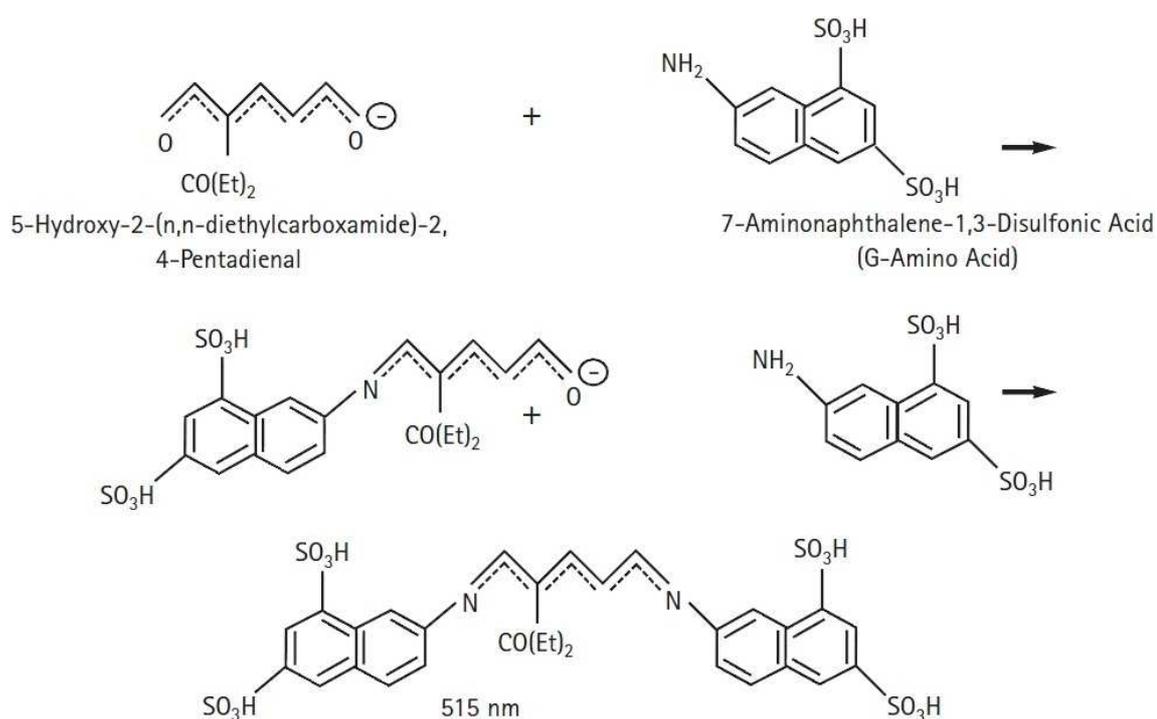
Segundo Lord (2004), o mecanismo de reação em duas etapas. Na amostra aquosa, as espécies trihalogenadas reagem com a N,N-dietilnicotinamida, como mostrado na Figura 09. Quando se adiciona o hidróxido de potássio e submete a amostra a aquecimento, há a quebra do anel da N,N-dietilnicotinamida para se decompor a 5-hidroxi-2-(N,N-dietilcarboxiamida)-2,4-pentadienal. Essa etapa da reação é similar a etapa da reação de Fujiwara clássica para triclorometano.



Fonte: LORD, 2004.

Figura 09 - 1ª etapa do mecanismo de reação do método espectrofotométrico.

O composto formado 5-hidroxi-2-(N,N-dietilcarboxiamida)-2,4-pentadienal reage com 7-naftilamina-1,3-ácido dissulfônico (G-aminoácido), como mostrado na figura 10. A base Schiff formada absorve um pico máximo no comprimento de onda 515 nm. A amostra de cor alaranjada segue a lei de Beer e se relaciona diretamente com a quantidade de espécies trihalogenadas presentes.



Fonte: LORD, 2004.

Figura 10 - 2ª etapa do mecanismo de reação do método espectrofotométrico.

De acordo com as pesquisas feitas por Lord (2004), o THM Plus™ identifica os seguintes compostos: triclorometano (clorofórmio), bromodiclorometano, dibromoclorometano, tribromometano (bromofórmio), ácido tricloroacético, ácido bromoadicloroacético, ácido dibromocloroacético, ácido tribromoacético, hidrato de cloral, 1,1,1-tricloro-2-propanona, 1,1,1-tricloroacetnitrila. Como é proposto por Hach (1999), esses subprodutos da desinfecção interferem quantitativamente a maior no resultado.

Os interferentes que não têm efeito até o nível máximo testado estão descritos na Tabela 01.

Tabela 01 – Interferentes e níveis máximos testados no método espectrofotométrico.

<b>Interferentes</b>	<b>Nível máximo testado</b>
Cloro	<10 ppm
Cobre	<1000 ppm
Dureza (Ca <sup>2+</sup> )	<1000 ppm como CaCO <sub>3</sub> , pode haver turvação até o reagente 3 ser adicionado.
Dureza (Mg <sup>2+</sup> )	<4000 ppm como CaCO <sub>3</sub> , pode haver turvação até o reagente 3 ser adicionado.
Ferro	<10 ppm
Chumbo	<2 ppm
Mercúrio	<10 ppm
Monocloroamina	<20 ppm
Níquel	<10 ppm
Bissulfito de sódio	<100 ppm
EDTA	Interfere negativamente em todos os níveis.

Fonte: HACH (1999)

No total, são quatro tipos de reagentes utilizados no método THM Plus™. Eles estão representados nas Tabelas 2 a 5.

Tabela 02 – Composição do reagente 1.

<b>THM Plus Reagent 1™ Cat. No. 27539-29</b>		
<b>No. CAS</b>	<b>Nome químico</b>	<b>Quantidade</b>
1310-58-3	Hidróxido de potássio	60-70 %
7732-18-5	Água ultra pura	30-40 %
10102-17-7	Tiosulfato de sódio	1-5 %

Fonte: Adaptado de Hach Lange (2009a)

Tabela 03 – Composição do reagente 2.

THM Plus Reagent 2™ Cat. No. 27540-48		
No. CAS	Nome químico	Quantidade
59-26-7	N,N-dietilnicotinamina	100 %

Fonte: Adaptado de Hach Lange (2009b)

Tabela 04 – Composição do reagente 3.

THM Plus Reagent 3™ Cat. No. 27541-42		
No. CAS	Nome químico	Quantidade
7664-38-2	Ácido fosfórico	60-70 %
7732-18-5	Água ultra pura	10-20 %
7664-93-9	Ácido sulfúrico	10-20 %

Fonte: Adaptado de Hach Lange (2009c)

Tabela 05 – Composição do reagente 4.

THM Plus Reagent 4™ Cat. No. 27566-99		
No. CAS	Nome químico	Quantidade
842-15-9	G-aminoácido	90-100 %
9050-36-6	Maltodextrina	1-10 %

Fonte: Adaptado de Hach Lange (2009d)

### 3.3. Avaliação do método espectrofotométrico

Lanças (2004) define validação como o ato ou efeito de validar, dar validade, tornar válido, tornar legítimo ou legal. Visa diminuir ou controlar os fatores que levam à imprecisão ou inexatidão de um dado gerado.

Inmetro (2010) reporta alguns dos principais parâmetros a serem estudados: seletividade, linearidade, faixa de trabalho e faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, tendência/recuperação, precisão (repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade), robustez.

### 3.3.1. Seletividade

Leite (2008) diz que seletividade é a etapa do método em que se determina uma espécie em particular, em misturas ou matrizes, sem sofrer interferências de outras espécies de comportamento similar. Inmetro (2010) relata que, se não há seletividade no método, a linearidade, a tendência e a precisão estarão seriamente comprometidas.

### 3.3.2. Linearidade

A linearidade é a resposta obtida em função da concentração do analito, a qual deve ser estudada em um intervalo de concentração apropriado. (LANÇAS, 2004)

Para Leite (2008), quando se obtêm os pontos da curva de calibração analítica, algumas regras são definidas para a qualidade da curva:

- A curva deve ter, no mínimo, cinco pontos, incluindo o menor e maior valor.
- Alguns pontos da curva podem ser excluídos, desde que se mantenham cinco pontos. O maior e menor devem permanecer.
- Deve-se evitar excluir dois pontos sequenciais.
- A curva será iniciada pelo menor valor mensurável ou pelo menor valor de interesse para a quantificação.

Conforme exposto por Inmetro (2010) e Leite (2008), deve-se conhecer a dependência entre a resposta medida e a concentração do analito na quantificação. Pode-se usar a padronização externa ou interna para obter-se a linearidade e se formular uma expressão matemática para calcular a concentração do analito presente na amostra. A equação da reta é expressa da seguinte forma (Equação 04):

$$y = ax + b \quad \text{Equação (04)}$$

Onde:

a = coeficiente angular (expressa a inclinação da curva em relação aos eixos).

b = coeficiente linear (expressa a intersecção da curva aos eixos).

A regressão normalmente utilizada para análise é a dos mínimos quadrados, sendo a equação da reta obtida registrada. A correlação é calculada por intermédio do coeficiente  $r$  de Pearson, ou pelo coeficiente de determinação,  $r^2$ . (LANÇAS, 2004)

### 3.3.3. Faixa de trabalho e faixa linear

A faixa de trabalho deve cobrir a faixa de aplicação para a qual o ensaio vai ser usado e a concentração mais esperada da amostra deve, sempre que possível, se situar no centro da faixa de trabalho. Na faixa de trabalho, poderá existir uma faixa que a resposta seja linear e nesta, a resposta do sinal terá uma linearidade com o analito ou valor da propriedade. A extensão dessa faixa será estabelecida durante o estudo da faixa de trabalho. (INMETRO, 2010)

### 3.3.4. Limite de detecção

Segundo Ribani *et al.* (2004), representa a menor concentração da espécie química que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada. Existem três maneiras diferentes para calcular o limite de detecção:

- Método visual: utiliza-se a matriz com adição de concentrações conhecidas do analito de interesse, onde se distingue o ruído e sinal analítico pela visualização da menor concentração visível.
- Método da relação sinal-ruído: aplicado somente para procedimentos que permitem a visualização da linha de base, onde se compara a medição dos sinais de amostras de baixas concentrações conhecidas do analito de interesse na matriz com o sinal de um “branco”.
- Método baseado em parâmetros da curva analítica pode ser expresso como (Equação 05):

$$LD = 3,3x \frac{s}{S} \quad \text{Equação (05)}$$

Onde:

$s$  é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação e;

S é a inclinação (“slope”) ou coeficiente angular da curva analítica.

Para calcular esses dados, uma curva analítica deverá ser construída utilizando a matriz contendo o composto de interesse na faixa de concentração próxima ao limite de detecção.

### 3.3.5. Limite de quantificação

Corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e com uma fidelidade determinada. (LANÇAS, 2004)

Para Ribani (2004), utilizando os mesmos métodos do limite de detecção, usa-se a seguinte equação para calcular o limite de quantificação (Equação 06):

$$LQ = 10x \frac{s}{S} \quad \text{Equação (06)}$$

Ribani (2004) diz que a melhor forma de se calcular os limites de detecção e quantificação é utilizar o método baseado nos parâmetros da curva analítica, que é estatisticamente mais confiável. A curva analítica deve conter a concentração correspondente ao limite de quantificação.

### 3.3.6. Tendência/recuperação

Albano e Rodriguez (2009) dizem que exatidão é o grau de concordância entre o resultado de uma medição e um valor verdadeiro de um mensurando e que traduz a concordância dos valores experimentais com o valor verdadeiro. Inmetro (2010) diz que a exatidão, no momento em que se aplica uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos (tendência). Para se determinar a tendência de um método, usa-se:

- Materiais de referência certificados (MRC).
- Participação em comparações interlaboratoriais.
- Realização de ensaios de recuperação.

Conforme Leite (2008), recuperação é a porcentagem de erro ou perda da espécie em análise e fator de recuperação é o número obtido. Segundo Inmetro (2010), a recuperação tem sua limitação devido ao analito adicionado não estar necessariamente na mesma forma presente na amostra. Para Leite (2008), conhecendo a quantidade adicionada do analito e também a de analito obtida na análise, expressa-se o fator de recuperação (Equação 07):

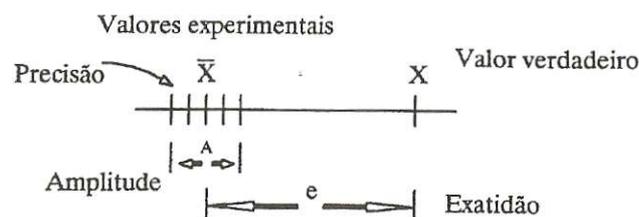
$$(Fator\ de\ recuperação)Fr = \frac{Quantidade\ quantificada\ da\ espécie}{Quantidade\ adicionada\ na\ espécie} \times 100\% \quad \text{Equação (07)}$$

De acordo com Inmetro (2010), essa tendência deve ser corrigida ou demonstrada ser desprezível, porém em ambos os casos, a incerteza que está associada com a determinação da tendência permanece como um componente importante da incerteza global. A exatidão é determinada numericamente pela tendência.

Hach (1999) recomenda uma recuperação de no mínimo 80% para ser aceitável, enquanto a Apha (2005) recomenda uma recuperação entre 80% e 120%

### 3.3.7. Precisão

Cienfuegos (2005) denomina a precisão como a concordância entre vários valores experimentais obtidos. Quanto mais próximos estiverem os valores, a amplitude será menor e a precisão será maior. Na Figura 11, a precisão do instrumento de medição quantifica a proximidade das medidas individuais dadas pelo instrumento.



Fonte: CIENFUEGOS, 2005.

Figura 11 – Conceito de precisão.

Para Inmetro (2010) e Lanças (2004), as três formas que, normalmente, a precisão é expressa são:

- Repetitividade

- ✓ O mesmo método.

- ✓ Para a mesma amostra.
  - ✓ No mesmo laboratório.
  - ✓ Pelo mesmo operador.
  - ✓ Usando o mesmo equipamento.
  - ✓ Em um curto intervalo de tempo
- Precisão intermediária
    - ✓ Diferentes analistas.
    - ✓ Diferentes equipamentos.
    - ✓ Diferentes tempos.
  - Reprodutibilidade
    - ✓ O mesmo método.
    - ✓ Para a mesma amostra.
    - ✓ Em diferentes laboratórios.
    - ✓ Por diferentes operadores.
    - ✓ Usando diferentes equipamentos.

Conforme Inmetro (2010), a precisão pode ser expressa pelo desvio-padrão e o coeficiente de variação. O coeficiente de variação é expresso pela Equação 08:

$$\text{Coeficiente de variação (\%)} = \frac{\text{desvio-padrão}}{\text{Concentração média determinada}} \times 100 \quad \text{Equação (08)}$$

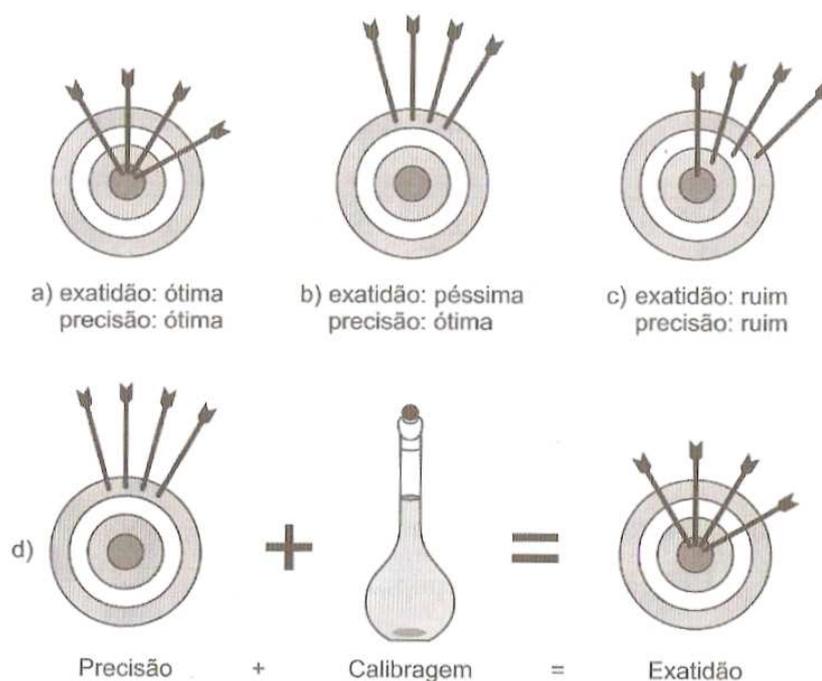
### 3.3.8. Robustez

Albano e Rodriguez (2009) definem como a suscetibilidade do método analítico em responder a pequenas alterações das condições experimentais. Na prática, aplica-se em condições experimentais sujeitas a variações, como: estabilidade do reagente, composição da amostra, pH, temperatura e outras.

Segundo Inmetro (2010), quanto maior for a robustez do método, maior será a confiança em sua precisão.

### 3.3.9. Precisão x Exatidão

Para exemplificar melhor o conceito de precisão e exatidão, a Figura 12 ilustra seus conceitos.



Fonte: LANÇAS, 2004.

Figura 12 – Inter-relação entre exatidão e precisão.

A Figura 12 faz uma analogia entre resultados de uma análise e “tiro ao alvo”. O verdadeiro resultado é comparado ao centro do alvo.

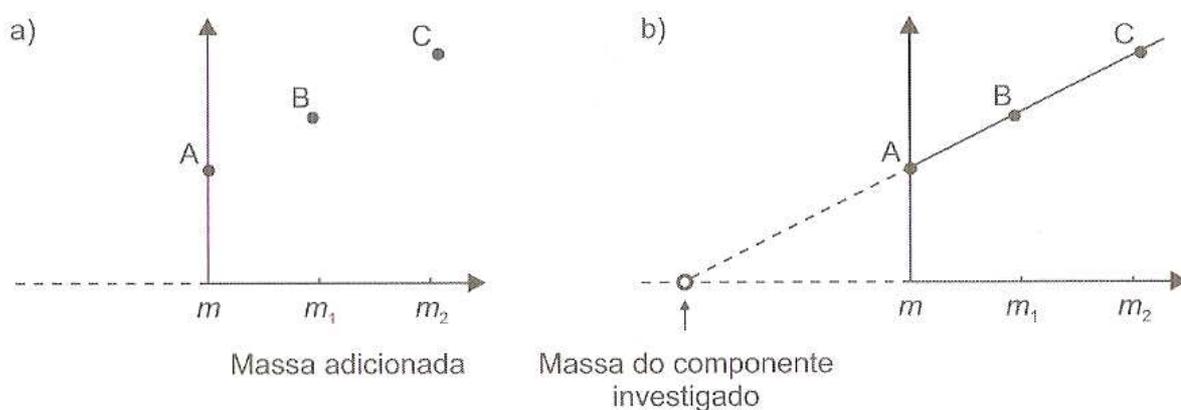
A parte (a) indica uma ótima precisão e exatidão, pois os resultados estão no centro do alvo e juntos. A parte (b) indica uma ótima precisão, porém uma péssima exatidão, pois todos os resultados estão no mesmo lugar, mas longe do alvo. A parte (c) mostra um caso em que não há precisão, nem exatidão. A parte (d) mostra que, quando a precisão é ótima como na parte (b), pode-se obter uma exatidão através de uma calibração (LANÇAS, 2004).

### 3.4. Método da adição de padrão

Lanças (2004) diz que a adição de padrão consiste em determinar a massa de uma amostra desconhecida, a partir de um gráfico de calibração, por meio da adição sucessiva de quantidades conhecidas do padrão.

Vogel (2002) relata que essa técnica é muito aplicada em métodos espectroscópicos e eletroquímicos para contrabalançar o efeito da matriz.

Conforme exposto na Figura 13, determina-se inicialmente a absorvância do componente desconhecido, o ponto A, por exemplo, e insere esse valor no eixo das ordenadas. Uma massa conhecida do analito,  $m_1$ , por exemplo, é adicionada à mistura e realiza-se a análise. A nova absorvância, B, é inserida no gráfico, sendo, em seguida, adicionada uma nova massa,  $m_2$ , por exemplo, obtendo-se uma nova absorvância, C. Insere-se a melhor linha reta entre os pontos e extrapola-se até o lado esquerdo do eixo das massas. O valor obtido na interseção será a massa do composto na amostra original (LANÇAS, 2004).



Fonte: Adaptado de Lanças, 2004.

Figura 13 – Gráficos do método adição de padrão. Em (a), gráfico de calibração e em (b), determinação da massa.

Conforme Vogel (2002), a concentração da substância adicionada não pode ser muito alta, pois a resposta (absorvância) deve estar linearmente relacionada com a concentração e em altas concentrações a relação linear não é válida. Além disso, os métodos de extrapolação são menos precisos que a interpolação gráfica.

### 3.5. Teste ANOVA

A análise de variância (ANOVA) é uma ferramenta estatística usada para separar e estimar as diferentes causas da variação. Assim, há um teste nos resultados para saber se há diferença significativa pela alteração de algum fator da análise, a partir da variação devido ao erro aleatório (MILLER; MILLER, 1988). De acordo com o Inmetro (2006), esse teste

estatístico pode ser usado tanto para estimar a variância dos valores utilizados na regressão linear do estudo de estabilidade, como para estimar a homogeneidade de uma amostragem. Para Miller e Miller (1988), o teste ANOVA pode trabalhar tanto com um fator, como pode trabalhar com dois fatores de interesse.

O ANOVA pode ser avaliado da seguinte forma: se o “F” calculado for menor que o “F” crítico, os fatores analisados não possuem diferenças significativas. Porém, se o “F” calculado for maior que o “F” crítico, há uma evidência que os fatores analisados possuem uma diferença significativa. É possível analisar se há diferença pelo valor “p”. Se ele for menor que 0,05, significa que existem diferenças significativas entre os diferentes níveis do fator analisado pela ANOVA. Se ele for maior que 0,05, significa que não existem diferenças significativas entre os níveis do fator analisado. O valor 0,05 indica 95% de confiança no teste (ou 5% no nível de significância) (ALBANO; RODRIGUEZ, 2009).

### **3.6. Tipos de erros**

Para Leite (2008), erro é a diferença entre um valor obtido ao se medir uma grandeza e o valor real.

Conforme Skoog *et al.* (2005), as análises químicas são afetadas por pelo menos dois tipos de erros. Um deles é o erro aleatório, onde os dados se distribuem de forma mais ou menos simétrica em torno do valor médio e esse erro é refletido pela precisão. Existe também o erro sistemático que ocasiona o valor da média de um conjunto de dados ser diferente do valor aceito. Os erros sistemáticos presentes em série de replicatas resultam em valores muito baixos ou altos.

Fonseca (2004) faz uma classificação desses dois erros. Erros sistemáticos ocorrem em geral num sentido (desvio sistemático do valor medido); não se detectam pela repetição das experiências; não é possível efetuar um método estatístico; tem origem determinada e podem ser resolvidos com ações corretivas. Erros aleatórios são de natureza indeterminada; ocorrem nos dois sentidos; podem ser determinados pela repetição da análise e podem ser minimizados, nunca eliminados. Baccan *et al.* (2001) exemplifica um erro aleatório no momento em que há pequenas variações nos resultados quando uma pessoa realiza a

mesma análise na ausência de erros sistemáticos. Esses erros não podem ser localizados e corrigidos.

Bortoloti e Bruns (2007) recomendam a realização de replicatas, pois permite uma melhor investigação do erro presente nas medidas e elas aumentam a chance de se aproximar do valor exato. A teoria do limite central evidencia esse fato, pois comprova que o erro no valor médio é menor que o erro de uma observação individual. Para garantir a confiabilidade das análises, a ordem de realização dos experimentos e replicatas deve ser aleatória, pois, caso seja realizado duas medidas de forma seqüencial, o erro que afetar a primeira medida afetará a segunda também de forma sistemática. Todas as condições de realização do experimento devem ser refeitas para garantir a autenticidade da replicata e qualidade da análise estatística.

## **4. METODOLOGIA**

A pesquisa foi dividida em três etapas. A primeira etapa consistiu em um teste para se certificar se o agente redutor neutralizava o cloro residual na água tratada; a segunda etapa compreendeu a implantação do método cromatográfico e a construção de duas curvas, utilizando uma solução de clorofórmio e outra solução MIX (mistura dos quatro trihalometanos); e a terceira etapa constou da construção de várias curvas utilizando uma solução de clorofórmio, uma solução MIX e a aplicação do método da adição de padrão.

### **4.1. 1ª etapa**

Na primeira etapa, foi realizado um teste para garantir a eficácia da neutralização do cloro residual livre na água tratada pelo agente redutor (tiosulfato de sódio). Nessa etapa, utilizou-se o procedimento experimental proposto pelo Standard Methods – Método 6010- B 21ª edição/2005 WEF, AWWA, APHA.

O teste foi realizado na Estação de Tratamento de Água (ETA) Gavião, estação que abastece a Região Metropolitana de Fortaleza, localizada no município de Pacatuba (CE).

O motivo pelo qual em realizar o teste na ETA Gavião foi a alta concentração de cloro residual livre da saída da ETA. Utilizou-se o método de titulometria com sulfato ferroso amoniacal empregando DPD como indicador (Standard Methods – Método 4500 - Cl - F 21ª edição/2005 WEF, AWWA, APHA).

### **4.2. 2ª etapa**

Na segunda etapa, a pesquisa foi dividida em três fases, como mostrado na Figura 14.

A primeira fase foi a implantação do método de determinação de trihalometanos baseado pelo Standard Methods – Método 6232 - B 21ª edição/2005 WEF, AWWA, APHA.

A segunda fase foi a construção de uma curva utilizando somente clorofórmio.

A terceira fase foi a construção de uma curva utilizando a solução MIX (todos os trihalometanos).

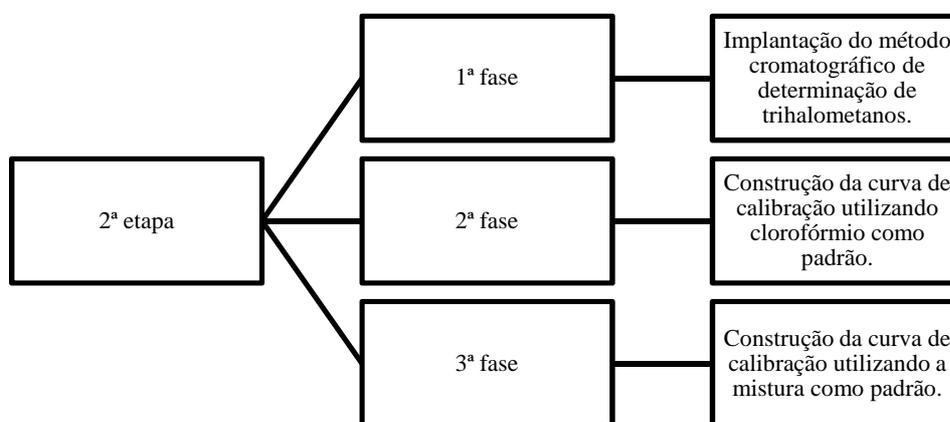


Figura 14 – Fluxograma esquemático da 2ª etapa da parte experimental da pesquisa.

#### 4.2.1. 1ª fase da 2ª etapa

A primeira fase compreendeu a implantação do método de determinação de trihalometano baseado pelo Standard Methods – Método 6232- B 21ª edição/2005 WEF, AWWA, APHA. Esse procedimento adota a extração líquido-líquido como método de preparo da amostra utilizando o detector de captura de elétrons. Entretanto, o método não apresenta todos os dados a serem inseridos no cromatógrafo gasoso, como temperatura do injetor e temperatura do detector. Dessa forma, utilizaram-se os dados da EPA (1990) como complementos para implantação do método.

Para aplicar a extração líquido-líquido, foram feitas três tentativas de extração da amostra: agitação com a mão, agitação com uma centrífuga e agitação com um agitador de tubos. O objetivo era extrair o máximo possível do analito da amostra aquosa de modo que houvesse uma linearidade com o índice de correlação acima de 0,9900 na curva.

#### 4.2.2. 2ª fase da 2ª etapa

A segunda fase constou da construção de uma curva só com um trihalometano, o clorofórmio. Para isso, utilizou-se uma ampola contendo 1 mL de solução de clorofórmio da

marca Supelco®. A concentração era de  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$  e foi diluída em álcool metílico 99,9% UV/HPLC – Espectroscópico em um balão volumétrico de 50 mL, resultando numa concentração final de  $4.000 \mu\text{g L}^{-1}$  de clorofórmio. A solução padrão era injetada submersa no álcool metílico, sem formar bolhas. Essa solução *stock* era armazenada em um frasco âmbar sem ar ou com o mínimo de ar possível e mantida no congelador entre  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  na ausência de luz. Esse procedimento está proposto pelo Standard Methods – Método 6200- B 21ª edição/2005 WEF, AWWA, APHA.

A partir dessa solução *stock*, preparavam-se concentrações de 10, 50, 70, 100, 130, 150 e  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esses pontos eram preparados em balões volumétricos de 50 mL e diluídos em água ultrapura. A solução *stock* era imersa na água ultrapura, sem formar bolhas. Essas soluções eram condicionadas a frio e vedadas com um filme para evitar a perda do analito sendo estáveis apenas por uma hora.

Dessa forma, transferia-se uma alíquota de 5 mL de cada amostra para tubos finos e volume total de 12 mL. Em seguida, adicionava-se o solvente n-pentano, utilizado também para análise de resíduo de pesticida, levando ao agitador de tubos e deixando por 1 minuto para que houvesse extração. Terminado o tempo, a amostra era deixada em repouso por dois minutos para haver a separação de fases (água + solvente). Caso não houvesse tal separação, a amostra era condicionada a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  e, assim, conseguia-se separar uma fase de outra.

Retirava-se uma alíquota de aproximadamente 1 mL do solvente para um vial para cromatografia e injetava-se as amostras no cromatógrafo gasoso.

#### 4.2.3. 3ª fase da 2ª etapa

A terceira fase, fundamentada na fase anterior, constituiu na construção de uma curva com os trihalometanos clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio (chamada solução MIX ou mistura). Para isso, utilizou-se uma ampola contendo 1 mL de solução da marca Supelco®, onde a concentração era de  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$  para cada componente. Dessa forma, depois de diluída no balão volumétrico de 50 mL, a concentração final era de  $4.000 \mu\text{g L}^{-1}$  para cada componente. A solução padrão era injetada submersa no álcool metílico, sem formar bolhas. Essa solução *stock* era armazenada em um frasco âmbar sem ar ou com o mínimo de ar possível e mantida no congelador entre  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  na

ausência de luz. Esse procedimento está proposto pelo Standard Methods – Método 6200- B 21ª edição/2005 WEF, AWWA, APHA.

A partir dessa solução *stock*, preparavam-se concentrações de 10, 50, 70, 100, 130, 150 e 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Esses pontos eram preparados em balões volumétricos de 50 mL e diluídos em água ultrapura. A solução *stock* era imersa na água ultrapura, sem formar bolhas. Essas soluções eram condicionadas a frio e vedadas com um filme para evitar a perda do analito sendo estáveis apenas por uma hora.

Dessa forma, transferia-se uma alíquota de 5 mL de cada amostra para tubos finos e volume total de 12 mL. Em seguida, adicionava-se o solvente n-pentano, utilizado também para análise de resíduo de pesticida, levando ao agitador de tubos e deixando por 1 minuto para que houvesse extração. Terminado o tempo, a amostra era deixada em repouso por dois minutos para haver a separação de fases (água + solvente). Caso não houvesse tal separação, a amostra era condicionada a 4 °C e, assim, conseguia-se separar uma fase de outra.

Retirava-se uma alíquota de aproximadamente 1 mL do solvente para um vial para cromatografia e injetava-se as amostras no cromatógrafo gasoso.

### 4.3. 3ª etapa

Na terceira etapa, a pesquisa foi dividida em quatro fases (Figura 15).

A primeira fase compreendeu a implantação do método espectrofotométrico para determinação de trihalometanos.

A segunda fase consistiu na construção de duas curvas de calibração: uma utilizando o clorofórmio e outra utilizando a mistura de trihalometanos como padrões.

Na terceira fase, outras duas curvas de calibração foram construídas utilizando os dois padrões (clorofórmio e mistura de trihalometanos), porém realizada por outro analista. Assim, houve uma mudança em uma das etapas do procedimento experimental. Além disso, também foi realizado o método de adição de padrão.

A quarta fase foi realizada pelo mesmo analista da fase dois, onde foram construídas mais duas curvas de calibração utilizando o clorofórmio e a mistura de

trihalometanos, porém foi realizada com a mesma mudança em uma das etapas do procedimento experimental feita pelo analista da fase três. Além disso, foram realizadas duas vezes o método de adição de padrão e um outro teste para verificar o efeito da matriz da amostra na análise química.

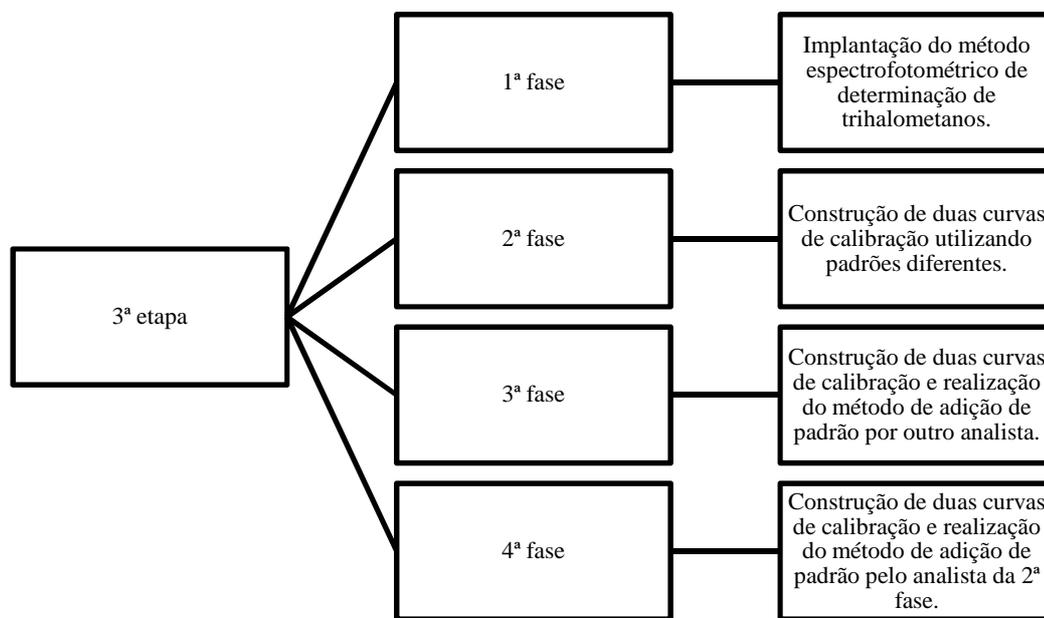
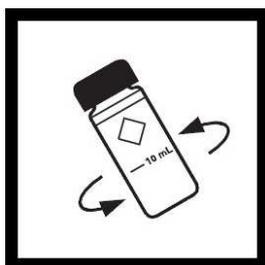


Figura 15 – Fluxograma esquemático da 3ª etapa da parte experimental da pesquisa.

#### 4.3.1. 1ª fase da 3ª etapa

A primeira fase da 3ª etapa consistiu na implantação do método espectrofotométrico. O procedimento analítico foi realizado da seguinte forma:

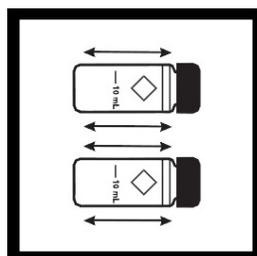
- 1) Preparou-se um banho-maria com a água levemente ebulindo e um banho de refrigeração com temperatura em torno de 18 °C – 25 °C. O volume de água não poderia passar da tampa da cubeta, mas deveria passar do nível da amostra.
- 2) A partir de duas cubetas redondas de passo óptico 2,5 cm, transferiu-se 10 mL da amostra para uma e 10 mL de água ultrapura para outra (branco).
- 3) Adicionou-se 3 gotas do reagente 1 em cada cubeta e girou-se levemente três vezes (Figura 16).



Fonte: HACH, 1999.

Figura 16 – Agitação da cubeta após a adição do reagente 1.

- 4) Em seguida, adicionou-se 3 mL do reagente 2 em cada cubeta e agitou-se 10 vezes invertendo a cubeta (Figura 17). O reagente era viscoso e poderia restar um pouco na ponteira, porém não afetaria os resultados. Essas duas etapas deveriam ser executadas rapidamente para evitar perda de trihalometanos.



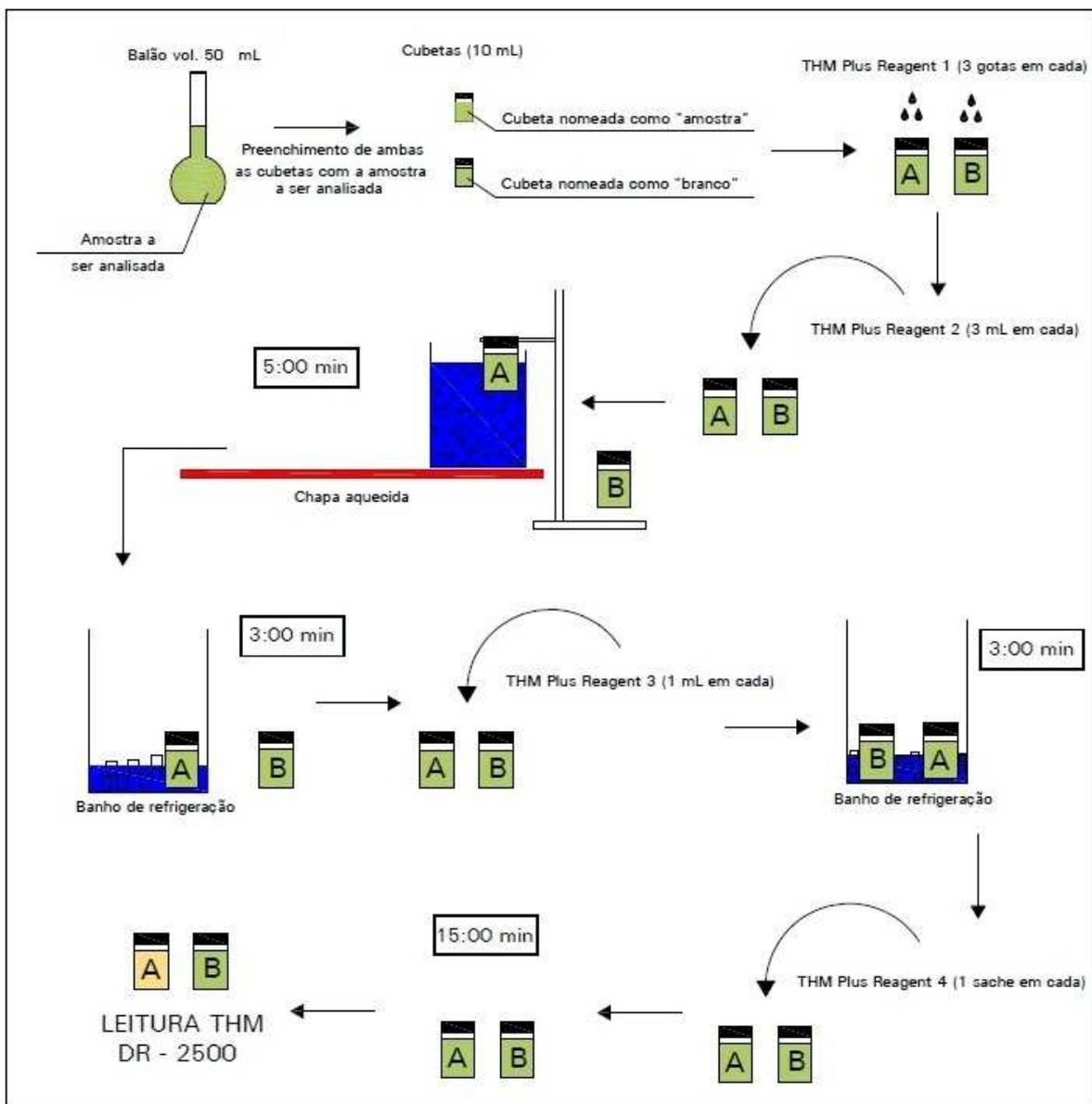
Fonte: HACH, 1999.

Figura 17 – Agitação da cubeta após a adição do reagente 2.

- 5) A amostra foi posta no banho-maria durante cinco minutos e deixou-se o “branco” em temperatura ambiente. Somente após essa etapa era que outra amostra poderia ser analisada.
- 6) Passado os cinco minutos, a amostra foi posta no banho de refrigeração e aguardou-se três minutos. Passado esse tempo, inverteu-se a cubeta para garantir que a tampa ficasse com a mesma temperatura da amostra.
- 7) Adicionou-se 1 mL do reagente 3 às duas cubetas (branco e amostra), onde ficaram mornas. Agitou-se suavemente e levaram-se as duas cubetas para o banho de refrigeração, aguardando-se 3 minutos. Para essa etapa, deve-se utilizar somente um dispensador ou uma micropipeta automática para garantir a transferência de todo o reagente.

- 8) Após os três minutos, adicionou-se o reagente 4 (sache). Agitou-se 10 vezes e aguardou-se um período de quinze minutos para desenvolver a cor.
- 9) Passado esse tempo, limpou-se a cubeta com lenço extra-macio e realizou-se a leitura no comprimento de onda 515 nm. O resultado foi reportado em ppb  $\text{CHCl}_3$ .

A Figura 18 indica um esquema da análise espectrofotométrica de determinação de trihalometanos.



Fonte: Adaptado de Marmo, 2005.

Figura 18 – Esquema do procedimento analítico de determinação de trihalometanos por espectrofotometria.

#### 4.3.2. 2ª fase da 3ª etapa

A segunda fase se caracterizou pela construção de duas curvas de calibração utilizando padrões diferentes em cada uma. Uma com clorofórmio e outra com a mistura de trihalometanos.

Para a solução de clorofórmio, utilizou-se uma ampola contendo 1 mL de solução da marca Supelco®. A concentração era de  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$  e foi diluída em álcool metílico 99,9% UV/HPLC – Espectroscópico em um balão volumétrico de 50 mL, resultando numa concentração final de  $4.000 \mu\text{g L}^{-1}$  de clorofórmio. A solução padrão era injetada submersa no álcool metílico, sem formar bolhas. Essa solução stock era armazenada em um frasco âmbar sem ar ou com o mínimo de ar possível e condicionada no congelador a  $-10 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  na ausência de luz.

Para as ampolas da marca Supelco® para método da HACH®, a concentração era de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  com volume de 2 mL. Assim, utilizavam-se 5 ampolas para preparar uma solução de  $2.000 \mu\text{g L}^{-1}$  em um balão volumétrico de 50 mL. Em um caso, utilizou-se uma ampola para preparar uma solução de  $800 \mu\text{g L}^{-1}$  em um balão volumétrico de 25 mL.

Para a solução MIX, utilizou-se uma ampola contendo 1 mL de solução de clorofórmio da marca Supelco®. A concentração era de  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$  para cada componente e foi diluída em álcool metílico 99,9% UV/HPLC – Espectroscópico em um balão volumétrico de 200 mL, resultando numa concentração final de  $4.000 \mu\text{g L}^{-1}$  de trihalometanos totais ( $1.000 \mu\text{g L}^{-1}$  para cada componente). A solução padrão era injetada submersa no álcool metílico, sem formar bolhas. Essa solução stock era armazenada em um frasco âmbar sem ar ou com o mínimo de ar possível e condicionada no congelador a  $-10 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  na ausência de luz.

A partir dessas soluções stock, preparavam-se concentrações de 50, 100, 150, 200, 250, 300 e  $350 \mu\text{g L}^{-1}$  de clorofórmio e trihalometanos totais. Trabalhou-se com pontos até  $350 \mu\text{g L}^{-1}$  por causa do método de adição de padrão, onde as concentrações finais das amostras poderiam passar de  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esses pontos eram preparados em balões volumétricos de 50 mL e diluídos em água ultrapura. A solução stock era imersa na água ultrapura, sem formar bolhas. Essas soluções eram condicionadas a frio e vedadas com um filme para evitar a perda do analito, sendo estáveis apenas por uma hora.

Para cada amostra, foram realizadas 10 leituras no espectrofotômetro com a intenção de se calcular o erro do aparelho.

#### 4.3.3. 3ª fase da 3ª etapa

A terceira fase foi igual à segunda fase, porém com duas alterações: foi realizada por outro analista e foi feita uma alteração na etapa do reagente 4, onde era feita uma agitação forte após a adição. Na segunda fase, essa agitação era fraca e o reagente demorava a se dissolver. Além disso, foi realizado o método de adição de padrão com os dois padrões utilizados nas curvas de calibração.

Para o método da adição de padrão, foi realizado o procedimento de coleta de água da Apha (2005). Dessa forma, fazia-se a relação de 3 mg de Tiosulfato de Sódio heptahidratado para cada 40 mL da amostra. Como se utilizava um frasco âmbar de 500 mL, pesava-se 37,5 mg do agente redutor. A torneira era aberta, deixando correr água por alguns minutos. Logo depois, regulava-se a vazão ( $\approx 500$  mL/min) para que não formasse bolhas no momento da coleta e não deixasse ar dentro do frasco quando estivesse cheio. A amostra era condicionada a 4 °C.

Em seguida, adicionava-se água ultrapura até metade dos balões volumétricos de 50 mL e injetava-se 10 mL da amostra coletada em todos os balões dentro do líquido do balão volumétrico. Um deles era aferido, enquanto adicionava-se padrão nos outros antes de aferir. A intenção era adicionar volumes dos padrões nesses balões volumétricos que resultassem em concentrações adicionais de 50 e 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A partir disso, eram realizadas as análises.

Para cada amostra, foram realizadas 10 leituras no espectrofotômetro com a intenção de se calcular o erro do aparelho.

#### 4.3.4. 4ª fase da 3ª etapa

A quarta fase foi igual à terceira fase, porém foi realizada pelo mesmo analista da segunda fase. Foram feitas duas curvas de calibração e duas etapas do método de adição de padrão. Além disso, foi realizado um teste de varredura do comprimento de onda 515 nm no

espectrofotômetro da marca Thermo® no “branco” e em uma amostra para verificar em qual comprimento de onda tem maior sensibilidade para absorção da luz pela solução.

#### **4.4. Procedimento para avaliação**

A partir dos resultados, utilizaram-se os parâmetros impostos pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) e testes estatísticos para avaliar o método espectrofotométrico de determinação de trihalometanos.

Dos parâmetros do INMETRO, foram utilizados os seguintes critérios: seletividade, linearidade, faixa de trabalho e faixa linear, tendência/recuperação, precisão (repetitividade e precisão intermediária), robustez.

Para verificar estatisticamente o método, utilizou-se do teste ANOVA (fator único) para verificar diferença significativa dos resultados. Esse teste estatístico foi feito por uma ferramenta do programa Excel™ em um nível de 95% de confiança.

#### **4.5. Lavagem de materiais**

As vidrarias eram limpas com bastante água da torneira e deixadas de molho no detergente neutro por alguns minutos. Eram enxaguadas e, depois, limpas com água destilada. Em seguida, utilizava-se acetona (grau HPLC) na limpeza dessas vidrarias e eram levadas para a estufa a 105 °C em um período de 1 – 2 horas (exceto balões volumétricos e cubetas).

As ponteiros eram limpas com água da torneira e detergente neutro e fervidas posteriormente. Após um período de aproximadamente uma hora, eram limpas com água destilada e acetona (grau HPLC).

## 5. MATERIAIS

O trabalho foi realizado em dois tipos de análises: cromatográfica e espectrofotométrica. Dessa forma, são apresentados os equipamentos e reagentes de cada um.

### 5.1. Método cromatográfico

Para o método cromatográfico, foi utilizado um cromatógrafo gasoso com as seguintes características: marca Thermo Finnigan®, modelo Thermo Trace GC Ultra™. Esse equipamento pertence ao Labcaju, laboratório da Fundação Núcleo de Tecnologia do Estado do Ceará (NUTEC).

A coluna cromatográfica utilizada foi a OV-5™ de marca Ohio Valley® e possuía 30 metros de comprimento, 0,25 milímetros de diâmetro interno e 0,25 micrômetros de espessura do filme. O detector usado foi o Detector de Captura de Elétrons.

O gás utilizado foi o Gás Nitrogênio 5.0 ECD (99,999%) e vazão era de 1,0 mL por minuto. A temperatura programada era: 35 °C para 5 minutos, rampa de 10 °C por minuto para 70 °C, depois 20 °C por minuto para 200 °C. Pelos dados da EPA (1990), a temperatura do injetor era de 200 °C e a temperatura do detector era de 290 °C.

Os reagentes utilizados no método cromatográfico são citados com suas marcas na Tabela 06.

Tabela 06 – Reagentes utilizados para cromatografia.

Reagentes	
<u>Descrição</u>	<u>Marca</u>
Álcool metílico 99,9% UV/HPLC - Espectroscópico	Vetec®
Pentano-N RS Plus p/ análise de resíduo de pesticida	Carlos Erba®
Mistura de trihalometanos para calibração, 200 µg mL <sup>-1</sup> de cada componente em metanol. Pureza: clorofórmio (99,1%), Bromodiclorometano (99,0%), Dibromoclorometano (98,8%), Bromofórmio (98,5%).	Supelco®
Solução de clorofórmio 200 µg mL <sup>-1</sup> em metanol. Pureza: clorofórmio (99,1%).	Supelco®

## 5.2. Método espectrofotométrico

Para o método espectrofotométrico, foram utilizados dois espectrofotômetros: um DR 2500™ (marca: Hach®) na Seção Laboratorial de Qualidade de Água (SELAQUA) e um Nicolet Evolution 100™ (marca: Thermo Electron Corporation®) no Laboratório de Saneamento (LABOSAN).

Os reagentes utilizados no método cromatográfico são citados com suas marcas na Tabela 07.

Tabela 07 – Reagentes utilizados para espectrofotometria.

Reagentes	
Descrição	Marca
Álcool metílico 99,9% UV/HPLC - Espectroscópico	Vetec®
Mistura de trihalometanos para calibração, 200 µg mL <sup>-1</sup> de cada componente em metanol. Pureza: clorofórmio (99,1%), Bromodiclorometano (99,0%), Dibromoclorometano (98,8%), Bromofórmio (98,5%).	Supelco®
Solução de clorofórmio 200 µg mL <sup>-1</sup> em metanol. Pureza: clorofórmio (99,1%).	Supelco®
HACH THM Standard™ em 2-propanol (10 µg mL <sup>-1</sup> ) – 7 amp. 2 mL. Pureza: clorofórmio (99,1%).	Supelco®
THM Plus Reagente 1™ - 15 ml	Hach®
THM Plus Reagente 2™ - 330 ml	Hach®
THM Plus Reagente 3™ - 110 ml	Hach®
THM Plus Reagente 4™ - pó - cx com 100 unidades	Hach®
Tiosulfato de sódio	QEEL®
Detergente neutro para lavagem de vidrarias	Veja®

Além desses itens, foram usados outros equipamentos para uso em geral, como descrito na Tabela 08.

Tabela 08 – Equipamentos e acessórios de uso geral.

<b>Equipamentos</b>	
<u>Descrição</u>	<u>Marca</u>
Agitador de tubos Vortex	Biomixer®
Centrífuga Modelo 80-2B™	Centribio®
Chapa aquecedora MOD 208 D™	Nova Ética®
Balança analítica digital FA2104N™	Bioprecisa®
Destilador de água	DeLeo®
Estufa para secagem e esterilização	DeLeo®
Mili-Q gradient™	Millipore®
Filme para laboratório	Parafilm®

As micropipetas utilizadas para os dois métodos são da marca Eppendorf® (Research™) e seus volumes eram variáveis: uma de 100 µL – 1.000 µL e outra de 1.000 µL – 10.000 µL, onde os valores referentes a inexatidão e imprecisão estão descritos na Tabela 09.

Tabela 09 – valores referentes a inexatidão e imprecisão das micropipetas.

<b>Micropipeta de volume variável de 100 µL – 1.000 µL</b>		
<b>Volume</b>	<b>Inexatidão</b>	<b>Imprecisão</b>
100 µL	+ ou – 3,0%	≤ 0,6%
500 µL	+ ou – 1,0%	≤ 0,2%
1.000 µL	+ ou – 0,6%	≤ 0,2%
<b>Micropipeta de volume variável de 1.000 µL – 10.000 µL</b>		
<b>Volume</b>	<b>Inexatidão</b>	<b>Imprecisão</b>
1.000 µL	+ ou – 3,0%	≤ 0,6%
5.000 µL	+ ou – 0,8%	≤ 0,2%
10.000 µL	+ ou – 0,6%	≤ 0,15%

Fonte: EPPENDORF (2007)

Considerando que a inexatidão e a imprecisão dos volumes das micropipetas eram pequenas, não foi necessário calcular os erros nos resultados em relação a esses dois fatores.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. 1ª etapa – Teste de confirmação de neutralização do cloro residual na água tratada

Foi realizado um teste para o procedimento de coleta proposto pela Apha (2005) – Método 6010B na Estação de Tratamento de Água Gavião. Esse teste foi realizado por meio da determinação de cloro residual pelo método titulométrico DPD – sulfato ferroso amoniacal proposto pela Apha (2005) – Método 4500 – Cl – F.

A quantidade de 3 mg de agente redutor (tiosulfato de sódio) conseguiu neutralizar uma concentração de cloro residual de 3,94 mg L<sup>-1</sup> em 40 mL de água tratada. Assim, constatou-se que o método proposto pela Apha (2005) para coleta de amostra conseguia neutralizar uma dosagem alta de cloro residual na água.

### 6.2. 2ª etapa – Método cromatográfico

#### 6.2.1. Implantação do método cromatográfico

Para a análise cromatográfica, foram feitos vários testes de extração líquido-líquido para determinação de trihalometanos.

Primeiramente, foi feita uma extração com a mão, agitando bastante os tubos. As áreas formadas estão descritas na Tabela 10.

Tabela 10 – Relação concentração x área na extração manual.

Concentração (µg L <sup>-1</sup> )	Área
10	185.756
50	2.034.708
100	6.436.012
150	5.288.438
200	9.116.348

Nota-se que há pontos de menor concentração com área maior do que pontos com concentração mais alta. Além disso, não houve linearidade aceitável entre os pontos, onde o índice de correlação é 0,8811, como mostrado na Figura 19. Albano e Rodriguez (2009) dizem que os intervalos de aceitação dos parâmetros da curva devem ser mencionados. Assim, se adotará R<sup>2</sup> maior que 0,9900, pois é um valor próximo de R<sup>2</sup> = 1. Uma possível causa para

o erro de extração dos pontos “100” e “150” é uma fadiga do analista, pois houve extrações antes e há a possibilidade da agitação ser menos intensa que as outras.

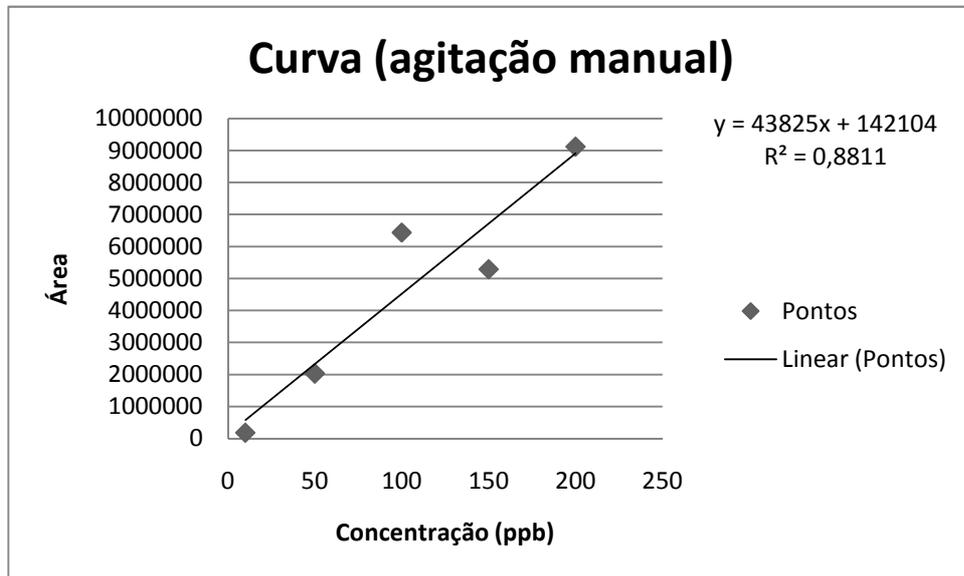


Figura 19 – Gráfico da curva da cromatografia com extração manual.

Em virtude do erro da extração manual, foi realizado um novo teste, mas dessa vez com uma centrífuga. Assim, prepararam-se três pontos e as áreas estão representadas na Tabela 11.

Tabela 11 – Relação concentração x área na extração com a centrífuga.

Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Área
50	747.417
100	1.727.097
150	2.626.455

Nota-se que houve aumento das áreas com o aumento das concentrações. Além disso, houve uma linearidade aceitável, onde  $R^2 = 0,9994$ , como mostrado na Figura 20.

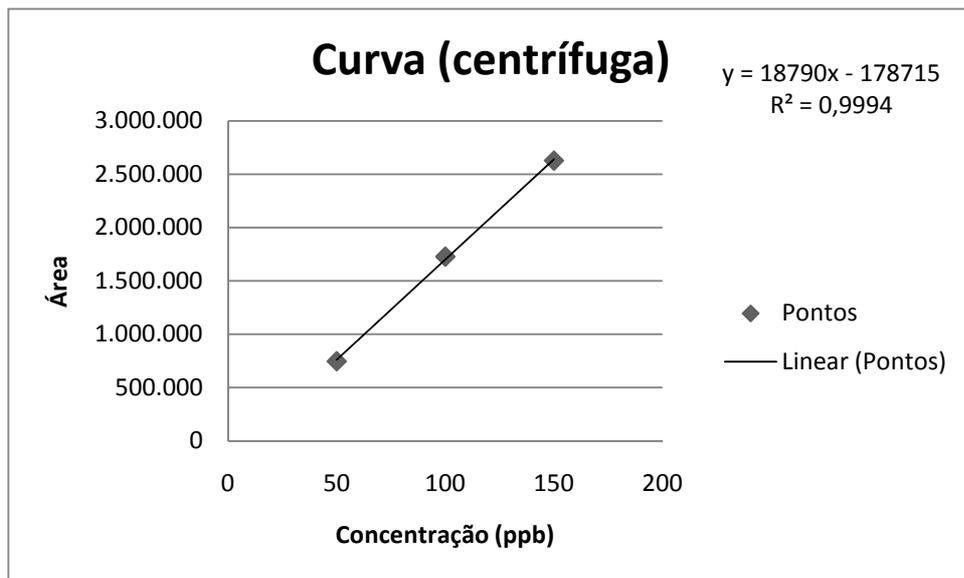


Figura 20 – Gráfico da curva da cromatografia com extração na centrífuga.

Porém, comparando as áreas da análise com a centrífuga e da análise feita manualmente para uma mesma concentração, observa-se uma grande diferença nas áreas, como exposto na Tabela 12 e Figura 21.

Tabela 12 – Comparação da extração manual com a extração na centrífuga.

Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Área (manual)	Área (centrífuga)
50	2.034.708	747.417
100	6.436.012	1.727.097
150	5.288.438	2.626.455

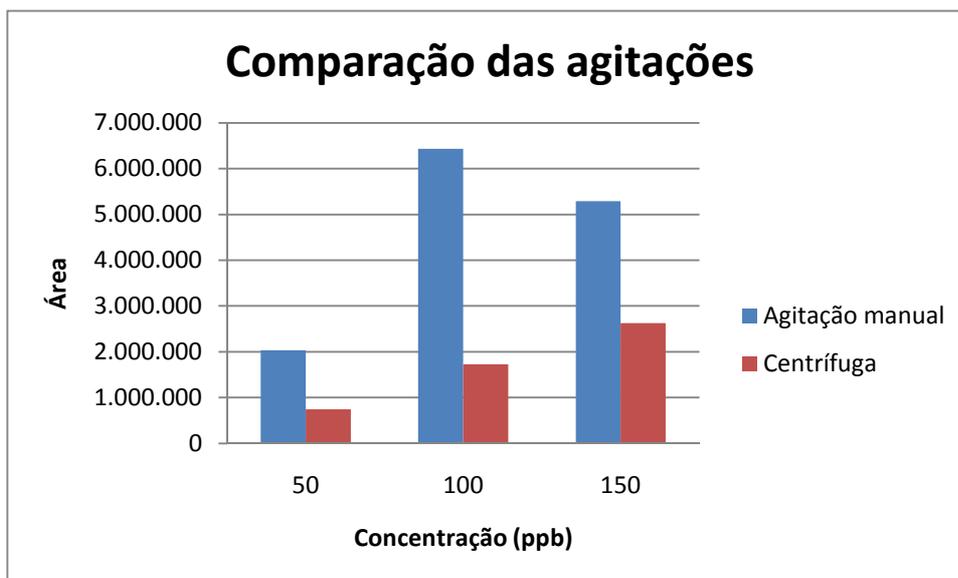


Figura 21 – Gráfico da comparação da extração manual com a extração na centrífuga.

#### 6.2.2. Curva de calibração do clorofórmio utilizando um agitador de tubos

Visto que as duas extrações apresentavam falhas, foi realizada uma nova tentativa com um agitador de tubos e prepararam-se sete pontos. Os resultados estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Relação concentração x área na extração com o agitador de tubos.

Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Área 1	Área 2	Média das áreas
10	2.530.256	2.624.176	2.577.216
50	8.793.984	9.410.128	9.102.056
70	13.941.424	12.999.072	13.470.248
100	16.485.280	17.000.384	16.742.832
130	21.150.432	20.699.888	20.925.160
150	22.123.856	23.019.136	22.571.496
200	28.233.472	-	28.233.472

Houve um aumento no valor da média das áreas com o aumento da concentração e uma linearidade aceitável entre os pontos, pois o índice de correlação foi 0,9902, quando o ponto de concentração  $70 \mu\text{g L}^{-1}$  foi descartado, mostrado na Figura 22.

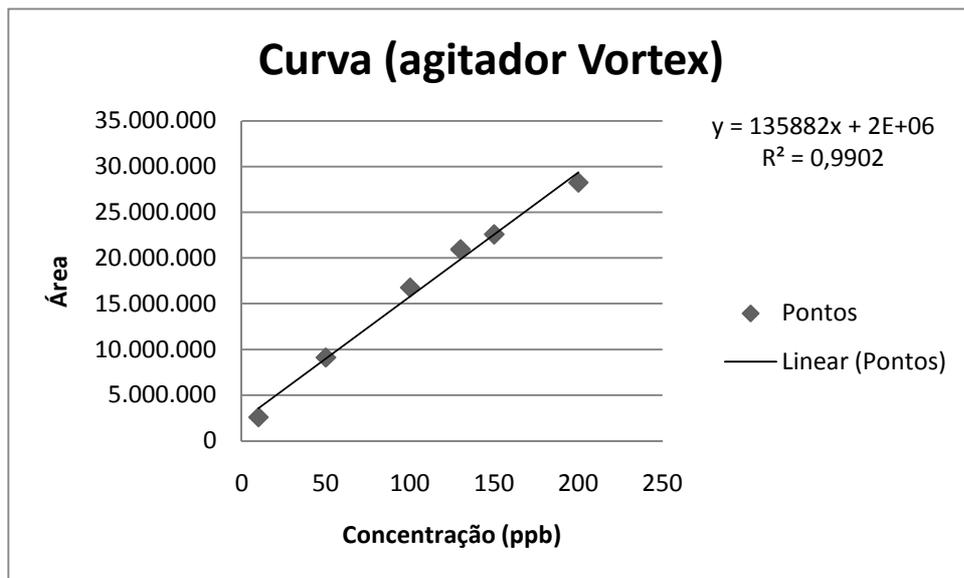


Figura 22 – Gráfico da curva da cromatografia na extração com o agitador de tubos sem o ponto de concentração  $70 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Além disso, quando se comparam os resultados, as áreas realizadas com o agitador de tubos são bem maiores que os outros dois testes, como mostrado na Tabela 14 e na Figura 23.

Tabela 14 – Comparação da extração manual com a extração na centrífuga e com o agitador de tubos.

Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Área (manual)	Área (centrífuga)	Área (agitador Vortex)
50	2.034.708	747.417	9.102.056
100	6.436.012	1.727.097	16.742.832
150	5.288.438	2.626.455	22.571.496

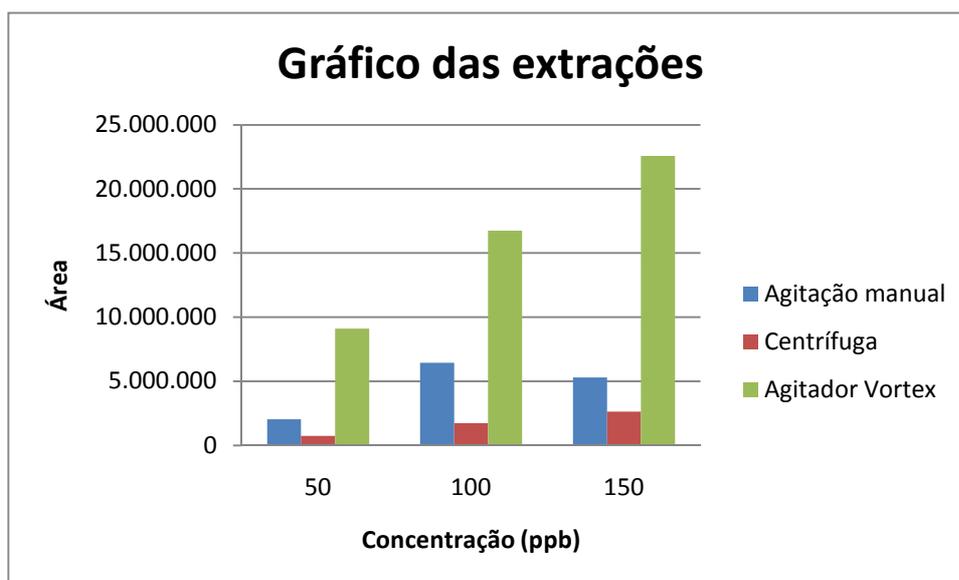


Figura 23 – Comparação das diferentes extrações.

Portanto, a extração com o agitador de tubos Vortex consegue relacionar uma linearidade aceitável e maior extração do analito que as outras duas técnicas, visto que a agitação era mais vigorosa e utilizava praticamente a mesma intensidade para todos os tubos

### 6.2.3. Curva de calibração do padrão MIX utilizando um agitador de tubos

Como houve uma linearidade aceitável para o padrão de clorofórmio, uma nova curva foi feita, porém, utilizando a solução MIX (mistura dos quatro trihalometanos).

Também houve linearidade aceitável para todos eles, como mostrado nas Tabelas 15, 16, 17 e 18 e nas Figuras 24, 25, 26 e 27. Apenas o ponto de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  do bromodiclorometano foi rejeitado para que seu índice de correlação ficasse acima de 0,9900.

Tabela 15 – Relação Área x Concentração do clorofórmio.

Clorofórmio			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Média das áreas	Área 1	Área 2
10	2.389.120	2.321.248	2.456.992
50	11.997.712	12.271.840	11.723.584
70	14.859.616	15.100.384	14.618.848
100	24.786.952	24.397.024	25.176.880
130	31.917.961	29.271.744	34.564.177
150	38.055.921	35.660.161	40.451.681
200	49.921.329	52.083.489	47.759.169

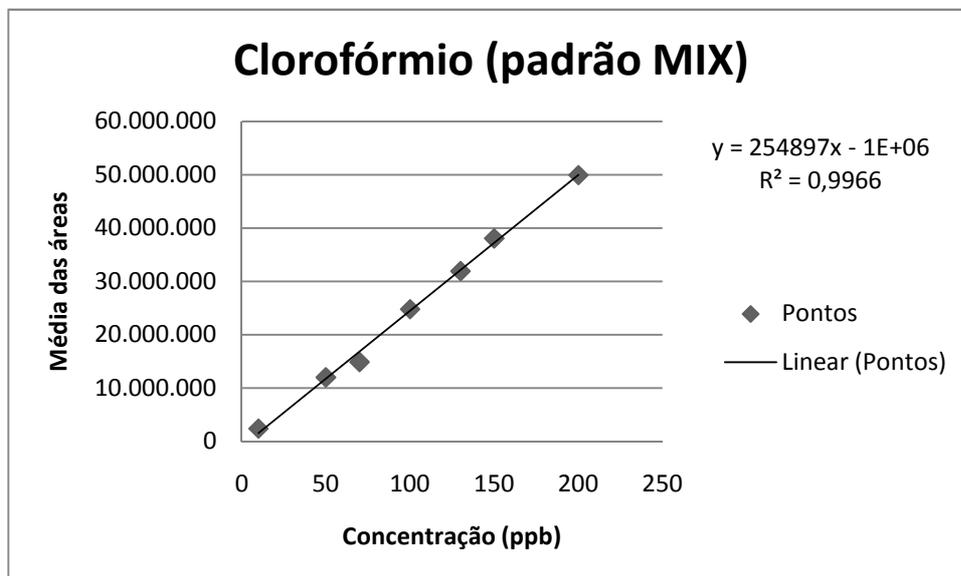


Figura 24 – Gráfico Média das áreas x Concentração do clorofórmio.

Tabela 16 – Relação Área x Concentração do bromofórmio.

Bromofórmio			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Média das áreas	Área 1	Área 2
10	5.195.232	5.026.208	5.364.256
50	22.611.632	21.956.592	23.266.672
70	33.242.840	33.418.896	33.066.784
100	49.315.353	50.725.345	47.905.361
130	68.136.897	63.625.281	72.648.513
150	78.872.337	76.003.233	81.741.441
200	107.001.330	111.119.842	102.882.818

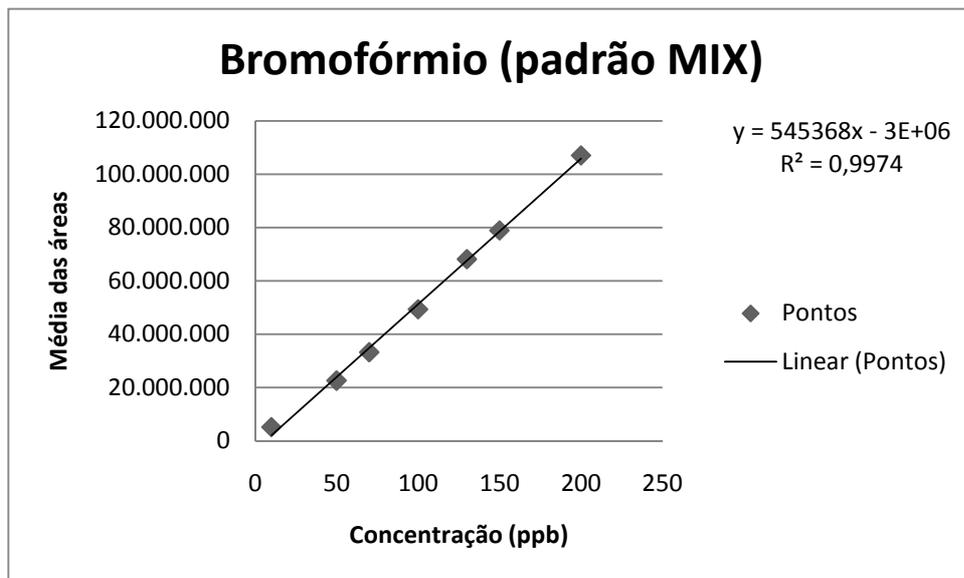


Figura 25 – Gráfico Média das áreas x Concentração do bromofórmio.

Tabela 17 – Relação Área x Concentração do dibromoclorometano.

<b>Dibromoclorometano</b>			
<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Média das áreas</b>	<b>Área 1</b>	<b>Área 2</b>
10	12.074.544	12.755.616	11.393.472
50	61.144.681	60.851.457	61.437.905
70	90.232.457	88.387.729	92.077.185
100	128.263.098	127.176.706	129.349.490
130	155.410.746	154.357.826	156.463.666
150	170.219.227	169.268.083	171.170.371
200	222.258.147	219.035.715	225.480.579

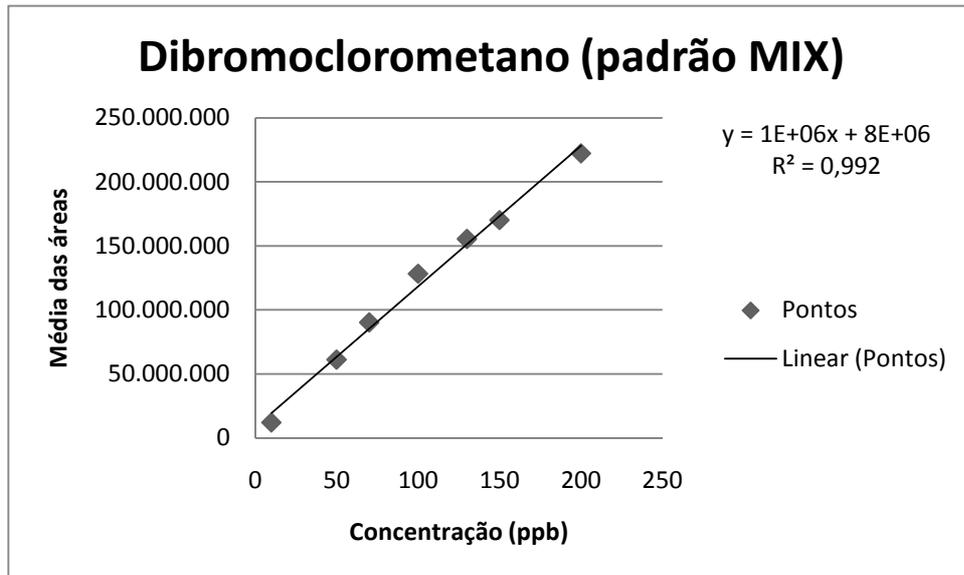


Figura 26 – Gráfico Média das áreas x Concentração do dibromoclorometano.

Tabela 18 – Relação Área x Concentração do bromodichlorometano.

<b>Bromodichlorometano</b>			
<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Média das áreas</b>	<b>Área 1</b>	<b>Área 2</b>
10	16.151.456	16.096.032	16.206.880
50	75.564.609	75.762.529	75.366.689
70	102.832.890	98.745.873	106.919.906
100	144.013.002	145.957.250	142.068.754
130	171.860.355	168.673.379	175.047.331
150	195.864.035	190.616.691	201.111.379
200	238.520.892	234.134.339	242.907.444

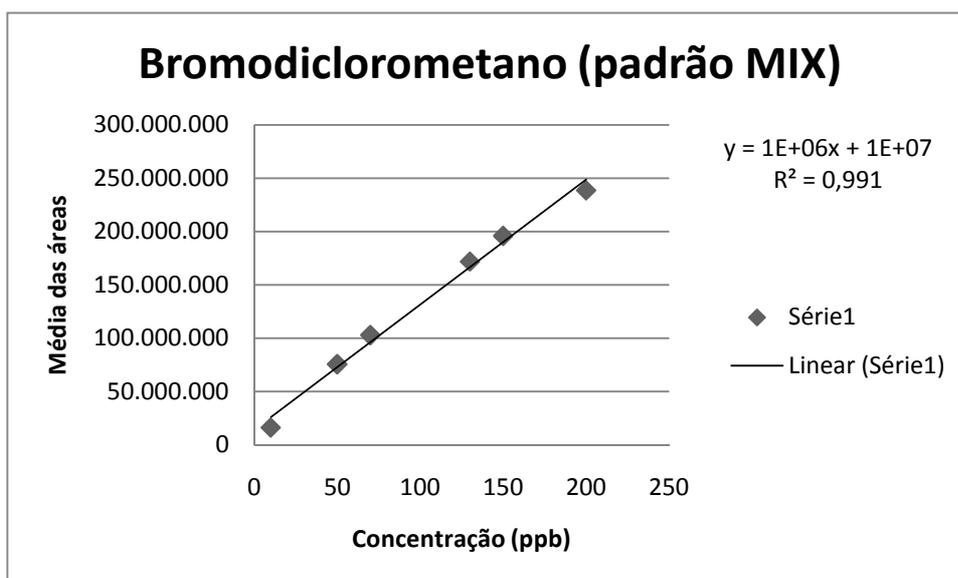


Figura 27 – Gráfico Média das áreas x Concentração do bromodichlorometano, com rejeição do ponto de concentração 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Nota-se que, em se comparando a área do clorofórmio quando analisado individualmente com a área do clorofórmio analisado em conjunto com os outros trihalometanos, houve uma diferença entre elas, como mostrado na Tabela 19 e na Figura 28.

Tabela 19 – Comparação das áreas de duas análises de clorofórmio e somente o clorofórmio na solução MIX.

Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Área do clorofórmio individual	Área do clorofórmio em conjunto	Diferença	Erro percentual
10	2.577.216	2.389.120	-188.096	7,87%
50	9.102.056	11.997.712	2.895.656	24,14%
70	13.470.248	14.859.616	1.389.368	9,35%
100	16.742.832	24.786.952	8.044.120	32,45%
130	20.925.160	31.917.961	10.992.801	34,44%
150	22.571.496	38.055.921	15.484.425	40,69%
200	28.233.472	49.921.329	21.687.857	43,44%

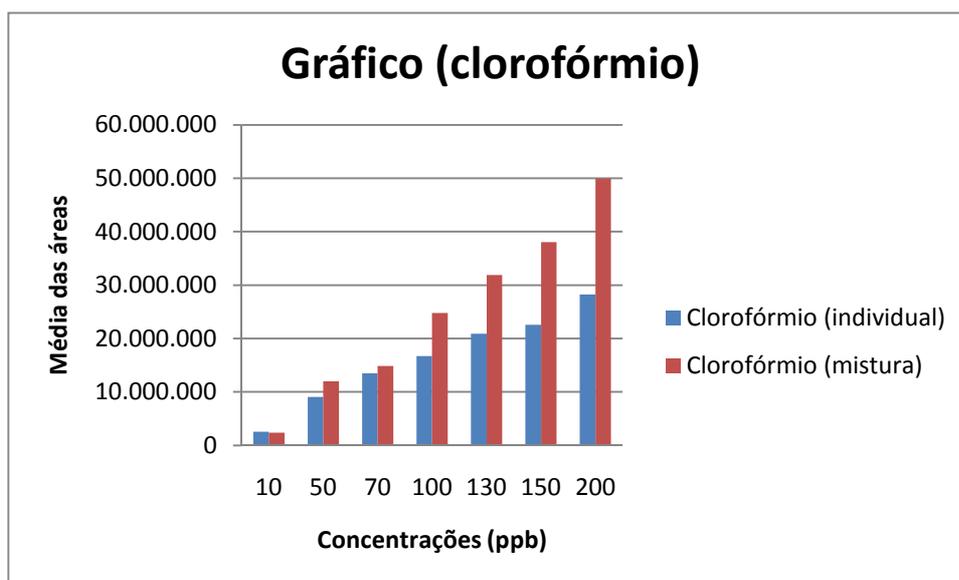


Figura 28 – Gráfico da comparação do clorofórmio (individual) e clorofórmio (MIX).

Nota-se que, exceto para o valor  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , todas as concentrações do clorofórmio da mistura apresentaram áreas maiores que as concentrações do clorofórmio individual. Isso pode se dever ao fato de que, quando a análise de clorofórmio individual foi realizada, o padrão já havia sido preparado uma semana antes da análise e estava estocado no congelador, enquanto a solução MIX foi preparada pouco antes da realização das análises.

A partir desses resultados, notou-se que houve perda do analito durante a estocagem no congelador, provavelmente devido a sua alta volatilidade. A explicação do ponto de concentração  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  ter variado negativamente pode ter sido apenas na resposta emitida pelo cromatógrafo, já que é uma concentração muito baixa.

### 6.3. 3ª etapa – Método espectrofotométrico

#### 6.3.1. Implantação do método espectrofotométrico

Para implantação do método espectrofotométrico, foram realizadas duas curvas de calibração. O espectrofotômetro utilizado foi o DR 2500™, que possui uma base para cubetas redondas de percurso óptico de 2,5 cm.

Na primeira curva, utilizaram-se cinco pontos e o “branco”, onde as absorbâncias estão descritas na Tabela 20.

Tabela 20 – Relação das concentrações com suas absorvâncias da implantação do método.

Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorbância
0	0
10	0,002
50	0,018
100	0,019
150	0,042
200	0,060

Notou-se que o ponto de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  apresentou uma absorvância mais baixa devido a um problema do reagente 4. Havia menos pó (reagente) dentro do sachê devido a erros de fabricação e embalagem. Assim, rejeitou-se esse ponto e obteve-se uma linearidade aceitável com  $R^2 > 0,9900$ , como mostrado na Figura 29.

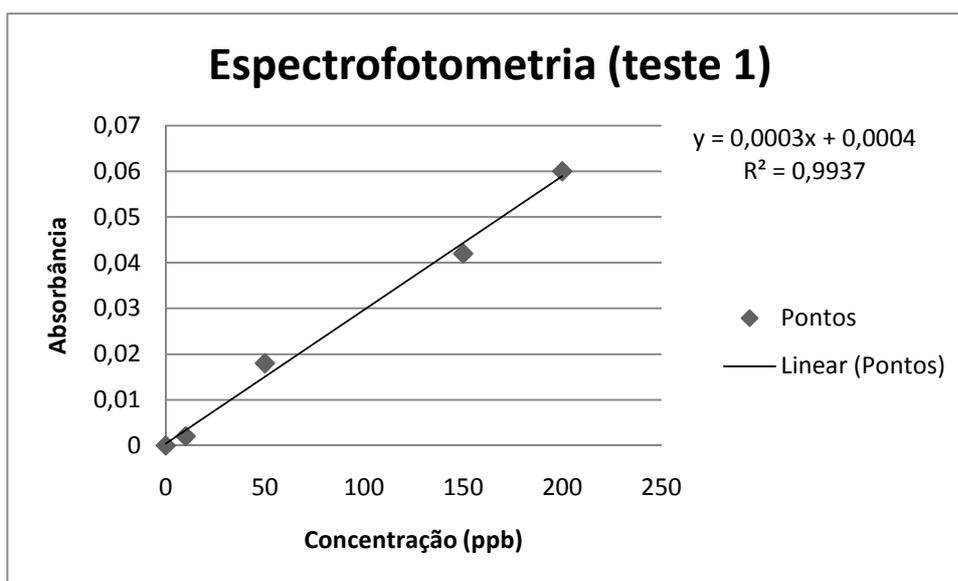


Figura 29 – Gráfico da curva da espectrofotometria retirando o ponto de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .

A Figura 30 mostra que não houve muita formação de cor na amostra do ponto de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .



Figura 30 – Padrões da espectrofotometria, onde houve problemas no ponto de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esquerda para direita: “branco”,  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Na segunda curva, foram preparados sete pontos e analisados em triplicata. As absorvâncias desses pontos estão descritas na Tabela 21.

Tabela 21 – Relação das concentrações com suas absorvâncias e média da segunda curva.

Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Média	Absorvância 1	Absorvância 2	Absorvância 3
0	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,002	0,002	0,000	0,004
50	0,019	0,018	0,024	0,015
70	0,034	0,035	0,039	0,029
100	0,033	0,031	0,028	0,041
130	0,037	0,035	0,039	0,038
150	0,043	0,042	0,044	0,042
200	0,056	0,057	0,062	0,048

Na terceira amostra do ponto de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  houve problema novamente com o reagente 4. Como teste, adicionou-se outro sachê, porém parte do reagente

adicionado na amostra não se dissolveu e o pó em suspensão pode ter alterado o resultado. Isso pode ter ocorrido devido à adição de maior quantidade de reagente em questão.

Rejeitando o ponto de concentração  $70 \mu\text{g L}^{-1}$  e a terceira amostra do ponto de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , obteve-se a curva (Concentração x Média das absorvâncias) mostrada na Figura 31.

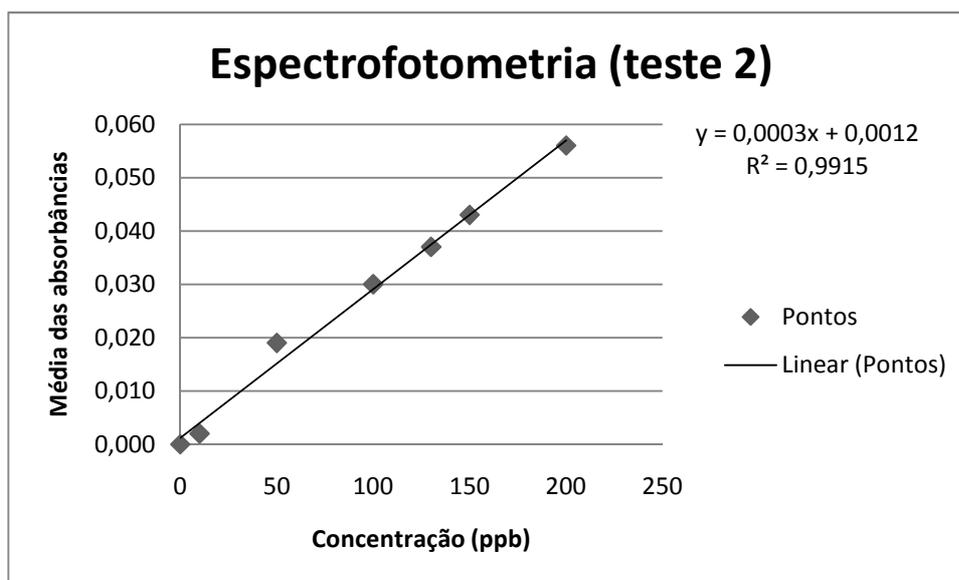


Figura 31 – Gráfico da curva da espectrofotometria rejeitando o ponto de concentração  $70 \mu\text{g L}^{-1}$  e retirando a terceira amostra do ponto de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Notou-se que houve uma variação nas absorvâncias, visto que eram as mesmas amostras. Assim, calculou-se o coeficiente de variação de cada ponto, mostrado na Tabela 22.

Tabela 22 – Cálculo do coeficiente de variação das amostras da segunda curva.

Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorvância 1	Absorvância 2	Absorvância 3	Desvio-padrão	Média	Coefficiente de variação (%)
10	0,002	0,000	0,004	0,002	0,002	100,00
50	0,018	0,024	0,015	0,005	0,019	26,32
70	0,035	0,039	0,029	0,005	0,034	14,71
100	0,031	0,028	Descartado	0,002	0,030	6,67
130	0,035	0,039	0,038	0,002	0,037	5,41
150	0,042	0,044	0,042	0,001	0,043	2,33
200	0,057	0,062	0,048	0,007	0,056	12,50

Observou-se uma grande variação nas absorvâncias para a mesma concentração quando utilizado o espectrofotômetro DR 2500™, como mostrado na Tabela 22. Assim, optou-se por um teste com outro espectrofotômetro, um Nicolet Evolution 100™ pertencente ao Laboratório de Saneamento (Labosan). Entretanto, foi necessária uma mudança no procedimento, pois este aparelho não dispunha de uma base para entrada de cubetas redondas com percurso óptico de 2,5 cm, indicada pelo método espectrofotométrico. Assim, a amostra era retirada da cubeta indicada pelo fabricante após a preparação e transferida para uma cubeta quadrada de percurso óptico de 1,0 cm

Prepararam-se três pontos para checar o desvio padrão do aparelho e comparar com o outro espectrofotômetro. Foram feitas sete leituras da mesma amostra na cubeta quadrada e dez na cubeta redonda no equipamento DR 2500™, de modo que o equipamento era “zerado” e se fazia a leitura da amostra posteriormente.

A Tabela 23 mostra as absorvâncias das leituras com cubeta redonda de percurso óptico de 2,5 cm no espectrofotômetro HACH DR 2500™ e a Tabela 24 mostra os coeficientes de variação das leituras realizadas.

Tabela 23 – Absorvâncias utilizando cubeta redonda de percurso óptico de 2,5 cm no equipamento DR 2500™.

DR 2500™ (cubeta redonda percurso óptico 2,5 cm)										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorvâncias									
50	0,019	0,009	0,007	0,012	0,014	0,012	0,020	0,007	0,020	0,020
200	0,023	0,043	0,033	0,037	0,048	0,036	0,034	0,036	0,044	0,029
500	0,057	0,055	0,055	0,057	0,067	0,059	0,057	0,056	0,051	0,060

Tabela 24 – Cálculo do coeficiente de variação para o equipamento DR 2500™ utilizando cubeta redonda de percurso óptico de 2,5 cm.

HACH DR 2500™ (cubeta redonda percurso óptico 2,5 cm)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio- padrão	Média	Coefficiente de variação (%)
50	0,005	0,014	35,71
200	0,007	0,036	19,44
500	0,004	0,057	7,02



Tabela 28 – Cálculo do coeficiente de variação para o equipamento Nicolet Evolution 100™ utilizando cubeta quadrada de percurso óptico de 1,0 cm.

<b>Nicolet Evolution 100™ (cubeta quadrada de percurso óptico de 1,0 cm)</b>			
<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>Média</b>	<b>Coeficiente de variação (%)</b>
50	0,000	0,005	0,00
200	0,000	0,016	0,00
500	0,000	0,023	0,00

Aplicando-se o método ANOVA (fator único) para cada concentração da cubetas quadradas nos dois equipamentos, obtiveram-se os seguintes resultados (Tabela 29):

Tabela 29 – Método ANOVA para as concentrações 50, 200 e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

<b>Anova: fator único – concentração 50 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F calculado</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
23,27586	0,000416	4,747225
<b>Anova: fator único – concentração 200 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F calculado</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
29,4	0,000154	4,747225
<b>Anova: fator único – concentração 500 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F calculado</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
16,8	0,001476	4,747225

A partir desses resultados, constata-se que o equipamento DR 2500™ apresentou grande imprecisão de resultados, indicada pelo alto desvio-padrão, principalmente para amostras com baixas concentrações. Além disso, nas três concentrações testadas no método ANOVA, os “F” calculados são maiores que os “F” críticos, mostrando que existe uma diferença significativa entre as absorvâncias. Além disso, o valor de “P” ficou abaixo de 0,05, o que confirma essa diferença, pois é o valor representado por um nível de confiança de 95%. Estas imprecisões podem ser devidas a problemas do equipamento. Assim, houve uma mudança no procedimento analítico e mudou-se a cubeta para a quadrada de percurso óptico de 1,0 cm, sendo usado o equipamento Nicolet Evolution 100™.

### 6.3.2. Construção de duas curvas de calibração utilizando padrões de diferentes (analista 1)

Uma nova curva foi elaborada, porém, como a absorvância registrada pelo aparelho era baixa com uma amostra de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  devido a diminuição do percurso ótico, decidiu-se que esse seria o menor ponto a ser trabalhado. Além disso, para se ter uma garantia de que a concentração da amostra não passaria do valor mais alto da curva pretendido, com a adição de padrão pretendida, outros pontos de alta concentração foram incluídos. O mais alto passou a ser o de concentração  $350 \mu\text{g L}^{-1}$ . O equipamento era “zerado” e se faziam dez vezes a leitura da amostra.

A primeira curva foi feita usando o clorofórmio como padrão, o qual foi preparado no mesmo dia da análise. As absorvâncias se encontram na Tabela 30. A Tabela 31 mostra o cálculo do coeficiente de variação das absorvâncias da curva do clorofórmio.

Tabela 30 – Absorvâncias de cada concentração da curva do clorofórmio.

Curva (clorofórmio)										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorvâncias									
50	0,008	0,009	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
100	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
150	0,021	0,021	0,021	0,022	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
200	0,021	0,019	0,019	0,020	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019
250	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022
300	0,026	0,026	0,026	0,026	0,026	0,025	0,025	0,025	0,024	0,025
350	0,027	0,027	0,027	0,027	0,026	0,027	0,026	0,026	0,025	0,025

Tabela 31 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva do clorofórmio.

Curva (clorofórmio)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio-padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
50	0,000	0,008	0,00
100	0,000	0,018	0,00
150	0,000	0,021	0,00
200	0,001	0,019	5,26
250	0,000	0,022	0,00
300	0,001	0,025	4,00
350	0,001	0,026	3,85

O gráfico da curva do clorofórmio está representado na Figura 32.

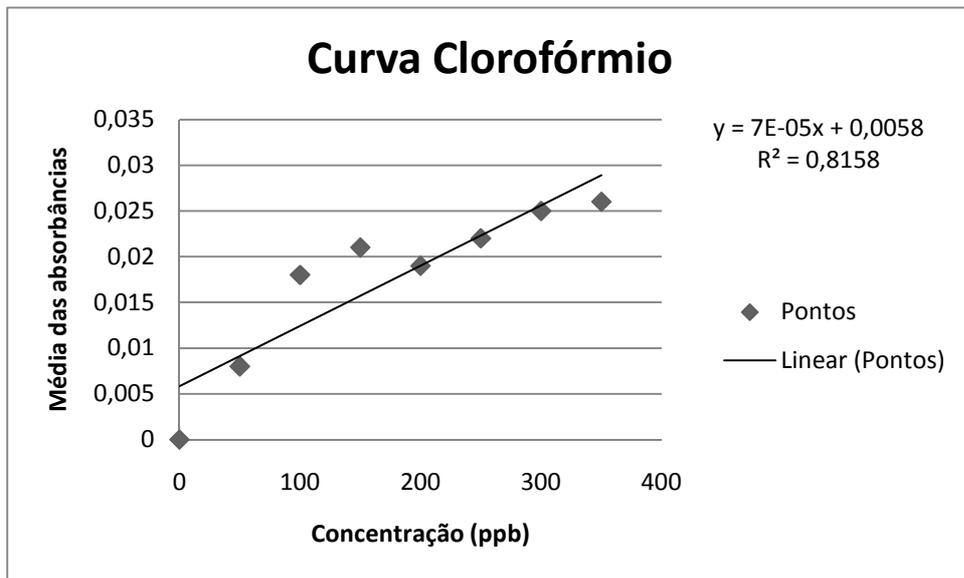


Figura 32 – Curva do clorofórmio iniciando do ponto “zero” ao 350  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Nota-se que não houve uma linearidade aceitável entre os pontos, pois o índice de correlação foi de 0,8158. Assim, foram retirados os pontos 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 150  $\mu\text{g L}^{-1}$ , o que implicou num aumento do índice de correlação ( $R^2 = 0,9647$ ), porém não chegou a ultrapassar o valor de 0,9900, como exposto na Figura 33.

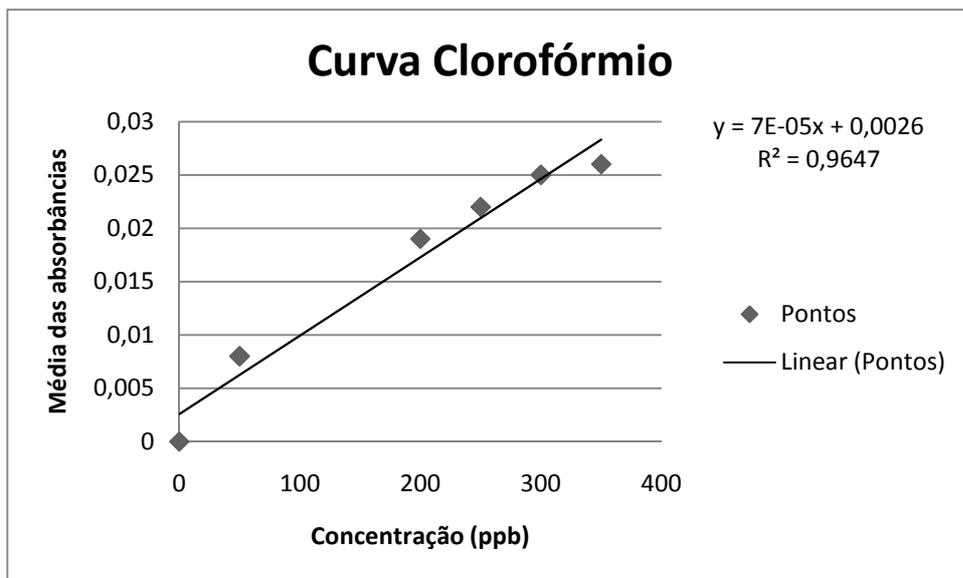


Figura 33 – Curva do clorofórmio rejeitando os pontos de concentração 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 150  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

A razão do ponto de concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  ter sido menor que o ponto de concentração  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  pode ter sido causada por um erro aleatório.

Foi realizado um ensaio de recuperação da curva do clorofórmio utilizando uma concentração, como mostrado na Tabela 32. O cálculo do coeficiente de variação é mostrado na Tabela 33.

Tabela 32 – Absorbâncias da concentração  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  da recuperação da curva do clorofórmio.

Recuperação Clorofórmio										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorbâncias									
150	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,021

Tabela 33 – Cálculo do coeficiente de variação para as absorbâncias da concentração  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  da recuperação da curva do clorofórmio.

Recuperação Clorofórmio			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio- padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
150	0,000	0,022	0,00

O gráfico que mostra a diferença entre as absorbâncias está na Figura 34 e o fator de recuperação está exposto na Tabela 34.

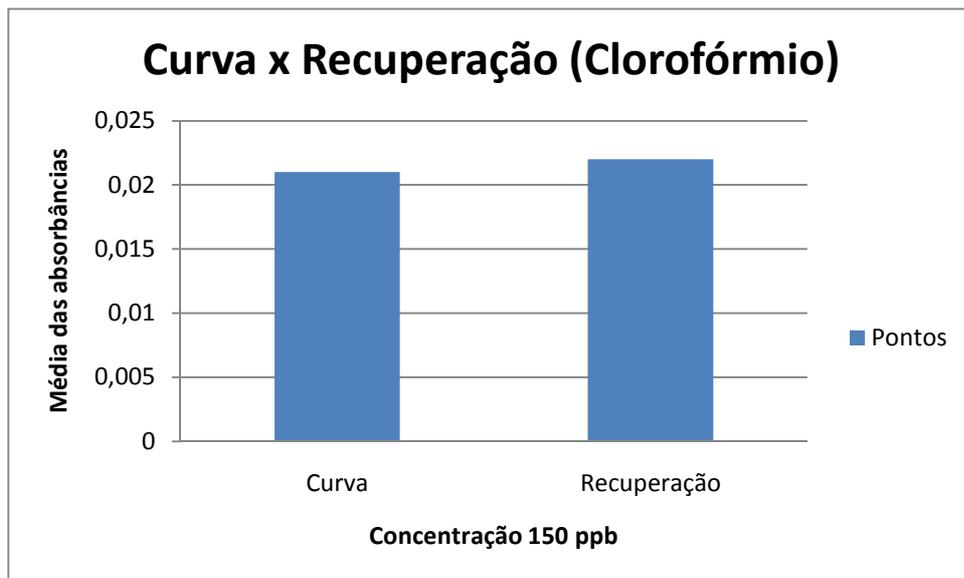


Figura 34 – Gráfico comparativo entre as absorvâncias da curva do clorofórmio e a recuperação.

Tabela 34 – Cálculo da recuperação para a curva do clorofórmio.

Fator de recuperação – Curva do clorofórmio		
Quantidade quantificada da espécie ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Quantidade adicionada na espécie ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Fator de recuperação (%)
277,14	150	184,76

Através dos resultados, verificou-se que o fator de recuperação do ponto de concentração  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  foi de 184,76 %. Considerando que Hach (1999) recomenda apenas o valor mínimo de aceitação, será utilizada a recomendação da Apha (2005), que cita a faixa de aceitação da recuperação, que é entre 80% - 120%. Dessa forma, o fator determinado não está dentro da faixa exigida pela Apha (2005). A concentração foi determinada na curva em que o ponto de concentração  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  foi rejeitado. Não há uma relação linear nessa curva, visto que a média da absorvância é menor que a encontrada no ponto  $250 \mu\text{g L}^{-1}$ , porém tem concentração teórica maior.

Foi elaborada uma nova curva, porém utilizando um padrão de mistura (MIX) de trihalometanos, onde a soma das concentrações dos quatro compostos era igual à soma da concentração da solução de clorofórmio. Essa solução estava estocada no congelador, pois

havia sido preparada uma semana antes. Os resultados estão descritos na Tabela 35. Os cálculos do coeficiente de variação estão expostos na Tabela 36.

Tabela 35 – Absorbâncias de cada concentração da curva da mistura.

Curva (MIX)										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorbâncias									
50	0,002	0,002	0,002	0,002	0,003	0,002	0,002	0,002	0,004	0,002
100	0,010	0,010	0,010	0,011	0,010	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011
150	0,016	0,016	0,015	0,016	0,015	0,014	0,014	0,014	0,015	0,014
200	0,016	0,016	0,016	0,019	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016
250	0,017	0,017	0,017	0,017	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016
300	0,023	0,023	0,023	0,023	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,021
350	0,022	0,022	0,021	0,021	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022

Tabela 36 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva da mistura.

Curva MIX			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio-padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
50	0,001	0,002	50,00
100	0,001	0,011	9,09
150	0,001	0,015	6,67
200	0,001	0,016	6,25
250	0,001	0,016	6,25
300	0,001	0,022	4,55
350	0,000	0,022	0,00

Nota-se que as absorbâncias da curva da mistura são menores que a do clorofórmio para todas as concentrações, como mostrado na Figura 35. Além disso, para uma baixa concentração, no caso  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , o coeficiente de variação foi alto em relação a concentrações mais altas. Isso mostra que o equipamento é impreciso para absorbâncias extremamente baixas, tendo ocorrido o mesmo com o equipamento DR 2500™.

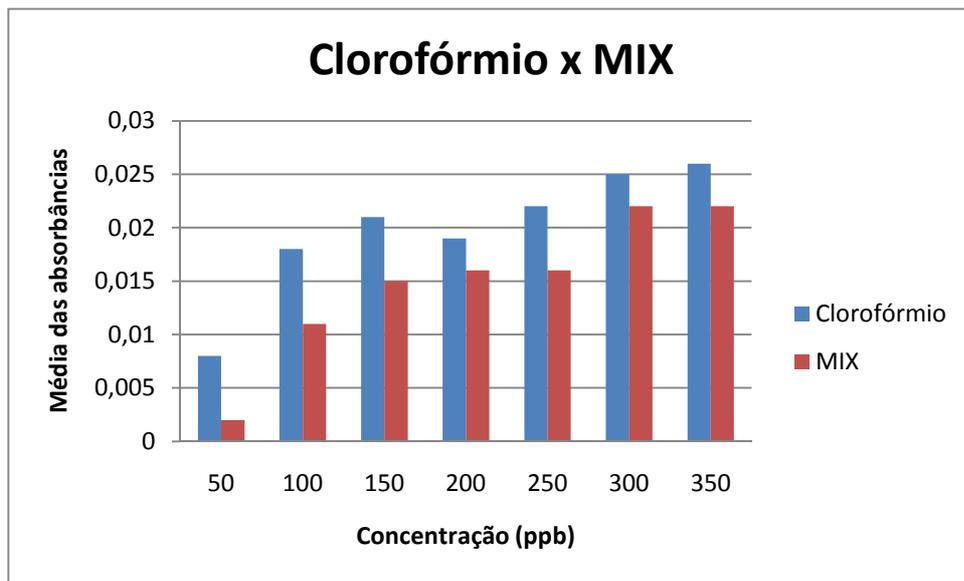


Figura 35 – Gráfico comparativo das médias das absorvâncias do clorofórmio e do MIX.

A Figura 36 mostra o gráfico da curva elaborada pela solução MIX.

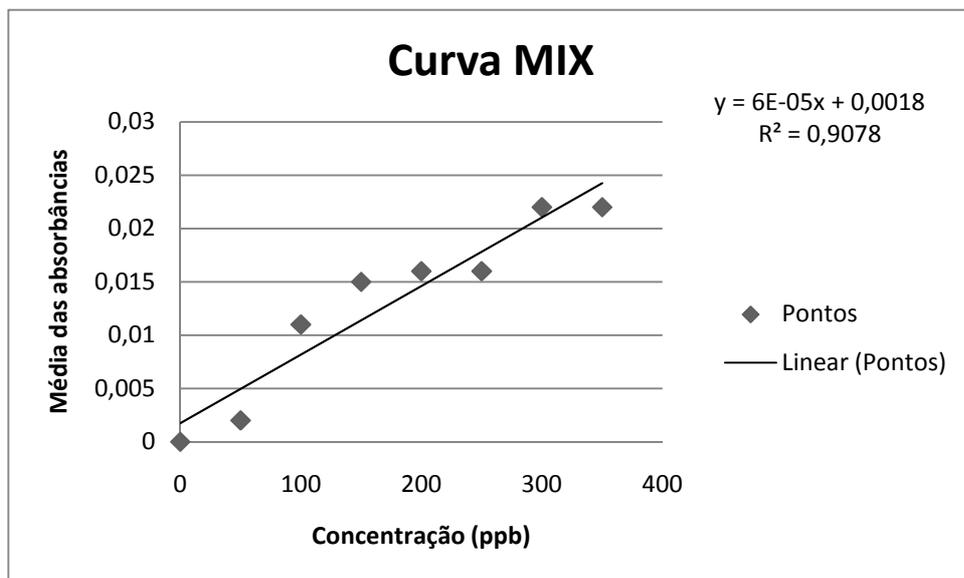


Figura 36 – Curva da solução MIX iniciando do ponto “zero” ao  $350 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Assim como a curva do clorofórmio, o índice de correlação não está numa faixa aceitável, sendo  $R^2 = 0,9078$ .

A Figura 37 mostra o gráfico da curva sem os pontos de concentrações  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ .

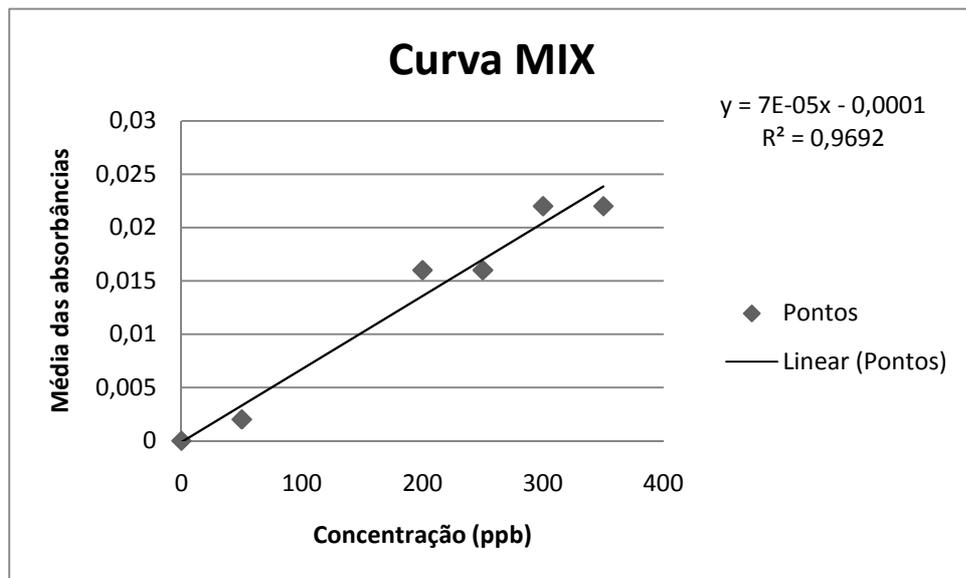


Figura 37 – Curva da mistura rejeitando os pontos de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ .

O índice de correlação subiu para 0,9692, porém ainda não foi aceitável, pois não estava na acima de 0,9900.

Foi realizado um ensaio de recuperação da curva do clorofórmio utilizando um ponto, como mostrado na Tabela 37, e o cálculo do coeficiente de variação mostrado na Tabela 38.

Tabela 37 – Absorbâncias da concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  da recuperação da curva da mistura.

Recuperação MIX										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorbâncias									
200	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,014	0,015	0,014

Tabela 38 – Cálculo do coeficiente de variação para as absorbâncias da concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  da recuperação da curva da mistura.

Recuperação MIX			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio-padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
200	0,000	0,015	0,00

O gráfico que mostra a diferença entre as absorvâncias é apresentado na Figura 38 e o fator de recuperação está exposto na Tabela 39.

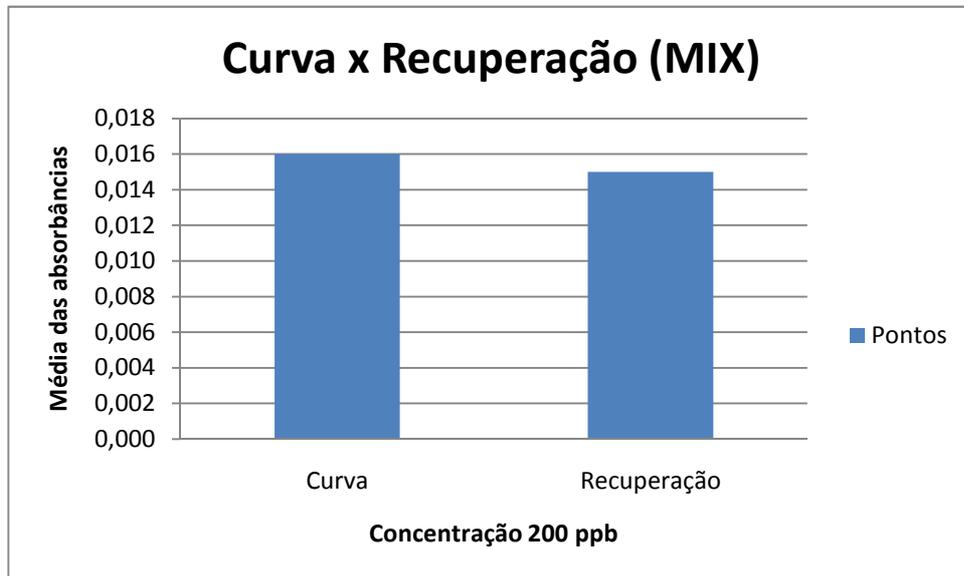


Figura 38 – Gráfico comparativo entre as absorvâncias da curva da mistura e a recuperação.

Tabela 39 – Cálculo da recuperação para a curva da mistura.

Fator de recuperação – curva do mistura		
Quantidade quantificada da espécie ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Quantidade adicionada na espécie ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Fator de recuperação (%)
215,71	200	107,86

Através dos resultados, verificou-se que o fator de recuperação do ponto de concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  foi de 107,86 %. O fator de recuperação está dentro da faixa de aceitação da Apha (2005), porém não há uma relação linear nessa curva, visto que a média da absorvância é menor que o ponto  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , porém tem concentração maior.

6.3.3. Construção de duas curvas de calibração utilizando padrões de diferentes por outro analista (analista 2)

Outras duas curvas foram elaboradas, mas por outro analista. O método sofreu uma alteração: agitou-se a amostra com muita força após a adição do reagente 4. Antes, era feita de forma mais branda até que o pó se dissolvesse totalmente.

As absorvâncias estão expostas na Tabela 40 e os cálculos do coeficiente de variação estão apresentados na Tabela 41.

Tabela 40 – Absorvâncias de cada concentração da curva do clorofórmio feita pelo analista 2.

Curva do clorofórmio (analista 2)										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorvâncias									
50	0,001	0,002	0,002	0,002	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
100	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,012	0,012	0,012	0,012	0,011
150	0,019	0,019	0,02	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019
200	0,022	0,022	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
250	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
300	0,037	0,037	0,037	0,038	0,038	0,037	0,038	0,038	0,037	0,037
320	0,030	0,030	0,030	0,029	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,029

Tabela 41 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva do clorofórmio do analista 2.

Curva clorofórmio (analista2)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio-padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
50	0,001	0,003	33,33
100	0,001	0,011	9,09
150	0,000	0,019	0,00
200	0,000	0,021	0,00
250	0,001	0,022	4,55
300	0,001	0,037	2,70
320	0,000	0,030	0,00

A curva foi feita do ponto “zero” ao ponto de concentração  $320 \mu\text{g L}^{-1}$ . Nota-se que o coeficiente de variação do ponto de concentração  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  é alto e não houve linearidade aceitável entre os pontos, como mostrado na Figura 39.

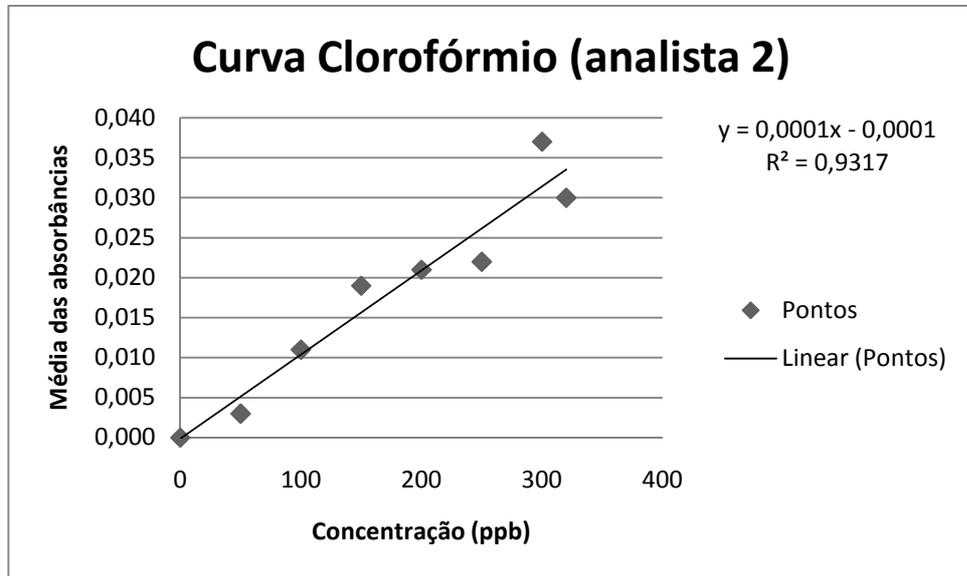


Figura 39 – Curva do clorofórmio iniciando do ponto de concentração “zero” ao  $320 \mu\text{g L}^{-1}$  feita pelo analista 2.

Quando se rejeitam os pontos de concentração  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $300 \mu\text{g L}^{-1}$ , o índice de correlação aumenta para 0,982, como mostrado na Figura 40.

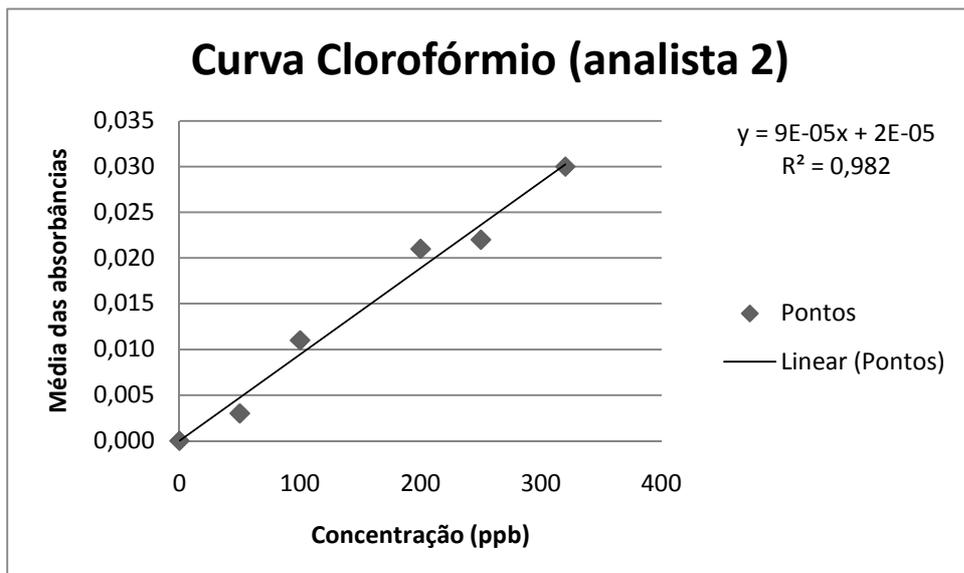


Figura 40 – Curva do clorofórmio do analista 2 rejeitando os pontos de concentração  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $300 \mu\text{g L}^{-1}$ .

O índice de correlação aumenta, porém não chega a estar na faixa maior que 0,9900.

As comparações das absorvâncias entre os dois analistas estão expostas na Tabela 42 e Figura 41.

Tabela 42 – Comparação entre as médias das absorvâncias de cada analista para a curva do clorofórmio.

<b>Comparação entre as médias (Clorofórmio)</b>			
<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Analista 1 (média)</b>	<b>Analista 2 (média)</b>	<b>Diferença</b>
50	0,008	0,003	0,005
100	0,018	0,011	0,007
150	0,021	0,019	0,002
200	0,019	0,021	0,002
250	0,022	0,022	0,000
300	0,025	0,037	0,012

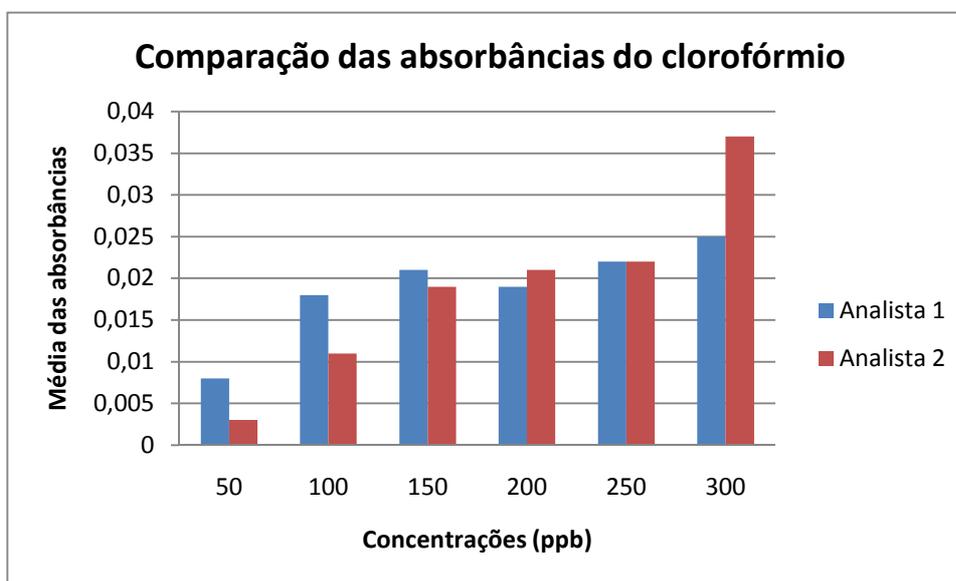


Figura 41 – Gráfico comparativo entre as médias das absorvâncias de cada analista para a curva do clorofórmio.

Outra curva foi elaborada pelo analista 2, porém com a solução de mistura dos quatro trihalometanos. As absorvâncias estão mostradas na Tabela 43. Os cálculos do coeficiente de variação estão expostos na Tabela 44.

Tabela 43 – Absorbâncias de cada concentração da curva da mistura feita pelo analista 2.

Curva MIX (analista 2)										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorbâncias									
50	0,003	0,004	0,003	0,004	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004	0,005
100	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,011
150	0,016	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,016	0,015	0,015
200	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,017	0,016	0,016	0,016	0,016
250	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,020	0,020	0,020	0,020	0,018
300	0,018	0,017	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
350	0,022	0,021	0,021	0,021	0,021	0,020	0,020	0,020	0,021	0,020

Tabela 44 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva da mistura do analista 2.

Curva MIX (analista 2)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio-padrão	Média	Coefficiente de variação (%)
50	0,001	0,004	25,00
100	0,000	0,010	0,00
150	0,000	0,015	0,00
200	0,001	0,017	5,88
250	0,001	0,020	5,00
300	0,000	0,018	0,00
350	0,001	0,021	4,76

Novamente, há uma grande variação nas amostras de baixas absorbâncias. A Figura 42 mostra o gráfico da curva da mistura feita pelo analista 2.

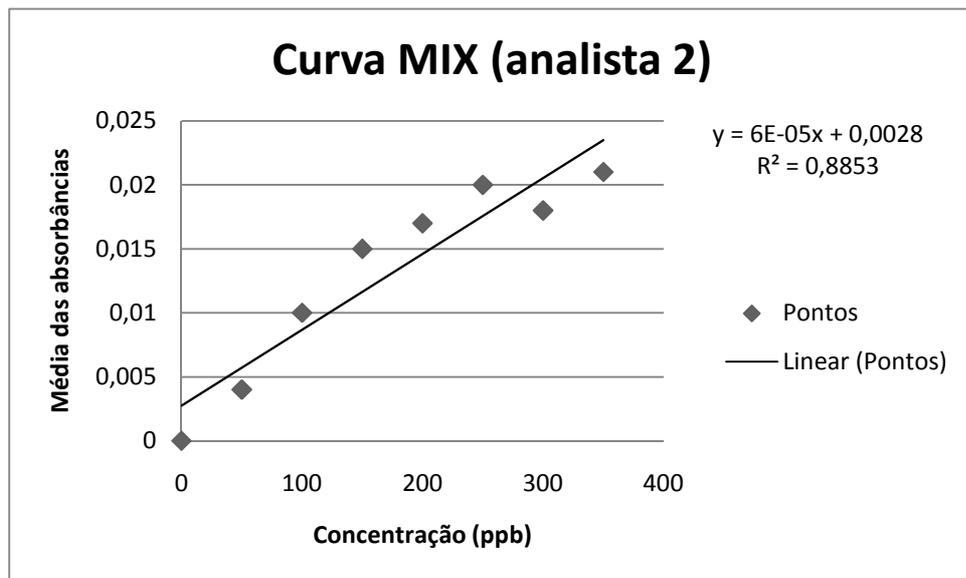


Figura 42 – Curva da mistura de trihalometanos iniciando do ponto “zero” ao 350  $\mu\text{g L}^{-1}$  feita pelo analista 2.

Assim como a curva do clorofórmio, não houve linearidade aceitável entre os pontos, visto que o  $R^2$  é igual a 0,8853. Assim, foram retirados os pontos de concentrações 300  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 350  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Figura 43), visto que se observava linearidade até o ponto de concentração 250  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

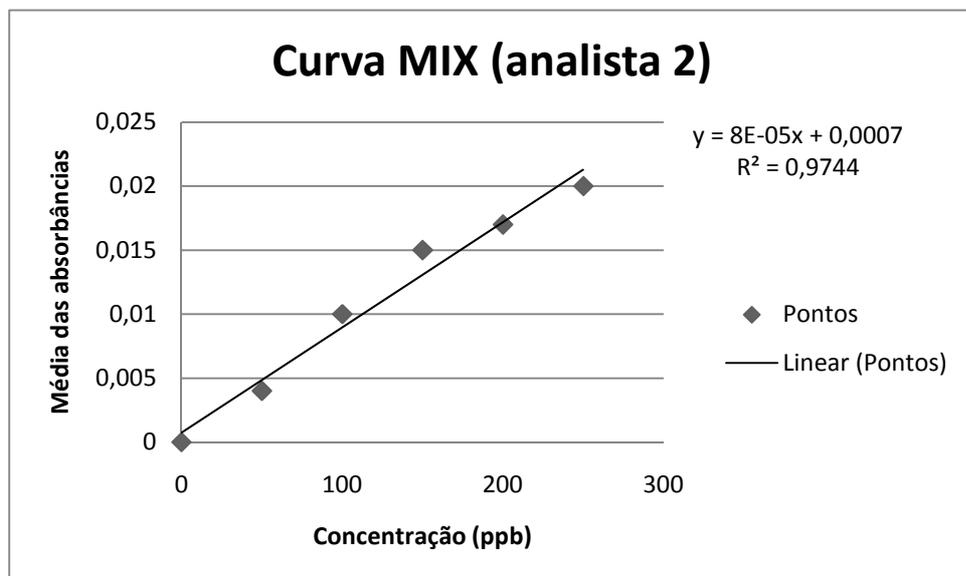


Figura 43 – Curva do analista 2 do clorofórmio iniciando do ponto de concentração “zero” ao 250  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

O índice de correlação não chegou a 0,9900, porém se aproximou mais do que as primeiras curvas, pois  $R^2 = 0,9744$ .

Na Tabela 45, as médias das absorvâncias dos dois analistas são comparadas. Na Figura 44, há uma ilustração dessa comparação.

Tabela 45 – Comparação entre as médias das absorvâncias de cada analista para a curva do clorofórmio.

Comparação entre as médias (MIX)		
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Analista 1 (média)	Analista 2 (média)
50	0,002	0,004
100	0,011	0,010
150	0,015	0,015
200	0,016	0,017
250	0,016	0,020
300	0,022	0,018
350	0,022	0,021

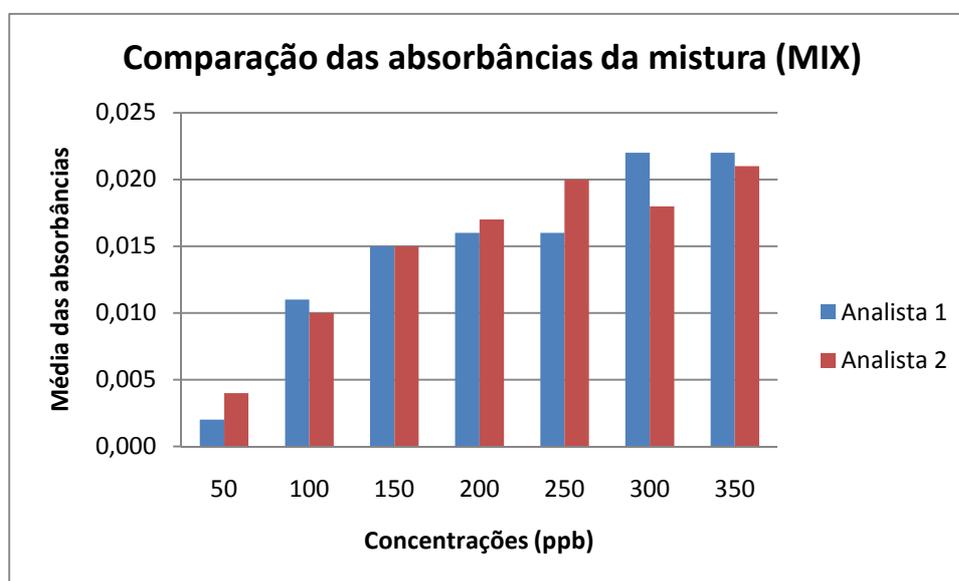


Figura 44 – Gráfico comparativo entre as médias das absorvâncias de cada analista para a curva da mistura.

Os índices de correlação das curvas do clorofórmio e da mistura feitas pelo analista 2 foram mais próximas do valor de 0,9900 que as curvas do analista 1. Isso pode se dever ao fato da agitação forte quando se adiciona o reagente 4. Provavelmente, essa mudança no procedimento experimental melhorou a qualidade da curva.

O analista 2 ainda fez um ensaio de recuperação para a curva da mistura utilizando dois pontos, como mostrado na Tabela 46, e o cálculo do coeficiente de variação mostrado na Tabela 47.

Tabela 46 – Absorbâncias de cada concentração da recuperação da curva (MIX) feita pelo analista 2.

Recuperação MIX (analista 2)										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorbâncias									
50	0,004	0,003	0,004	0,004	0,003	0,003	0,003	0,004	0,003	0,003
200	0,013	0,012	0,013	0,013	0,013	0,013	0,012	0,013	0,013	0,012

Tabela 47 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da recuperação da curva (MIX) do analista 2.

Recuperação MIX (analista 2)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio- padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
50	0,001	0,003	33,33
200	0,000	0,013	0,00

O coeficiente de variação do ponto de concentração  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  registrou uma variação de 33,33%, mostrando que o aparelho é impreciso para concentrações com baixas absorbâncias. O gráfico que mostra a diferença entre as absorbâncias está na Figura 45.

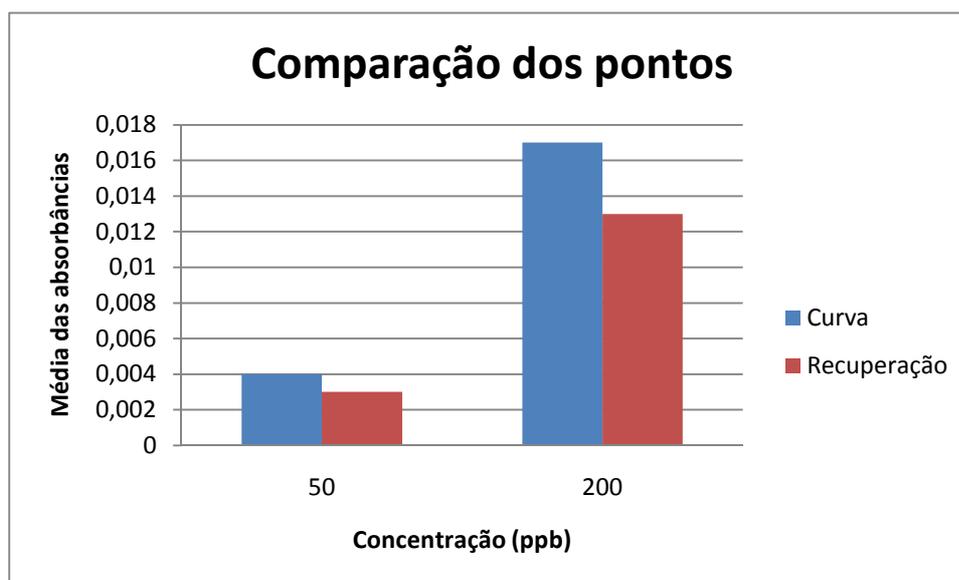


Figura 45 – Gráfico comparativo entre as absorvâncias da curva (MIX) do analista 2 e a recuperação.

O fator de recuperação está mostrado na Tabela 48.

Tabela 48 – Cálculo da recuperação para a curva da mistura do analista 2.

Fator de recuperação – analista 2 (curva da mistura)		
Quantidade quantificada da espécie ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Quantidade adicionada na espécie ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Fator de recuperação (%)
28,75	50	57,50
153,75	200	76,88

Através dos resultados, verificou-se que o fator de recuperação do ponto de concentração  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  foi de 57,50%, enquanto o fator do ponto de concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  foi de 76,88%. Nenhum dos dois pontos teve seus fatores de recuperação dentro da faixa recomendada pela Apha (2005). Além disso, a média da absorvância do ponto  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  é menor que o ponto  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ , porém tem concentração maior.

## 6.3.4. Método de adição de padrão realizado pelo analista 2

O analista 2 realizou um ensaio do método de adição de padrão com o objetivo de observar o efeito da matriz da água de torneira, pois as curvas eram feitas com água ultra pura. Seus resultados estão expostos na Tabela 49. O cálculo do coeficiente de variação está exposto na Tabela 50.

Tabela 49 – Absorbâncias do método de adição de padrão do analista 2 utilizando água de torneira.

Adição de padrão (analista 2)										
Amostras	Absorbâncias									
Branco	0,010	0,010	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009
<u>Clorofórmio</u>										
Adição em 50 µg L <sup>-1</sup>	0,018	0,017	0,017	0,017	0,017	0,018	0,018	0,018	0,018	0,017
Adição em 100 µg L <sup>-1</sup>	0,015	0,015	0,015	0,016	0,015	0,015	0,015	0,015	0,014	0,015
<u>MIX</u>										
Adição em 50 µg L <sup>-1</sup>	0,018	0,017	0,017	0,017	0,017	0,018	0,018	0,018	0,018	0,017
Adição em 100 µg L <sup>-1</sup>	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,027	0,025	0,024	0,024	0,024

Tabela 50 – Cálculo do coeficiente de variação das absorbâncias do método de adição de padrão do analista 2 utilizando água de torneira.

Adição de padrão (analista 2)			
Amostra	Desvio-padrão	Média	Coefficiente de variação (%)
Branco	0,000	0,009	0,00
<u>Clorofórmio</u>			
Adição em 50 µg L <sup>-1</sup>	0,001	0,018	5,56
Adição em 100 µg L <sup>-1</sup>	0,000	0,015	0,00
<u>MIX</u>			
Adição em 50 µg L <sup>-1</sup>	0,001	0,018	5,56
Adição em 100 µg L <sup>-1</sup>	0,001	0,025	4,00

Como ilustrado na Figura 46, a média das absorvâncias da adição de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de clorofórmio é igual a média das absorvâncias da adição de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de clorofórmio. Pode ter ocorrido alguma interferência na adição do clorofórmio ou houve erro aleatório na análise. Dessa forma, utilizou-se somente a adição da mistura.

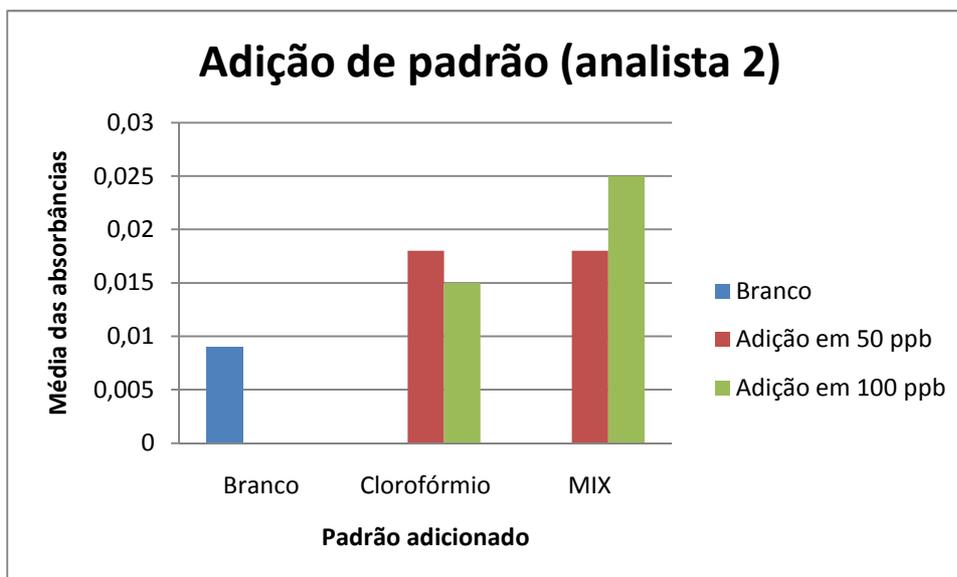


Figura 46 – Média das absorvâncias para cada padrão adicionado no método de adição de padrão do analista 2.

Para calcular a concentração da amostra, montou-se um gráfico de relação volume adicionado x amostra, como mostrado na Figura 47. Os volumes adicionados foram 0,625 mL e 1,25 mL para adições em  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

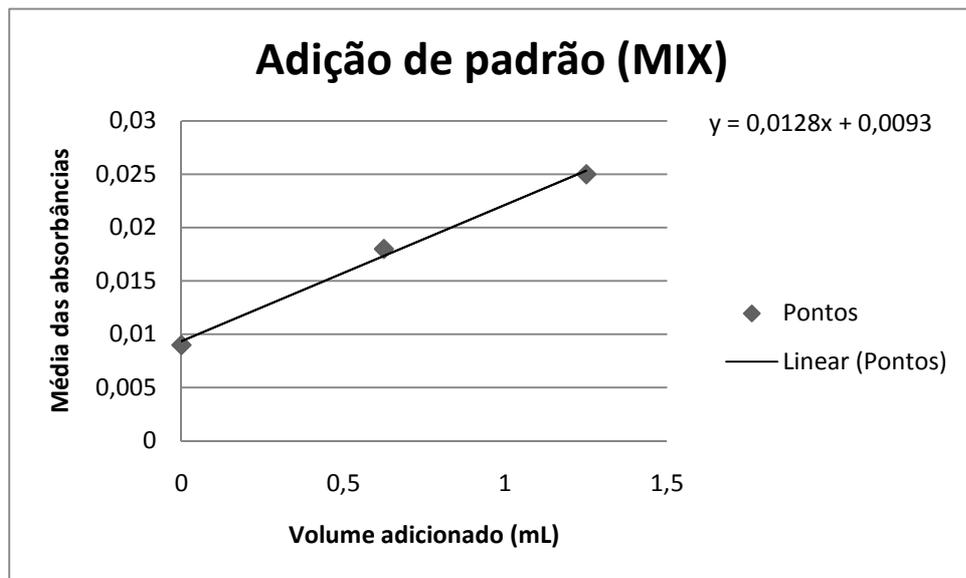


Figura 47 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no método da adição de padrão do analista 2 para o padrão MIX.

Obtida a equação de reta ( $y = 0,0128x + 0,0093$ ), Skoog, Holler e Nieman (2002) dizem que o valor da concentração da amostra pode ser descoberto por extrapolação gráfica. O valor extrapolado representa o volume de reagente que corresponde à resposta do instrumento para leitura zero, onde, nesse caso, é:

$$y = 0,0128x + 0,0093 \quad \text{Equação (09)}$$

$$\text{Absorbância} = y = \text{zero} \quad \text{Equação (10)}$$

$$x \text{ (volume)} \approx -0,73 \text{ mL}$$

Assim, utiliza-se a fórmula:

$$C_X = -\frac{(V_S)C_S}{V_x} \quad \text{Equação (11)}$$

Onde:

$V_S$  é o volume extrapolado;

$C_S$  é a concentração da solução stock;

$V_x$  é o volume da amostra adicionada no balão.

$$C_X = -\frac{(V_S)C_S}{V_x} \quad \text{Equação (11)}$$

$$C_X = - \frac{(-0,73\text{mL}) \times 4000 \mu\text{g L}^{-1}}{10,00\text{mL}}$$

$$C_X = 292,00 \mu\text{g L}^{-1} \text{ de CHCl}_3$$

Segundo o método espectrofotométrico, a concentração de trihalometanos na água da torneira pelo método da adição de padrão é  $292,00 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ . Visto que a concentração limite exigida pela Portaria 518/2004/MS é  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ , a água de torneira apresentou uma concentração de  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ , valor acima do máximo permitido. Deve-se considerar que o método, provavelmente, quantifica outros constituintes da amostra, o que pode justificar uma alta concentração de trihalometanos na água da torneira.

#### 6.3.5. Repetição da construção de duas curvas de calibração utilizando padrões de diferentes pelo analista 1

Na fase seguinte, o analista 1 elaborou novamente duas curvas: uma com clorofórmio e outra com a mistura. Porém, a análise foi realizada da mesma forma que o analista 2, tendo-se agitado intensamente a amostra após a adição do reagente 4. Para essa etapa, utilizou-se de uma solução nova de clorofórmio de  $2.000 \mu\text{g L}^{-1}$  preparada com 5 ampolas de volume igual a 2 mL e concentração de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

As absorvâncias estão expostas na Tabela 51 e os cálculos do coeficiente de variação estão expostos na Tabela 52.

Tabela 51 – Absorvâncias de cada concentração da curva do clorofórmio refeita pelo analista 1.

Curva Clorofórmio (analista 1)										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorvâncias									
50	0,004	0,004	0,004	0,005	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004
100	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,011	0,010
150	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,012	0,012	0,012
200	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,012	0,013	0,013	0,013
250	0,014	0,014	0,015	0,015	0,015	0,015	0,014	0,015	0,015	0,015
300	0,019	0,018	0,019	0,019	0,020	0,019	0,020	0,019	0,019	0,019
350	0,020	0,020	0,020	0,021	0,020	0,021	0,020	0,019	0,020	0,019

Tabela 52 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva do clorofórmio refeita pelo analista 1.

Curva Clorofórmio (analista 1)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio-padrão	Média	Coefficiente de variação (%)
50	0,000	0,004	0,00
100	0,000	0,011	0,00
150	0,000	0,013	0,00
200	0,000	0,013	0,00
250	0,000	0,015	0,00
300	0,001	0,019	5,26
350	0,001	0,020	5,00

O gráfico da curva do clorofórmio elaborada pelo analista 1 está representado na Figura 48.

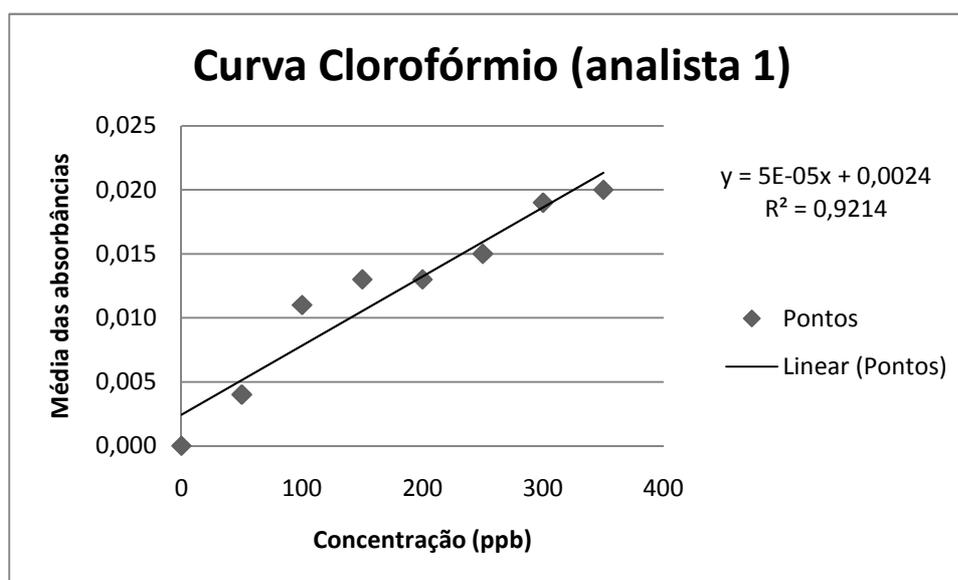


Figura 48 – Curva do clorofórmio refeita pelo analista 1 iniciando do ponto “zero” ao  $350 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Nota-se que não houve uma linearidade aceitável entre os pontos, pois o índice de correlação foi de 0,9214. Assim, foram retirados os pontos  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ , observando-se um aumento do índice de correlação ( $R^2 = 0,991$ ), o qual ultrapassou o valor de 0,9900, como exposto na Figura 49. Assim, esse índice está dentro do intervalo de aceitação, como seria aceito para um laboratório de processo.

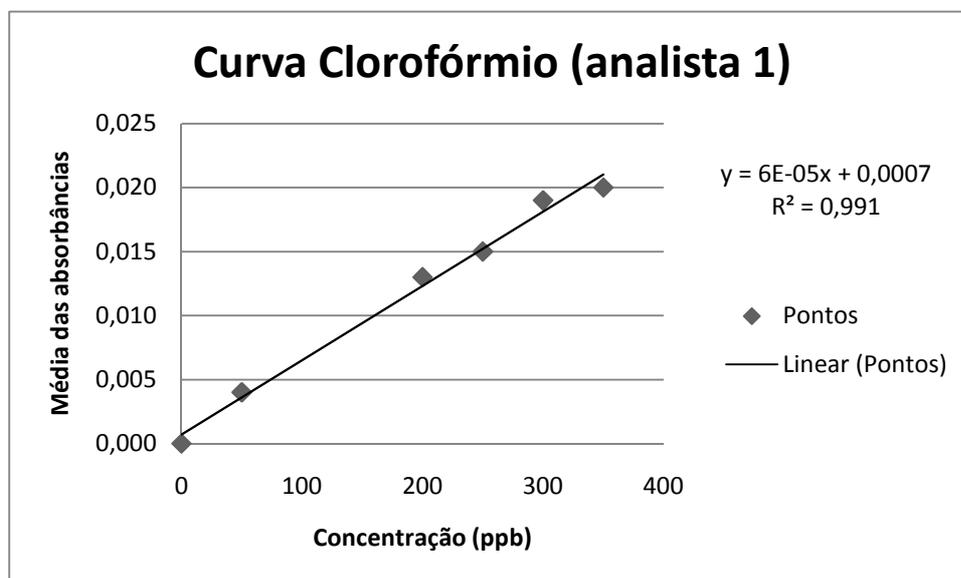


Figura 49 – Curva do clorofórmio refeita pelo analista 1 rejeitando os pontos de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Na Tabela 53, as médias das absorvâncias de todas as curvas do clorofórmio são comparadas. Na Figura 50, há uma ilustração dessa comparação.

Tabela 53 – Comparação entre as médias das absorvâncias de todas as curvas do clorofórmio.

Comparação entre as médias (Clorofórmio)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Curva 1	Analista 2	Analista 1 (repetição)
50	0,008	0,003	0,004
100	0,018	0,011	0,011
150	0,021	0,019	0,013
200	0,019	0,021	0,013
250	0,022	0,022	0,015
300	0,025	0,037	0,019

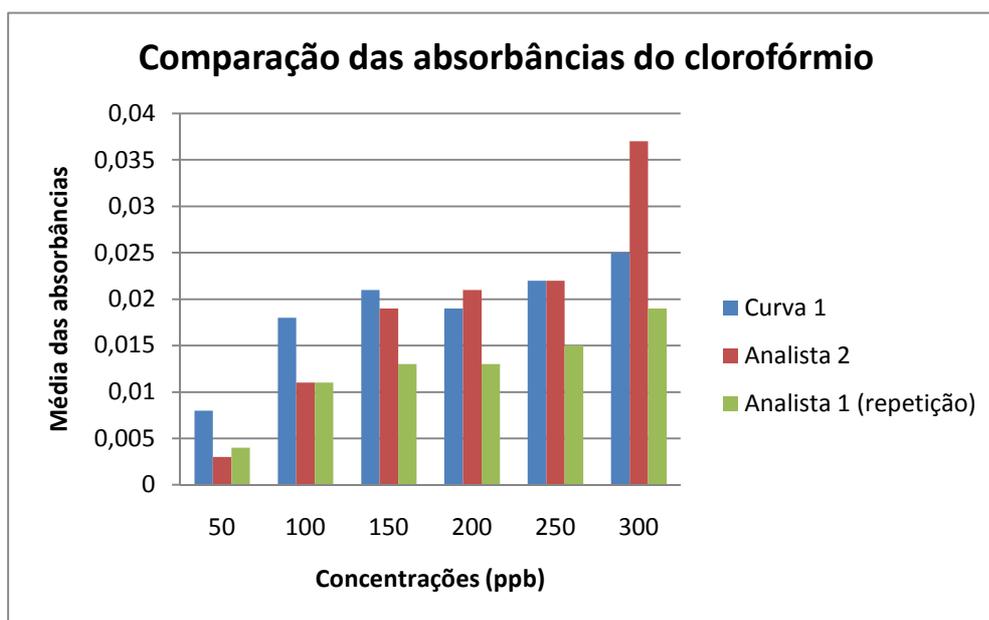


Figura 50 – Comparação das médias das absorvâncias de todas as curvas do clorofórmio para os pontos de concentração  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $300 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Pela Figura 50 que compara as médias das absorvâncias do clorofórmio, é possível concluir que houve perda do analito na preparação da solução stock. O procedimento de preparação da solução stock deve ser rápido e as ampolas da marca Supelco® (HACH THM Standard™) são inapropriadas para esse tipo de preparação de solução stock, visto que a concentração de clorofórmio é de apenas  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Assim, para esse tipo de procedimento, é necessário que se utilizem padrões com concentrações altas, como, por exemplo,  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ , que foram utilizadas na primeira curva e na do analista 2. Além disso, em algumas concentrações, há uma diferença muito grande de absorvância entre as curvas. No ponto de concentração  $300 \mu\text{g L}^{-1}$ , é provável que tenha ocorrido um erro aleatório, pois a absorvância do analista 2 é bem maior que as demais.

Foi realizado um ensaio de recuperação da curva do clorofórmio utilizando dois pontos, como mostrado na Tabela 54, e o cálculo do coeficiente de variação mostrado na Tabela 55.

Tabela 54 – Absorbâncias de cada concentração da recuperação da curva (clorofórmio) feita pelo analista 1.

Recuperação Clorofórmio (analista 1)										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorbâncias									
50	0,007	0,007	0,008	0,008	0,008	0,007	0,008	0,008	0,007	0,007
200	0,014	0,013	0,013	0,012	0,012	0,013	0,013	0,012	0,012	0,012

Tabela 55 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da recuperação da curva (clorofórmio) do analista 1.

Recuperação Clorofórmio (analista 1)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio- padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
50	0,001	0,008	12,50
200	0,001	0,013	7,69

O gráfico que mostra a diferença entre as absorbâncias está na Figura 51 e o fator de recuperação está exposto na Tabela 56.

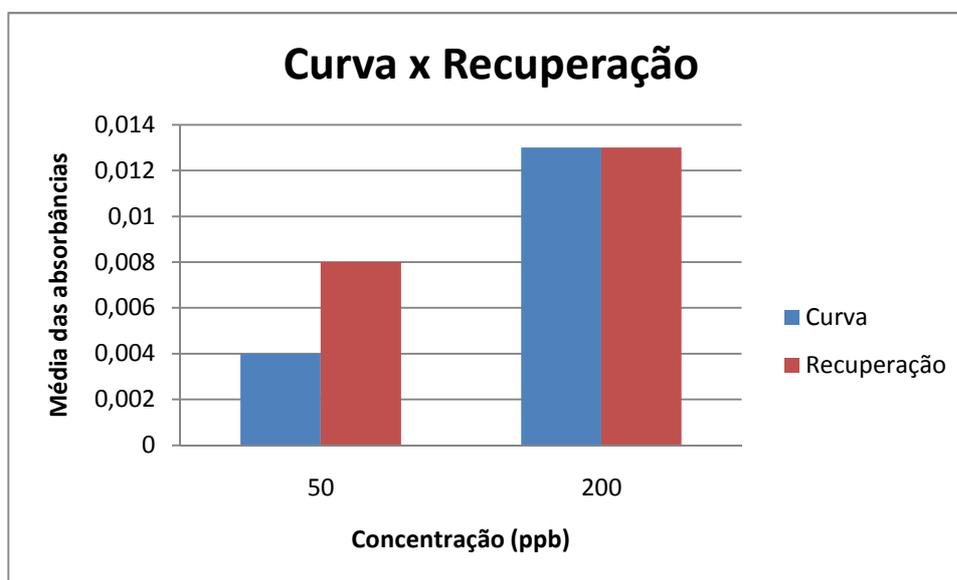


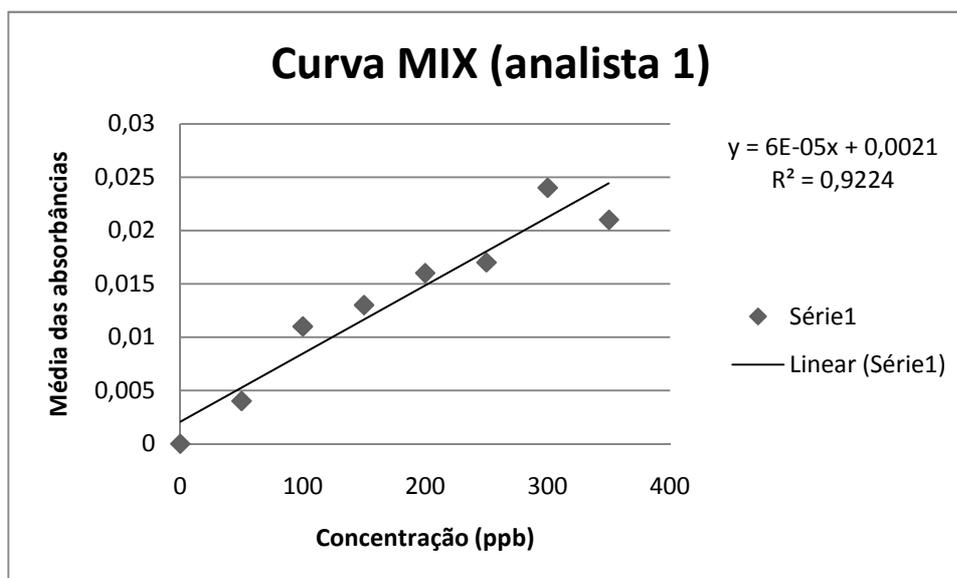
Figura 51 – Gráfico comparativo entre as absorbâncias da curva (clorofórmio) do analista 1 e a recuperação.



Tabela 58 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da curva da mistura do analista 1.

Curva MIX (analista 1)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio- padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
50	0,000	0,004	0,00
100	0,001	0,011	9,09
150	0,000	0,013	0,00
200	0,000	0,016	0,00
250	0,000	0,017	0,00
300	0,001	0,024	4,17
350	0,000	0,021	0,00

O gráfico da curva da mistura elaborada pelo analista 1 está representado na Figura 52.

Figura 52 – Curva da mistura refeita pelo analista 1 iniciando do ponto “zero” ao 350  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Assim como a curva do clorofórmio, não houve linearidade aceitável entre os pontos, visto que o  $R^2$  é igual a 0,9224. Assim, foram retirados os pontos de concentrações 250  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 350  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Figura 53).

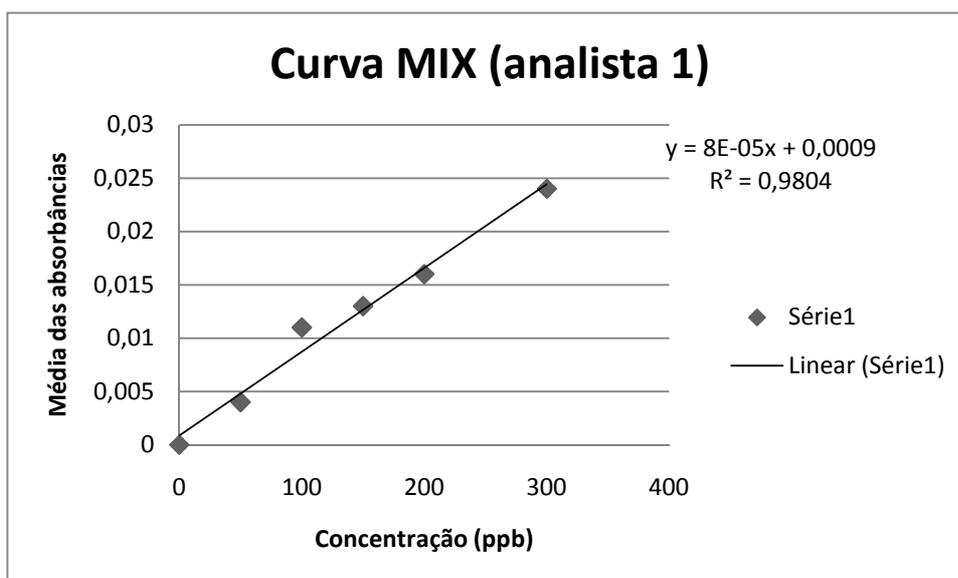


Figura 53 – Curva da mistura do analista 1 rejeitando os pontos de concentração  $250 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $350 \mu\text{g L}^{-1}$ .

O índice de correlação não chegou a 0,9900, pois o índice obtido foi 0,9804.

Na Tabela 59, as médias das absorvâncias de todas as curvas da mistura são comparadas. Na Figura 54, há uma ilustração dessa comparação.

Tabela 59 – Comparação entre as médias das absorvâncias de todas as curvas da mistura.

Comparação entre as médias (MIX)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Curva 1	Analista 2	Analista 1 (repetição)
50	0,002	0,004	0,004
100	0,011	0,010	0,011
150	0,015	0,015	0,013
200	0,016	0,017	0,016
250	0,016	0,020	0,017
300	0,022	0,018	0,024
350	0,022	0,021	0,021

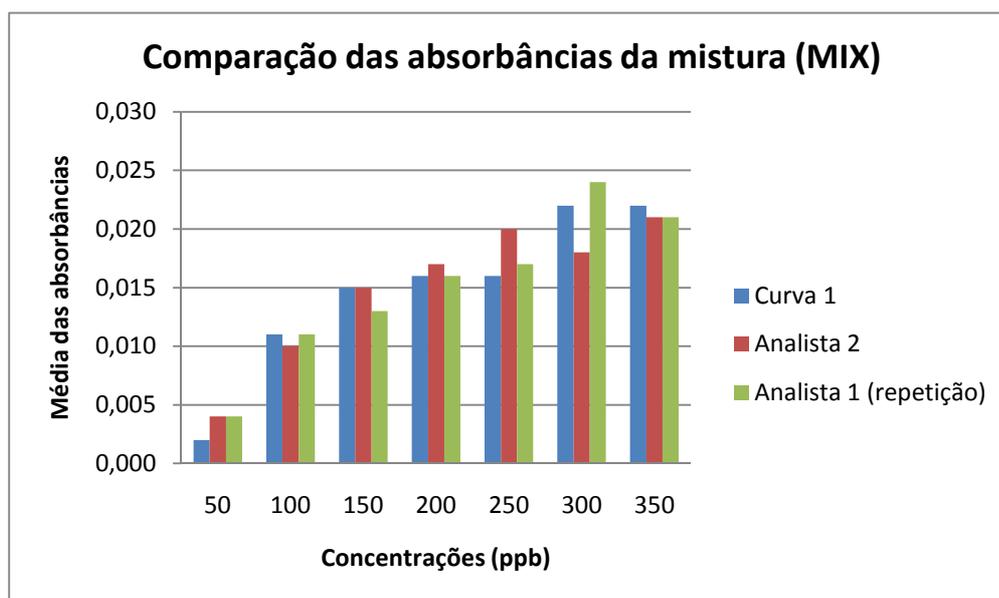


Figura 54 – Comparação das médias das absorvâncias de todas as curvas da mistura para os pontos de concentração  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $350 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Tanto para o clorofórmio, quanto para o MIX, os índices de correlação das curvas aumentaram com a mudança na agitação do reagente 4.

Foi realizado um ensaio de recuperação da curva do clorofórmio utilizando dois pontos, como mostrado na Tabela 60, e o cálculo do coeficiente de variação mostrado na Tabela 61.

Tabela 60 – Absorvâncias de cada concentração da recuperação da curva (MIX) feita pelo analista 1.

Recuperação MIX (analista 1)										
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Absorvâncias									
50	0,004	0,004	0,004	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,006
200	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021

Tabela 61 – Cálculo do coeficiente de variação para cada ponto da recuperação da curva (MIX) do analista 1.

Recuperação MIX (analista 1)			
Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio-padrão	Média	Coefficiente de variação (%)
50	0,001	0,005	20,00
200	0,000	0,021	0,00

O gráfico que mostra a diferença entre as absorvâncias está na Figura 55 e o fator de recuperação está exposto na Tabela 62.

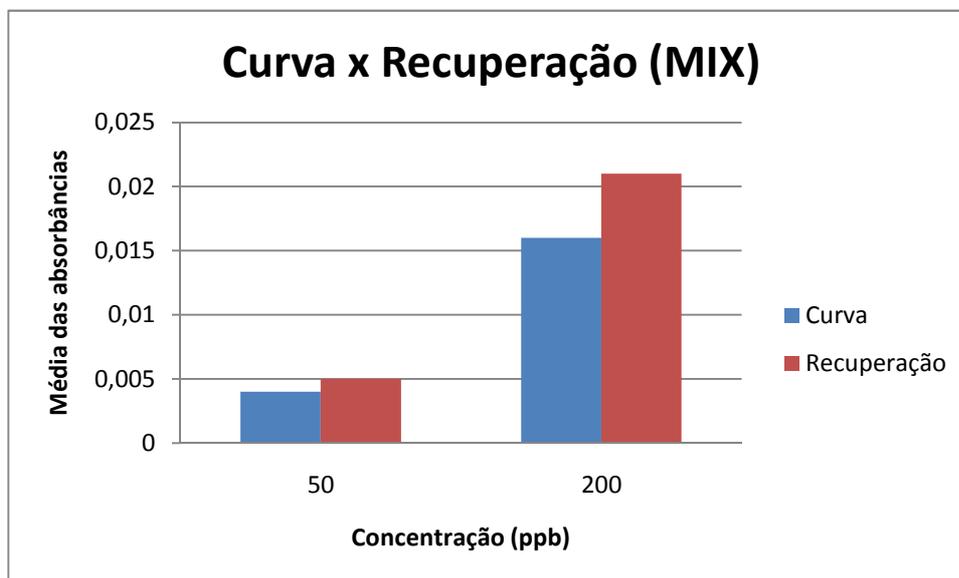


Figura 55 – Gráfico comparativo entre as absorvâncias da curva (MIX) do analista 1 e a recuperação.

Tabela 62 – Cálculo da recuperação para a curva da mistura do analista 1.

Fator de recuperação – analista 1 (curva da mistura)		
Quantidade quantificada da espécie ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Quantidade adicionada na espécie ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Fator de recuperação (%)
51,25	50	102,50
251,25	200	125,63

Através dos resultados, verificou-se que o fator de recuperação do ponto de concentração  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  foi de 102,50%, enquanto o fator do ponto de concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  foi de 125,63%. Apenas o ponto de concentração  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  está na faixa recomendada pela Apha (2005), que é entre 80% e 120%.

Dessa forma, as recuperações variaram muito em relação a uma curva com a outra, apresentando uma instabilidade de quantificação no método.

## 6.3.6. Método de adição de padrão realizado pelo analista 1

Duas análises do método de adição de padrão foram realizadas posteriormente. Para o primeiro teste, os resultados estão expostos na Tabela 63. O cálculo do coeficiente de variação está exposto na Tabela 64. Além desse teste, foi realizada uma análise diretamente da água coletada, sem fazer diluição.

Tabela 63 – Absorbâncias do primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1 utilizando água da torneira.

Adição de padrão (analista 1) → teste 1										
Amostra	Absorbâncias									
Branco	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,007
<u>Clorofórmio</u>										
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,012	0,012	0,014
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,019	0,018	0,019	0,019	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
<u>MIX</u>										
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,013	0,012	0,012	0,012	0,011	0,012	0,011	0,011	0,012	0,011
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,020	0,020	0,021	0,021	0,021	0,020	0,021	0,021	0,020	0,020

Tabela 64 – Cálculo do coeficiente de variação das absorvâncias do primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1 utilizando água da torneira.

Adição de padrão (analista 1) → teste 1			
Amostra	Desvio-padrão	Média	Coefficiente de variação (%)
Branco	0,000	0,008	0,00
<u>Clorofórmio</u>			
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,001	0,013	7,69
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,000	0,018	0,00
<u>MIX</u>			
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,001	0,012	8,33
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,001	0,021	4,76

A Figura 56 indica que houve um aumento das absorvâncias quando a quantidade de padrão injetada era aumentada também.

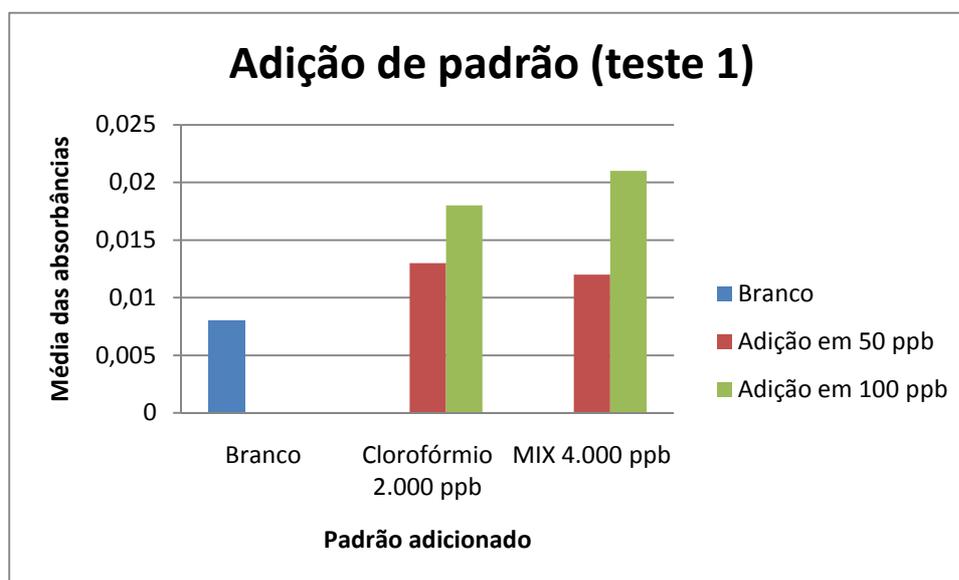


Figura 56 – Média das absorvâncias para cada padrão adicionado no primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1.

Para calcular a concentração da amostra, montou-se um gráfico de relação volume adicionado x amostra para cada padrão adicionado.

O primeiro padrão calculado foi o clorofórmio, como mostrado na Figura 57. Os volumes adicionados foram 1,25 mL e 2,50 mL para adições em  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

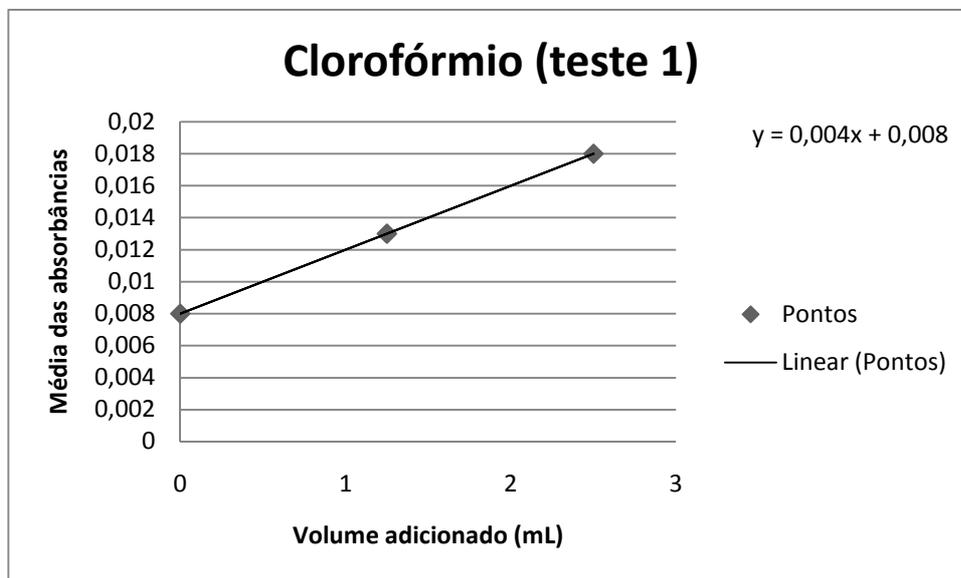


Figura 57 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no primeiro teste do método da adição de padrão do analista 1 para o padrão de clorofórmio.

O valor extrapolado representa o volume de reagente que corresponde à resposta do instrumento para leitura zero, onde nesse caso é:

$$y = 0,004x + 0,008 \quad \text{Equação (12)}$$

$$\text{Absorbância} = y = \text{zero} \quad \text{Equação (10)}$$

$$x (\text{volume}) \approx -2,00 \text{ mL}$$

$$C_X = -\frac{(V_S)C_S}{V_X} \quad \text{Equação (11)}$$

$$C_X = -\frac{(-2,00\text{mL}) \times 2000\mu\text{gL}^{-1}}{10,00\text{mL}}$$

$$C_X = 400,00 \mu\text{g L}^{-1} \text{ de CHCl}_3$$

Segundo o método espectrofotométrico, a concentração de trihalometanos na água da torneira pelo método da adição de padrão é  $400,00 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ . Visto que a concentração limite exigida pela Portaria 518/2004/MS é  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ , a água de torneira apresentou uma concentração de  $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ , valor acima do máximo permitido. Deve-se

considerar que o método, provavelmente, quantifica outros constituintes da amostra, o que pode justificar uma alta concentração de trihalometanos na água da torneira.

O segundo padrão calculado foi a mistura, como mostrado na Figura 58. Os volumes adicionados foram 0,625 mL e 1,25 mL para adições em  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

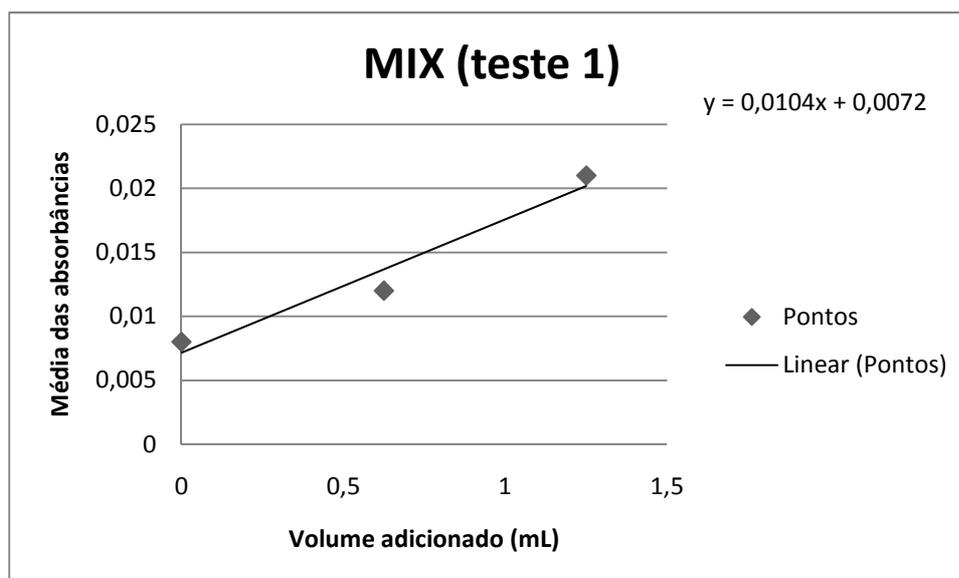


Figura 58 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no primeiro teste do método da adição de padrão do analista 1 para o padrão MIX.

O valor extrapolado representa o volume de reagente que corresponde à resposta do instrumento para leitura zero, onde nesse caso é:

$$y = 0,0104x + 0,0072 \quad \text{Equação (13)}$$

$$\text{Absorbância} = y = \text{zero} \quad \text{Equação (10)}$$

$$x \text{ (volume)} \approx -0,69 \text{ mL}$$

$$C_X = -\frac{(V_S)C_S}{V_x} \quad \text{Equação (11)}$$

$$C_X = -\frac{(-0,69\text{mL}) \times 4000\mu\text{gL}^{-1}}{10,00\text{mL}}$$

$$C_X = 276,00 \mu\text{g L}^{-1} \text{ de CHCl}_3$$

Segundo o método espectrofotométrico, a concentração de trihalometanos na água da torneira pelo método da adição de padrão é  $276,00 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ . Visto que a concentração limite exigida pela Portaria 518/2004/MS é  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ , a água de torneira apresentou uma concentração de  $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ , valor acima do máximo permitido. Deve-se considerar que o método, provavelmente, quantifica outros constituintes da amostra, o que pode justificar uma alta concentração de trihalometanos na água da torneira.

Para a adição de padrão da mistura, alguns pontos do gráfico não estiveram na região da reta, indicando a falta de linearidade. Além disso, a diferença entre as concentrações dos dois testes foi de  $124,00 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ .

Para a água analisada sem diluição, as absorvâncias estão expostas na Tabela 65 e o cálculo do coeficiente de variação está na Tabela 66.

Tabela 65 – Absorvâncias da análise da água da torneira sem diluição no primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1.

Absorvâncias (amostra sem diluição)									
0,012	0,012	0,011	0,012	0,012	0,013	0,012	0,013	0,013	0,013

Tabela 66 – Cálculo do coeficiente de variação das absorvâncias da análise da água da torneira sem diluição no primeiro teste do método de adição de padrão do analista 1.

Amostra sem diluição		
Desvio-padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
0,001	0,012	8,33

Utilizando a média das absorvâncias e as equações das curvas de cada padrão (clorofórmio e MIX), calcula-se, para cada uma, a concentração de trihalometanos na mesma amostra que se utilizou na adição de padrão. As curvas utilizadas serão as duas do analista 1 quando houve agitação intensa do reagente 4.

Utilizando o clorofórmio como padrão, a amostra possui  $193,33 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ . Utilizando a mistura como padrão, a amostra possui  $145,00 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ . Para a amostra sem diluição, a diferença das concentrações entre os dois padrões é de  $48,33 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ . Deve-se considerar que o método, provavelmente, quantifica outros constituintes da amostra, o que pode justificar uma alta concentração de trihalometanos na água da torneira.

Para o segundo teste, os resultados estão expostos na Tabela 67. O cálculo do coeficiente de variação está exposto na Tabela 68. Além desse teste, foi realizada uma análise diretamente da água coletada, sem fazer diluição, porém coletada em outro frasco para não haver ar atmosférico dentro.

Tabela 67 – Absorbâncias do segundo teste do método de adição de padrão do analista 1 utilizando água da torneira.

Adição de padrão (analista 1) → teste 2										
Amostra	Absorbâncias									
Branco	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<u>Clorofórmio</u>										
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,008	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009
<u>MIX</u>										
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,007
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,015	0,014	0,014	0,014	0,014	0,013	0,013	0,013	0,012	0,012

Tabela 68 – Cálculo do coeficiente de variação das absorbâncias do segundo teste do método de adição de padrão do analista 1 utilizando água da torneira.

Adição de padrão (analista 1) → teste 2			
Amostra	Desvio-padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
Branco	0,000	0,000	0,000
<u>Clorofórmio</u>			
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,000	0,007	0,00
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,000	0,009	0,00
<u>MIX</u>			
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,000	0,007	0,00
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,001	0,013	7,69

A Figura 59 indica que houve um aumento das absorvâncias quando a quantidade de padrão injetada era aumentada também.

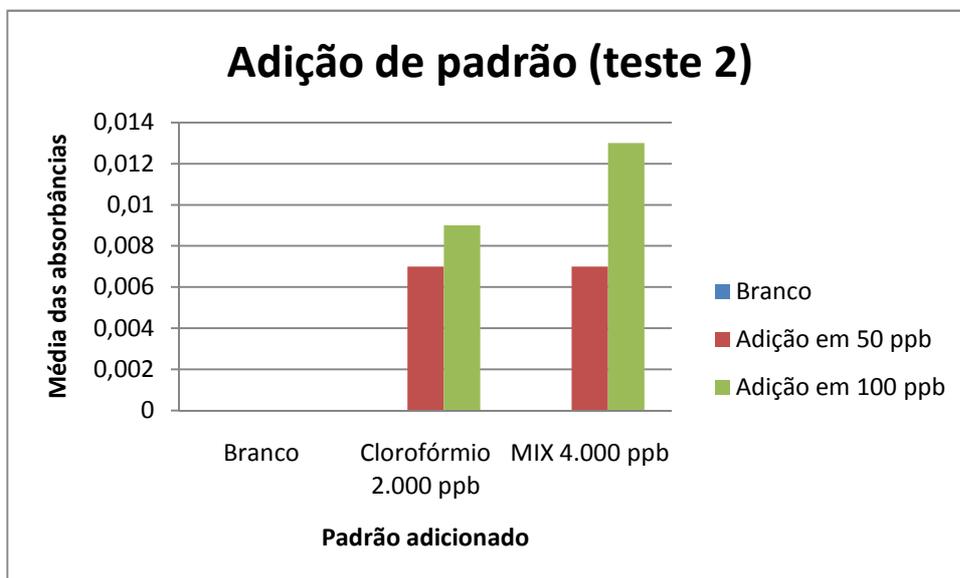


Figura 59 – Média das absorvâncias para cada padrão adicionado no segundo teste do método de adição de padrão do analista 1.

Para calcular a concentração da amostra, montou-se um gráfico de relação volume adicionado x amostra para cada padrão adicionado.

O primeiro padrão calculado foi o clorofórmio, como mostrado na Figura 60. Os volumes adicionados foram 1,25 mL e 2,50 mL para adições em  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

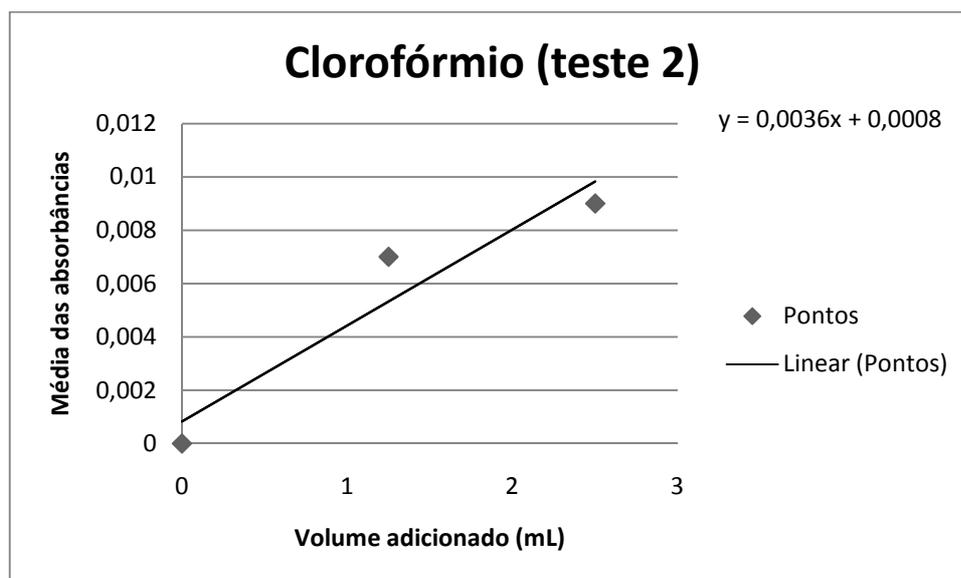


Figura 60 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no segundo teste do método da adição de padrão do analista 1 para o padrão de clorofórmio.

O valor extrapolado representa o volume de reagente que corresponde à resposta do instrumento para leitura zero, onde nesse caso é:

$$y = 0,0036x + 0,0008 \quad \text{Equação (14)}$$

$$\text{Absorbância} = y = \text{zero} \quad \text{Equação (10)}$$

$$x \text{ (volume)} \approx -0,22 \text{ mL}$$

$$C_X = -\frac{(V_S)C_S}{V_X} \quad \text{Equação (11)}$$

$$C_X = -\frac{(-0,22\text{mL}) \times 2000\mu\text{g L}^{-1}}{10,00\text{mL}}$$

$$C_X = 44,00 \mu\text{g L}^{-1} \text{ de CHCl}_3$$

Segundo o método espectrofotométrico, a concentração de trihalometanos na água da torneira pelo método da adição de padrão é  $44,00 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ . Visto que a concentração limite exigida pela Portaria 518/2004/MS é  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ , a água de torneira apresentou uma concentração de  $0,0 \text{ mg L}^{-1}$ , valor abaixo do máximo permitido.

O segundo padrão calculado foi a mistura, como mostrado na Figura 61. Os volumes adicionados foram  $0,625 \text{ mL}$  e  $1,25 \text{ mL}$  para adições em  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

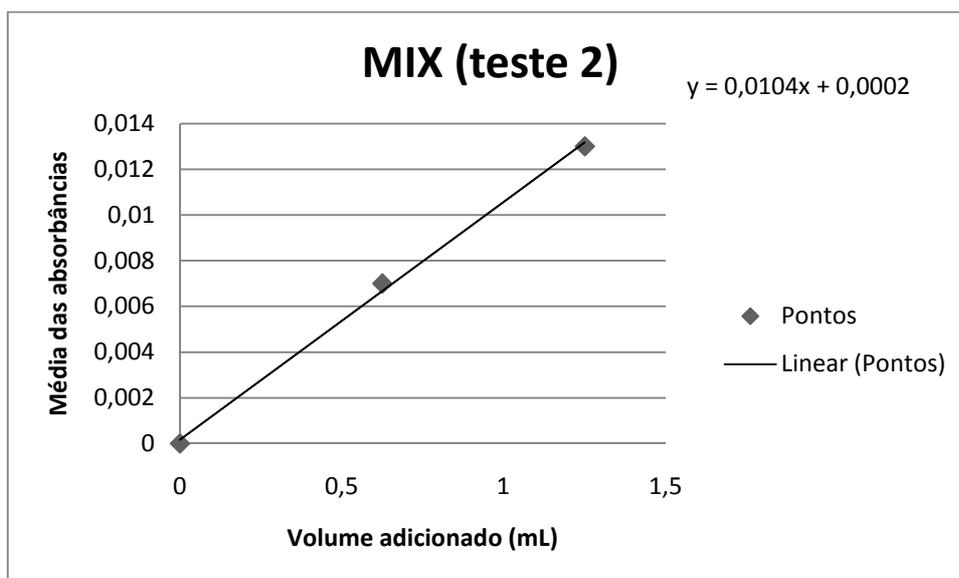


Figura 61 – Gráfico para o valor extrapolado e da equação da reta obtida no segundo teste do método da adição de padrão do analista 1 para o padrão MIX.

O valor extrapolado representa o volume de reagente que corresponde à resposta do instrumento para leitura zero, onde nesse caso é:

$$y = 0,0104x + 0,0002 \quad \text{Equação (15)}$$

$$\text{Absorbância} = y = \text{zero} \quad \text{Equação (10)}$$

$$x \text{ (volume)} \approx -0,02 \text{ mL}$$

$$C_X = -\frac{(V_S)C_S}{V_x} \quad \text{Equação (11)}$$

$$C_X = -\frac{(-0,02\text{mL}) \times 4000\mu\text{gL}^{-1}}{10,00\text{mL}}$$

$$C_X = 8,00 \mu\text{g L}^{-1} \text{ de CHCl}_3$$

Segundo o método espectrofotométrico, a concentração de trihalometanos na água da torneira pelo método da adição de padrão é  $8,00 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ . Visto que a concentração limite exigida pela Portaria 518/2004/MS é  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ , a água de torneira apresentou uma concentração de  $0,0 \text{ mg L}^{-1}$ , valor abaixo do máximo permitido.

Para a adição de padrão do clorofórmio, um ponto do gráfico não esteve na região da reta, indicando a falta de linearidade. Além disso, a diferença entre as concentrações nos dois testes foi de  $36,00 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CHCl}_3$ .



Tabela 70 – Cálculo do coeficiente de variação das absorvâncias do teste de efeito da matriz da amostra utilizando água da torneira.

Teste de efeito da matriz da amostra			
Amostra	Desvio-padrão	Média	Coeficiente de variação (%)
Branco	0,000	0,033	0,00
Clorofórmio			
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,001	0,039	2,56
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,001	0,033	3,03
MIX			
Adição em 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,000	0,038	0,00
Adição em 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,000	0,046	0,00

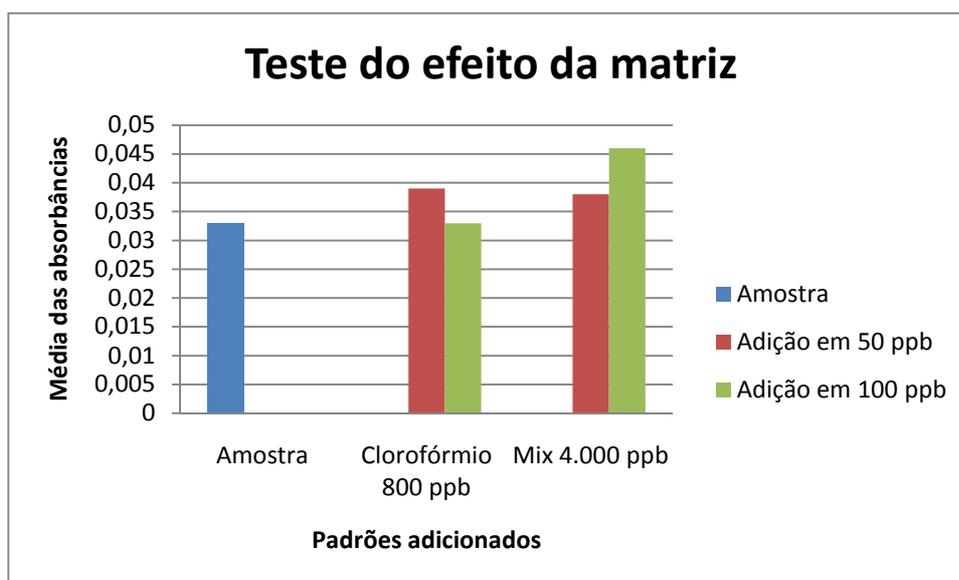


Figura 62 – Gráfico do teste do efeito da matriz da amostra utilizando água da torneira.

Para o clorofórmio, nota-se que a amostra em que se adicionou em 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  teve uma absorvância menor que a amostra que recebeu uma adição em 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Assim, novamente houve erros aleatórios que interferiram nos resultados.

#### 6.3.8. Avaliação da repetitividade

Para repetitividade, os cálculos dos coeficientes de variação estão mostrados na Tabela 71, para o clorofórmio, e na Tabela 72, para a mistura.

Tabela 71 – Cálculo do coeficiente de variação das médias das absorbâncias para a etapa da repetitividade (clorofórmio) para as duas curvas do analista 1.

<b>Repetitividade (Clorofórmio)</b>			
<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>Média</b>	<b>Coeficiente de variação (%)</b>
50	0,002	0,006	33,33
100	0,004	0,014	28,57
150	0,004	0,017	23,53
200	0,003	0,016	18,75
250	0,004	0,018	22,22
300	0,003	0,022	13,64
350	0,003	0,023	13,04

Nenhum ponto obteve o coeficiente de variação menor que 5% na repetitividade do clorofórmio, onde não houve precisão devido ao alto desvio-padrão.

Tabela 72 – Cálculo do coeficiente de variação das médias das absorbâncias para a etapa da repetitividade (MIX) para as duas curvas do analista 1.

<b>Repetitividade (MIX)</b>			
<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>Média</b>	<b>Coeficiente de variação (%)</b>
50	0,001	0,003	33,33
100	0,001	0,011	9,09
150	0,001	0,014	7,14
200	0,001	0,016	6,25
250	0,000	0,017	0,00
300	0,001	0,023	4,35
350	0,001	0,022	4,55

Apenas três pontos (250, 300 e 350  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) obtiveram seus coeficientes de variação abaixo de 5% na repetitividade do MIX. Nota-se que os pontos de concentrações mais baixas tiveram uma maior variação nos dois padrões. Isso pode ter ocorrido devido a baixa sensibilidade do aparelho em ler baixas absorbâncias.

### 6.3.9. Avaliação da precisão intermediária

Para precisão intermediária, os cálculos dos coeficientes de variação estão mostrados na Tabela 73, para o clorofórmio, e na Tabela 74, para a mistura.

Tabela 73 – Cálculo do coeficiente de variação para a etapa da precisão intermediária (clorofórmio) entre a segunda curva do analista 1 e curva do analista 2.

<b>Precisão intermediária (Clorofórmio)</b>			
<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>Média</b>	<b>Coefficiente de variação (%)</b>
50	0,001	0,003	33,33
100	0,000	0,011	0,00
150	0,003	0,016	18,75
200	0,004	0,017	23,53
250	0,003	0,018	16,67
300	0,009	0,028	32,14

Apenas o ponto de de concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  obteve uma variação menor que 5% na precisão intermediária do clorofórmio. Novamente, um ponto de baixa concentração ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) teve uma variação alta, podendo ser causada pela baixa sensibilidade do aparelho para baixas absorbâncias.

Tabela 74 – Cálculo do coeficiente de variação para a etapa da precisão intermediária (MIX) entre a segunda curva do analista 1 e curva do analista 2.

<b>Precisão intermediária (MIX)</b>			
<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>Média</b>	<b>Coefficiente de variação (%)</b>
50	0,000	0,004	0,00
100	0,001	0,010	10,00
150	0,001	0,014	7,14
200	0,001	0,016	6,25
250	0,002	0,019	10,53
300	0,004	0,021	19,05
350	0,001	0,021	4,76

Apenas dois pontos ( $50$  e  $350 \mu\text{g L}^{-1}$ ) obtiveram variação menor que 5% na precisão intermediária do MIX. As amostras que tiveram seus coeficientes de variação maiores que 5% apresentaram um desvio-padrão alto.

6.3.10. Teste estatístico para confirmação da quantificação de todos os trihalometanos pelo método espectrofotométrico (seletividade)

Como havia suspeita que os quatros trihalometanos (clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano, bromofórmio) fossem quantificados pelo método, utilizou-se da ferramenta ANOVA (fator único) para ter certeza se havia diferença significativa entre os valores. Assim, os fatores trabalhados foram os padrões e as duas curvas do analista 1 e a curva do analista 2. Os resultados estão nas Tabelas 75, 76 e 77.

Tabela 75 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias dos dois padrões da curva do analista 1.

<b>Anova: fator único – concentração 50 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
605,52	2,62E-15	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 100 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
2053,5	5,26E-20	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 150 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
443,5385	3,94E-14	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 200 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
66,39344	1,89E-07	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 250 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
1176	7,51E-18	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 300 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
101,7529	7,81E-09	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 350 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
317,4	7,02E-13	4,413873

Tabela 76 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias dos dois padrões da curva do analista 2.

<b>Anova: fator único – concentração 50 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
18,77778	0,0004	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 100 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
46,09091	2,33E-06	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 150 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
547,56	6,31E-15	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 200 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
476,1	2,13E-14	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 250 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
10,37143	0,004744	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 300 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
9548,1	5,49E-26	4,413873

Tabela 77 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias dos dois padrões da segunda curva do analista 1.

<b>Anova: fator único – concentração 50 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
2	0,174363	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 100 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
1,528302	0,232257	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 150 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
6,081081	0,023939	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 200 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
841	1,46E-16	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 250 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
226,7143	1,21E-11	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 300 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
221,2364	1,48E-11	4,413873
<b>Anova: fator único – concentração 350 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
87,12	2,55E-08	4,413873

Exceto para os pontos de concentração 50 e 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  da segunda curva do analista 1, houve diferença significativa para todos os pontos, pois o “F” calculado foi maior que o “F” crítico e o valor “P” foi menor que 0,05. Esse valor indica um nível de confiança de 95%. Entretanto, devido a grande suscetibilidade de erros aleatórios, não se tem a confirmação de que o método quantifica ou não todos os trihalometanos, sendo necessário o método normatizado de determinação de trihalometanos para se fazer uma comparação.

6.3.11. Teste estatístico para estudo de homogeneidade entre as absorvâncias de cada ponto nas três curvas de cada padrão

Aplicou-se o teste ANOVA utilizando as absorvâncias das três curvas para cada padrão. Os resultados do clorofórmio estão expostos na Tabela 78 e os resultados do MIX estão expostos na Tabela 79.

Tabela 78 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias das três curvas para o padrão de clorofórmio.

<b>Anova: fator único – concentração 50 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
356,5714	3,87E-20	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 100 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
1284,818	1,69E-27	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 150 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
1332,923	1,04E-27	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 200 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
872,6842	2,94E-25	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 250 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
985,4	5,83E-26	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 300 µg L<sup>-1</sup></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
2405,784	3,8E-31	3,354131

Houve diferença significativa para todos os pontos das três curvas do clorofórmio, pois o “F” calculado foi maior que o “F” crítico e o valor “P” foi menor que 0,05. Esse valor indica um nível de confiança de 95%

Tabela 79 – Método ANOVA (fator único) entre as absorvâncias das três curvas para o padrão MIX.

<b>Anova: fator único – concentração 50 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
25,22093	6,64E-07	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 100 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
2,922078	0,070995	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 150 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
31,09901	9,85E-08	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 200 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
2,921053	0,071055	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 250 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
113,4	7,29E-14	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 300 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
295,1087	4,49E-19	3,354131
<b>Anova: fator único – concentração 350 <math>\mu\text{g L}^{-1}</math></b>		
<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
10,5	0,000423	3,354131

Exceto para os pontos de concentração 100 e 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ , houve diferença significativa para todos os pontos das três curvas do MIX, pois o “F” calculado foi maior que o “F” crítico e o valor “P” foi menor que 0,05. Esse valor indica um nível de confiança de 95%.

A grande maioria dos pontos das curvas dos dois padrões apresentou diferença significativa. Assim, para o estudo de homogeneidade, não foi verificado a equivalência nos resultados reportados.

### 6.3.12. Varredura do comprimento de onda

De acordo com Hach (2001), a varredura do comprimento de onda mostra para o operador em quais comprimentos de onda a luz é mais absorvida por uma solução. Vogel (2002) diz que o comprimento de onda em que a solução tem a maior absorvância é onde a

concentração será maior, ou seja, fornecerá maior sensibilidade, seguindo a lei de Beer ( $A = \epsilon bc$ ).

Foi realizada uma varredura do comprimento de onda no espectrofotômetro Nicolet Evolution 100™. Assim, mostrou-se que não havia pico em 515 nm, faixa em que se faz a leitura de trihalometanos, como mostrado na Figura 63. A Figura 64 confirma que havia presença de trihalometanos na amostra, onde foi realizada uma análise por cromatografia. Nela, são detectados todos os trihalometanos, que são, por ordem no tempo de retenção: clorofórmio (2,503 min), bromodiclorometano (3,735 min), dibromoclorometano (6,188 min) e bromofórmio (8,692 min).

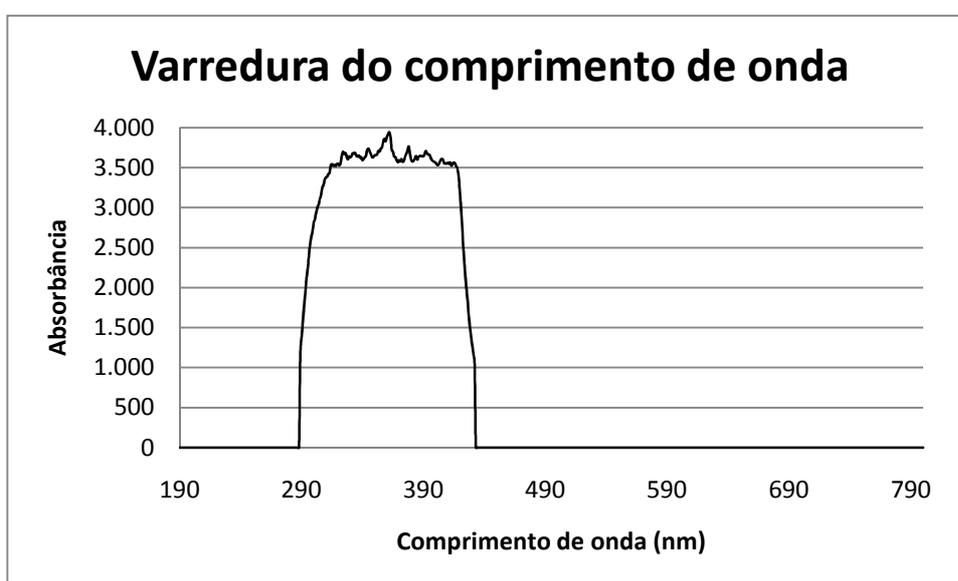


Figura 63 – Varredura do comprimento de onda com uma solução de trihalometanos.

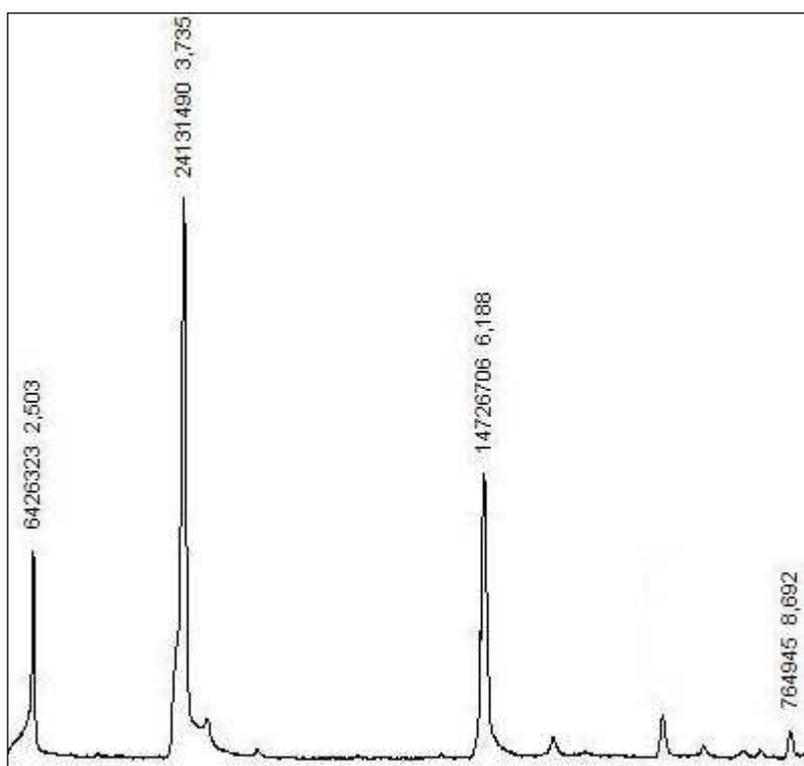


Figura 64 – Picos dos quatro trihalometanos na análise cromatográfica da amostra utilizada para o teste de varredura do comprimento de onda.

A sensibilidade do comprimento de onda 515 nm é baixa, havendo pouca absorção de luz pela amostra. Dessa forma, seria mais indicado trabalhar em outra faixa de comprimento de onda para onde a sensibilidade fosse maior e a absorbância tivesse uma maior relação linear com a concentração, como sugere a Lei de Beer. O  $\lambda$  máximo é 362 nm, onde ocorre a absorção máxima.

## 6.4. Avaliação

### 6.4.1. Seletividade

De acordo com as pesquisas de Hach (1999) e Lord (2004), o método espectrofotométrico sofre interferências positivas de outros subprodutos da desinfecção. De acordo com os resultados da adição de padrão, as concentrações de trihalometanos na água da torneira chegaram a níveis de 0,3 a 0,4 mg L<sup>-1</sup> de CHCl<sub>3</sub>, que são níveis elevados segundo a Portaria 518. A Portaria 518/2004/MS determina o valor limite de 0,1 mg L<sup>-1</sup> e, provavelmente, houve interferências de outros constituintes da amostra. Para ter a certeza

dessas interferências, é necessário comparar a amostra espectrofotométrica com os métodos oficiais de alguns subprodutos da desinfecção, como feito na pesquisa de Lord (2004).

#### 6.4.2. Linearidade

Sete pontos foram utilizados para cada padrão analisado, além do “branco”. As concentrações foram 50, 100, 150, 200, 250 e 350  $\mu\text{g L}^{-1}$  (em uma das curvas foi utilizado um ponto de concentração 320  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Tanto para o clorofórmio, quanto para a mistura de trihalometanos, apenas uma das seis curvas traçadas (três para cada padrão) obteve o  $R^2$  maior que 0,9900.

#### 6.4.3. Faixa de trabalho e faixa linear

A faixa de trabalho proposta pelo método espectrofotométrico é de 0 – 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  para uso de cubetas redondas de percurso óptico de 2,5 cm. Para a pesquisa, utilizou-se a faixa de trabalho de 0 – 350  $\mu\text{g L}^{-1}$ , devido ao método da adição de padrão que poderia extrapolar a região de trabalho e por causa da absorvância registrada pelo aparelho na concentração de 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ , que era a menor resposta (absorvância = 0,001). Em alguns casos, as absorvâncias do teste de adição de padrão chegavam a registrar valores acima do ponto de concentração de 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Porém, não foi constatado faixa linear, onde não havia exatidão nos ensaios de recuperação.

#### 6.4.4. Tendência/recuperação

Os fatores calculados variaram entre 57,50% a 243,34% para diferentes compostos e concentrações. Assim, o componente de erros aleatórios e sistemáticos (tendência) não foi desprezível e influenciou nos resultados. Além disso, os pontos a partir de 150  $\mu\text{g L}^{-1}$  não apresentavam exatidão, pois recuperações com absorvâncias mais baixas que determinados pontos apresentavam concentrações maiores, quando calculados com a equação da reta.

De acordo com as pesquisas de Santos (2005), os resultados obtidos demonstraram que as diferenças entre o valor obtido pelo método espectrofotométrico e o valor teórico variaram entre 363 % a mais e 35 % a menos, onde se utilizou clorofórmio como padrão. Concentrações entre 5,4 – 54,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  ficaram acima do resultados esperados, enquanto as concentrações de 71,9 a 98,9  $\mu\text{g L}^{-1}$  ficaram abaixo do resultados esperados.

Marmo (2005) realizou alguns testes com o método espectrofotométrico também e os resultados apresentados nas leituras das concentrações dos padrões de clorofórmio nas amostras e as detectadas no espectrofotômetro pelo método indicaram diferenças que variaram de + 400% a – 35%. Concentrações entre 5 – 54  $\mu\text{g L}^{-1}$  foram superiores aos valores obtidos pela diluição do clorofórmio, enquanto concentrações entre 72 – 198  $\mu\text{g L}^{-1}$  foram inferiores aos valores esperados pela diluição do clorofórmio.

#### 6.4.5. Precisão

Utilizando ensaios de repetitividade e precisão intermediária para avaliar a precisão, foi constatado que a maioria das amostras obteve coeficiente de variação menor ou igual a 5%. Na grande maioria dos testes, quando a amostra tinha baixa concentração, o aparelho (espectrofotômetro) apresentava um maior coeficiente de variação. Isso mostra que o erro da leitura é maior para baixas absorbâncias.

#### 6.4.6. Robustez

Foram aplicadas duas mudanças no procedimento analítico.

A primeira mudança foi na cubeta, onde foi utilizada uma de percurso óptico de 1,0 cm. Assim, o índice de correlação maior que 0,9900 foi atingido em somente uma curva.

A segunda mudança foi uma agitação forte após a adição do reagente 4, onde era feito de forma mais branda. Com essa alteração, o índice de correlação aumentou.

## 7. CONCLUSÕES

A partir dos parâmetros impostos pelo INMETRO, o método espectrofotométrico de trihalometanos não atendeu aos requisitos mínimos impostos e apresentou problemas de confiabilidade.

O método espectrofotométrico é suscetível a erros aleatórios, interferindo significativamente nos resultados.

Pela etapa da recuperação, não houve exatidão entre os pontos, havendo variação entre 57,50% a 243,34% nos pontos analisados na recuperação. A maioria dos pontos não esteve dentro da faixa aceitável, que é entre 80% – 120%.

Nos testes de repetitividade e precisão intermediária, a grande maioria dos pontos de cada padrão apresentou coeficiente de variação maior que 5%, mostrando que o método analítico é impreciso. Além disso, para amostras de baixas absorbâncias, o espectrofotômetro foi impreciso.

Na espectrofotometria, só houve linearidade aceitável ( $R^2 > 0,9900$ ) para apenas uma curva. Entretanto, a cromatografia gasosa (método normatizado) apresentou linearidade com valores aceitáveis. Dessa forma, quando os índices de correlação das curvas dos dois métodos são comparados, verifica-se que a cromatografia gasosa tem maior confiabilidade.

Após um teste de varredura do comprimento de onda, verificou-se que o comprimento de onda 515 nm não é a região mais sensível para o método espectrofotométrico de trihalometanos. O comprimento de onda 362 nm é a região de maior absorção, ou seja, corresponde ao  $\lambda$  máximo. Assim, como implementação de melhorias no método, deve-se trabalhar nessa região.

Algumas amostras da água da torneira apresentaram índices de trihalometanos reportados em clorofórmio bastante acima do especificado pela Portaria 518, o que leva a suspeitar da interferência de outros subprodutos da desinfecção na quantificação.

Não foi possível comprovar que outros subprodutos da desinfecção interferem positivamente nos resultados, pois, além da pouca disponibilidade de um cromatógrafo gasoso, o método espectrofotométrico apresentou muitos erros, tendo o teste ANOVA

encontrado diferença significativa entre os resultados das absorvâncias dos dois padrões utilizados em cada curva.

O método espectrofotométrico para determinação de trihalometanos se caracteriza por ser qualitativo para subprodutos da desinfecção.

O reagente 4 do método espectrofotométrico pode apresentar saches com menos reagente, devendo-se realizar uma pesagem antes da análise.

A mudança na agitação da cubeta no momento em que se adiciona o reagente 4 causou uma alteração no resultado final, caracterizando a falta de robustez do método analítico. Assim, recomenda-se que seja feita uma agitação forte na cubeta após a adição do reagente 4, implementando-se uma melhoria no método.

Foi realizado um teste ANOVA com cada ponto das três curvas para cada padrão e constatou-se uma diferença significativa para quase todos os pontos, onde não se constatou equivalência nos resultados constatados.

Recomenda-se que a extração líquido-líquido da análise de trihalometano por cromatografia gasosa seja realizada utilizando um agitador de tubos, pois consegue-se extrair o analito ao máximo da amostra e há maior probabilidade de se conseguir um índice de correlação maior que 0,9900 nas curvas, visto que a turbulência será praticamente a mesma para todos os tubos.

O procedimento de coleta proposto pela Apha (2005) – Método 6010B para trihalometanos consegue neutralizar uma alta concentração de cloro residual presente na água, garantindo a preservação da amostra .

## 8. RECOMENDAÇÕES

Elaborar curvas utilizando como padrões os trihalometanos separados (bromodiclorometano, dibromoclorometano, bromofórmio) para checar a formação de cor e quantificação de cada um desses compostos, visto que o padrão do método espectrofotométrico é o clorofórmio.

Elaborar curvas utilizando outros subprodutos da desinfecção (ácidos haloacéticos, por exemplo) como padrões, pois se suspeita de interferências da matriz da amostra.

Aplicar a mesma amostra da espectrofotometria na cromatografia gasosa, visto que é o método oficial de determinação de trihalometanos.

Realizar um ensaio interlaboratorial para estudar mais detalhadamente a precisão do método.

Realizar a análise do método espectrofotométrico em um comprimento de onda de 362 nm, onde ocorre o  $\lambda$  máximo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBANO, Filipe de Medeiros. RODRIGUEZ, Maria Teresa Raya. **Validação e garantia da qualidade de ensaios laboratoriais – guia prático**. 1ª ed., Porto Alegre – RS: Rede metrológica, 2009, 136 p.

ALI TOR, M. Emin Aydin. **Application of liquid-phase microextraction to the analysis of trihalomethanes in water**. *Analytica Chimica Acta* 575 (2006) 138–143.

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

ASSADI, Y. **Determination of Trihalomethanes in Drinking Water by Dispersive Liquid–Liquid Microextraction then Gas Chromatography with Electron-Capture Detection**. *Chromatographia* 2007, 66, July (No. 1/2)

BACCAN, Nivaldo *et al.* **Química analítica quantitativa elementar**. 3 ed., São Paulo – SP: Editora Edgard Blücher, 2001.

BAIRD, Colin. **Química Ambiental**. 2 ed., Porto Alegre – RS: Editora Bookman, 2002.

BORTOLOTI, João Alexandre; BRUNS, Roy Edward. **Consequencias da análise incorreta de experimentos bloqueados**. *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 2, 436-440, 2007.

BRASIL. **Portaria nº 518**, de 25 de março de 2004. Ministério da Saúde.

BUDZIAK, Dilma; CARASEK, Eduardo. **Determination of Trihalomethanes in Drinking Water from Three Different Water Sources in Florianopolis–Brazil using Purge and Trap and Gas Chromatography**. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 18, No. 4, 741-747, 2007.

CANCHO, B.; VENTURA, F. **Optimization of methods for the determination of DBPs**. *Global NEST Journal*, Vol 7, No 1, pp 72-94, 2005.

CHO, Deok-Hee; KONG, Sung-Ho; OH, Seong-Geun. **Analysis of trihalomethanes in drinking water using headspace-SPME technique with gas chromatography**. *Water Research* 37 (2003) 402–408.

CIENFUEGOS, Freddy. **Estatística aplicada ao laboratório**. Rio de Janeiro – RJ: Editora Interciência, 2005.

COLLINS, Carol H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, Pierina S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas – SP: Editora da UNICAMP, 2006, 453 p.

DANIEL, Luiz Antonio *et al.* **Métodos Alternativos de Desinfecção da Água**. PROSAB, São Carlos, SP, 2001.

DA SILVA, Cleiton M. *et al.* **Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities**. *Journal of Advanced Research*, 2010

DI BERNARDO, Luiz; DI BERNARDO, Angela Silva; CENTURIONE FILHO, Paulo Luiz. **Pré-oxidação com cloro, dióxido de cloro e ozônio, e uso de carvão ativado para remoção de substâncias húmicas de água de abastecimento.** 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, João Pessoa – PB, 2001.

EPA. **Method 551.1 - Determination of chlorination disinfection byproducts, chlorinated solvents, and halogenated pesticides/herbicides in drinking water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron-capture detection.** [S.I.]: United States Environmental Protection Agency, 1990.

**EPPENDORF. Instruction Manual – Eppendorf Research™.** Eppendorf AG, Hamburgo, 2007.

ESTEVES-SOUZA, Andressa *et al.* **Estudo experimental e teórico da redução de bases de Schiff derivadas da 3,3 - Difenilpropilamina.** Quim. Nova, Vol. 27, No. 1, 72-75, 2004.

FONSECA, Isabel M. A. **Erros experimentais – uma abordagem pedagógica 1 – Parte I.** Boletim da Sociedade Portuguesa de Química, N.º 95, Outubro – Dezembro 2004.

HACH. **Analytical procedures for DR/2010 instruments: THM Plus™ – trihalomethanes.** Loveland, Colorado: Hach Company World Headquarters, 1999. 14 p.

HACH. **Odyssey DR 2500 Spectrophotometer procedure manual.** Loveland, Colorado: Hach Company World Headquarters, 2001.

HACH LANGE. **Ficha de segurança de acordo com a regulação (UE) No. 1907/2006: THM Plus Reagent 1 Cat. No. 27539-29.** Hach, 2009a.

HACH LANGE. **Ficha de segurança de acordo com a regulação (UE) No. 1907/2006: THM Plus Reagent 2 Cat. No. 27540-48.** Hach, 2009b.

HACH LANGE. **Ficha de segurança de acordo com a regulação (UE) No. 1907/2006: THM Plus Reagent 3 Cat. No. 27541-42.** Hach, 2009c.

HACH LANGE. **Ficha de segurança de acordo com a regulação (UE) No. 1907/2006: THM Plus Reagent 4 Cat. No. 27566-99.** Hach, 2009d.

HARRIS, Daniel C. **Análise Química Quantitativa.** 7 ed., Rio de Janeiro – RJ: LTC, 2008, 868 p.

INMETRO. **Ensaio de proficiência para determinação de agrotóxicos em mamão – 1ª rodada.** Rio de Janeiro – RJ, 2006.

INMETRO. **DOQ-CGCRE-008: orientação sobre validação de métodos analíticos,** Rio de Janeiro – RJ: Coordenação Geral de Acreditação, 2010, 20 p.

LANÇAS, Fernando M. **Cromatografia líquida moderna.** Campinas – SP: Editora Átomo, 2009, 382 p.

LANÇAS, Fernando M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos – SP: Rima, 2004, 62 p.

LEITE, Flávio. **Validação em análise química**. 5 ed., Campinas – SP: Editora Átomo, 2008, 360 p.

LIANG, Lin; SINGER, Philip C. **Factors Influencing the Formation and Relative Distribution of Haloacetic Acids and Trihalomethanes in Drinking Water**. Environ. Sci. Technol. 2003, 37, 2920-2928.

LIBÂNIO, Marcelo. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 2. ed. Campinas: Átomo, 2008. 446 p.

LORD, T. **Determination of trihalomethanes (THMs), trihaloacetic acids (THAAs) and other disinfection by-products (DBPs) in drinking water**, Hach Co. Loveland, CO, USA, 2004.

MACEDO, J. A. B. *et al.* **Formação de trihalometanos em soluções sanificantes utilizadas no processo de desinfecção de indústrias de alimentação**. Revista do instituto de laticínios Cândido Tostes, V. 54, n. 309, jul/ago 1999, p. 216 – 230.

MARMO, Carlos Renato. **Formação e remoção de trihalometanos em águas de abastecimento tratadas, na pré-oxidação, com cloro livre**. (Dissertação de mestrado), Faculdade de engenharia civil, arquitetura e urbanismo, UNICAMP, 2005.

MEYER, Sheila T. **O Uso de Cloro na Desinfecção de Águas, a Formação de Trihalometanos e os Riscos Potenciais à Saúde Pública**. Cad. Saúde Públ., Rio de Janeiro, 10 (1): 99-110, jan/mar, 1994.

MILLER, J. C.; MILLER, J. N. **Statistics for analytical chemistry**. 2 ed. Chichester : Ellis Horwood Limited , 1988, 227 p.

NETO, Francisco Radler de Aquino; NUNES, Denise da Silva e Souza. **Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins**. Rio de Janeiro – RJ: editora Interciência, 2003, 187 p.

NIKOLAOU, Anastasia D. *et al.* **Application of different analytical methods for determination of volatile chlorination by-products in drinking water**. Talanta, v. 56, p. 717–726, 2002.

PASCHOALATO, Cristina Filomena Pereira Rosa *et al.* **Avaliação do dióxido de cloro como pré-oxidante alternativo ao cloro aplicado em água contendo substâncias húmicas**. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Campo Grande – MS, 2005.

PASCHOALATO, Cristina Filomena Pereira Rosa *et al.* **Pré-oxidação com cloro ou permanganato de potássio, coagulação e filtração de água contendo substâncias húmicas e comparação dos subprodutos formados com pós-cloração**. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Campo Grande – MS, 2005.

PAVÓN, José Luís Pérez *et al.* **Determination of trihalomethanes in water samples: A review.** *Analytica Chimica Acta*, v. 629, p. 6 - 23, set, 2008.

PEDERSEN-BJERGAARD, Stig; RASMUSSEN, Knut Einar. **Electrical potential can drive liquid-liquid extraction for sample preparation in chromatography.** *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 27, No. 10, 2008.

PIVELI, Roque Passos ; KATO, Mário Takayuki. . **Qualidade das Águas e Poluição: Aspectos Físico-Químicos.** 1. ed. São Paulo: ABES, 2005. v. 1. 285 p.

QUEIROZ, Sonia C. N.; COLLINS, Carol H.; JARDIM, Isabel C. S. F. **Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica.** *Quim. Nova*, Vol. 24, No. 1, 68-76, 2001.

REITH, J. F.; DITMARSCH, Miss W. C. van; RUITER, Th de. **An Improved Procedure for Application of the Fujiwara Reaction in the Determination of Organic Halides.** *Analyst*, October, 1974, Vol. 99, pp. 652-656

RIBANI, Marcelo *et al.* **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.** *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 5, 771-780, 2004.

RICHTER, Carlos A. **Água: métodos e tecnologia de tratamento.** São Paulo – SP: Editora Blucher, 2009.

RICHTER, Carlos A.; AZEVEDO NETTO; José M. de. **Tratamento de água – tecnologia atualizada.** São Paulo – SP: Editora Blucher, 1991, 332 p.

RIZZO *et al.* **Formation of chlorinated organics in drinking water of Istanbul (Turkey) and Salerno (Italy).** *Global NEST Journal*, Vol 7, No 1, pp 95-105, 2005.

SANTOS, Bruno Vicente de Azevedo Pereira dos. **Formação e remoção de trihalometanos em águas de abastecimento utilizando permanganato de potássio e carvão ativado em pó.** (Dissertação de mestrado), Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, UNICAMP, 2005, 193 p.

SILVA, Salomão Anselmo; OLIVEIRA, Rui. **Manual de análises físico-químicas de águas de abastecimento e residuárias.** Campina Grande – PB, UFPB, 2001, 266 p.

SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; NIEMAN, Timothy A. **Princípios de Análise Instrumental.** 5 ed., Porto Alegre – RS: Editora Bookman, 2002, 836 p.

SKOOG, Douglas A. *et al.* **Fundamentos de química analítica.** 1 ed., Thomson Pioneira, 2005, 1124 p.

SOARES, Lúcia Valente. **Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos.** Barueri – SP: Manole, 2006, 337 p.

SORLINI, Sabrina; COLLIVIGNARELLI, Carlo. **Trihalomethane formation during chemical oxidation with chlorine, chlorine dioxide and ozone of ten Italian natural waters.** Desalination 176 (2005) 103-111.

SOUZA *et al.* **Toxicologia dos trihalometanos formados em águas de abastecimento.** VI Semana de estudos da engenharia ambiental, Campus Irati, 02 – 05 de junho 2008.

TOMINAGA, Maria Yumiko; MÍDIO, Antônio Flávio. **Comparison of two validated gas-chromatographic methods for the determination of trihalomethanes in drinking water.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol. 39, n. 2, abr./jun., 2003.

VOGEL, Arthur Israel. **Análise química quantitativa.** 6ª ed., Rio de Janeiro - RJ: LTC, 2002.

WIECHETECK, Giovana Kátie *et al.* **Pré-oxidação com cloro, dióxido de cloro e ozônio e dupla filtração na remoção de substâncias húmicas e formação de subprodutos.** 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Campo Grande – MS, 2005.

ZHAO, Ru-song; LAO, Wen-jian; XU, Xiao-bai. **Headspace liquid-phase microextraction of trihalomethanes in drinking water and their gas chromatographic determination.** R.-s. Zhao *et al.* / Talanta 62 (2004) 751–756.

## APÊNDICE

## Apêndice A – Cromatograma.

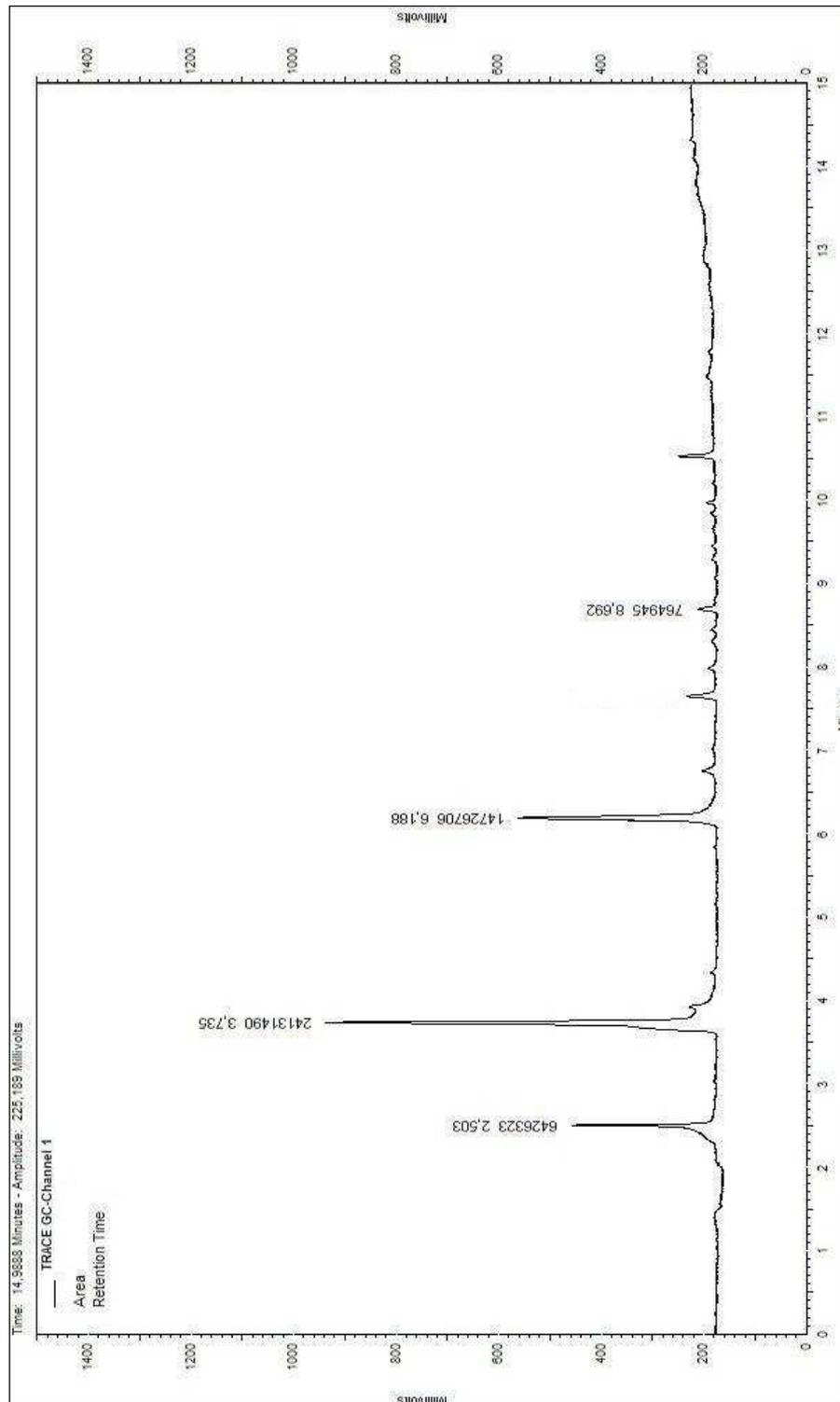


Figura 65 – Cromatograma da amostra utilizada para o teste de varredura do comprimento de onda.

## ANEXOS

**Anexo A – Análise de cloro residual total** (SILVA; OLIVEIRA, 2001).

### Preparação de reagentes

a) Solução tampão de fosfato: dissolver 24 g de fosfato dibásico de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) e 46 g de fosfato monobásico de potássio anidro ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) em água destilada. Adicionar 800 mg de etilenodiaminatetracetato de sódio (EDTA) dihidratado dissolvidos em 100 mL de água destilada e diluir para 1.000 mL em água destilada. Adicionar 20 mg de  $\text{HgCl}_2$  como preservativo contra deterioração e para prevenir a interferência de iodeto.

b) Solução indicadora de DPD: dissolver 1 g de oxalato de N,N-dietil-p-fenilenediamina [ $\text{NH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2(\text{COOH})_2$ ] ou 1,1 g de sulfato de DPD anidro ou 1,5 g do sulfato de DPD pentahidratado em água destilada livre de cloro contendo 8 mL de solução 1 + 3 de ácido sulfúrico e 200 mg de EDTA de sódio dihidratado. Completar o volume para 1.000 mL com água destilada livre de cloro e manter em frasco âmbar, no escuro, até a absorvância da solução, a 515 nm, superar 0,002/cm quando a mesma deverá ser descartada.

c) Solução padrão de sulfato ferroso amoniacal (SFA) 0,00282 N: dissolver 1,106 g de sulfato ferroso amoniacal hexahidratado [ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ] em água destilada contendo 1 mL de ácido sulfúrico 1 + 3 e completar para 1.000 mL com água destilada fervida e resfriada. **Padronizar**: sempre antes de usar, usando uma solução do padrão primário de dicromato de potássio 0,100 N ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), em meio ácido, de acordo com o seguinte procedimento:

- Adicionar 10 mL de solução 1 + 5 de ácido sulfúrico, 5 mL de ácido fosfórico concentrado ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) e 2 mL da solução indicadora de difenilsulfonato de bário (0,1%) a 100 mL da solução de sulfato ferroso amoniacal. Titular com 0,100 N de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  até o aparecimento de coloração violeta a qual persiste por 30 segundos. Determinar a normalidade da solução de sulfato ferroso amoniacal através do princípio da equivalência. Cada mililitro desta solução titulante é equivalente a uma massa de 100  $\mu\text{g}$  de  $\text{Cl}_2$ .

### Procedimento analítico

a) Colocar 5 mL de solução tampão e 5 mL de solução indicadora de DPD (ou 500 mg de DPD em pó) num frasco erlenmeyer de 200 mL e misturar.

b) Adicionar 100 mL da amostra e misturar.

c) Titular rapidamente com a solução de sulfato ferroso amoniacal até que a coloração vermelha desapareça.

### Cálculo

$$\text{Cloro (mg Cl}_2\text{/L)} = \frac{35453 \times N_{\text{SFA}} \times \text{Leitura (mL)}}{V_A} \quad \text{Equação (16)}$$

Onde:

$N_{\text{SFA}}$  = Normalidade da solução de sulfato ferroso amoniacal (N);

$V_A$  = Volume de amostra (mL).