



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA
HIDRÁULICA E AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL**

ÍTALO LIMA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE METODOLOGIAS PARA ANÁLISE
DE DIÓXIDO DE CLORO**

**FORTALEZA – CE
2011**

ÍTALO LIMA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE METODOLOGIAS PARA ANÁLISE
DE DIÓXIDO DE CLORO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Engenharia Civil.

Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. José Capelo Neto

**FORTALEZA
2011**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Pós-Graduação em Engenharia - BPGE

S235a Santos, Ítalo Lima dos.

Avaliação comparativa de metodologias para análise de dióxido de cloro / Ítalo Lima dos Santos. – 2011.

83 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Fortaleza, 2011.

Área de Concentração: Saneamento Ambiental

Orientação: Prof. Dr. José Capelo Neto.

1. Saneamento. 2. Água - Purificação. 3. Dióxido de cloro. I. Título.

ÍTALO LIMA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE METODOLOGIAS PARA ANÁLISE
DE DIÓXIDO DE CLORO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Capelo Neto
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Rita Mickaela Barros de Andrade
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará

Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento
Universidade Federal do Ceará

Dedico esse trabalho à minha mãe,
Cacilda, a quem devo todo o incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde e pela oportunidade de fazer o Mestrado na área de Saneamento Ambiental.

Aos meus pais, Claudino e Cacilda, por sempre terem se comprometido com a minha formação.

A minha esposa, Tarciclê Pontes, uma grande companheira a qual devo muita luz na minha vida.

Aos meus avôs, pela ajuda nos momentos necessários.

Às minhas irmãs, Arisa e Aline, por compartilharem comigo as histórias que só vivemos em família.

Ao meu orientador, professor Capelo, pela experiência trocada e pelos ensinamentos dados na hora certa.

Aos amigos de curso, companheiros de equipe do Mestrado: Vítor Cochrane, Rafael, Vítor e Fernando.

Ao professor Ronaldo, pelas aulas nas quais aprendemos muito.

Ao CNPQ, pelo investimento necessário na nossa formação acadêmica;

À CAGECE, pelo apoio financeiro à pesquisa juntamente com a equipe da ETA Gavião.

Só os mais fortes sobrevivem.

RESUMO

Considerando que no Brasil o uso de dióxido de cloro no tratamento de água é ainda pouco adotado em função tanto de seu alto custo quanto da dificuldade de sua quantificação, pretendemos comparar três metodologias usadas para quantificar esse produto. Escolhemos a metodologia LGB (Lissamine Green B) e a comparamos com a metodologia EPA 327.0 ((Environmental Protection Agency) e a Titulação Amperométrica (referenciadas), ambas analisadas sob a mesma diluição. Isso posto, visamos também comparar os efeitos da variação da diluição especificamente na metodologia Titulação Amperométrica. Para a metodologia de análise, utilizamos o teste F, para analisar a precisão; o teste de ponto de Hipótese, para analisar a exatidão entre as metodologias e a possível existência de tendência entre elas; o teste T, para analisar a existência de erros sistemáticos entre as metodologias; o teste ANOVA *one-way*, para determinar os efeitos de diluição na Titulação Amperométrica. A comparação realizada nos permite concluir que a metodologia LGB não apresentou variância de repetibilidade e precisão intermediária pior que a apresentada na metodologia EPA 327.0 e na metodologia Titulação Amperométrica no nível de confiança de 95%, apesar da dispersão em relação à média e à mediana.

Palavras-chave: dióxido de cloro; metodologia LGB; metodologia EPA 327.0; titulação amperométrica.

ABSTRACT

Considering that in Brazil the use of chlorine dioxide in water treatment is still not adopted due to both its high cost and difficulty of its quantification, we intend to compare three methods used to quantify this product. We chose the methodology LGB (not referenced) and compared with the EPA method 327.0 (Environmental Protection Agency ()) and amperometric titration (referenced), both analyzed under the same dilution. With that in mind, we aim to also compare the effects of varying the dilution specifically the methodology amperometric titration. for the analysis methodology, we use the F test to determine the accuracy, the test point hypothesis, to determine the accuracy of the methodologies and the possible existence of a tendency among them, the t test to analyze the existence of systematic errors among methods, the one-way ANOVA test to analyze the effects of dilution in the amperometric titration. The comparison allowed us to conclude that the methodology did not provide LGB variance of repeatability and intermediate precision worse than the one presented in the methodology EPA method 327.0 and the amperometric titration level of 95%, despite the dispersion from the mean and median.

Keywords: chlorine dioxide; LGB methodology, EPA method 327.0; amperometric titration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 1 | Titulador Amperométrico Hach Autocat 9000..... | 20 |
| FIGURA 2 | Perfil do gráfico da titulação amperométrica com tiosulfato de sódio..... | 21 |
| FIGURA 3 | Perfil do gráfico da titulação amperométrica com óxido de fenilarsina..... | 21 |
| FIGURA 4 | Interface do titulador amperométrico..... | 22 |
| FIGURA 5 | Curva de calibração do método EPA 327.0..... | 23 |
| FIGURA 6 | Estrutura do LGB..... | 24 |
| FIGURA 7 | Curva de calibração do método LGB..... | 25 |
| FIGURA 8 | Esquema do gerador de dióxido de cloro em laboratório..... | 27 |
| FIGURA 9 | Aparato experimental para geração de dióxido de cloro..... | 27 |
| FIGURA 10 | Titulação Amperométrica..... | 28 |
| FIGURA 11 | Coloração da amostra no ponto final de cada titulação..... | 29 |
| FIGURA 12 | Fluxograma da metodologia experimental..... | 30 |
| FIGURA 13 | Varição da concentração de dióxido de cloro do experimento 1..... | 39 |
| FIGURA 14 | Varição da concentração de dióxido de cloro do experimento 2..... | 41 |
| FIGURA 15 | Varição da concentração de dióxido de cloro do experimento 3..... | 42 |
| FIGURA 16 | Gráfico de correlação entre os métodos EPA 327.0 e LGB..... | 48 |
| FIGURA 17 | Varição da concentração de dióxido de cloro do experimento 7..... | 49 |
| FIGURA 18 | Varição da concentração de dióxido de cloro do experimento 8..... | 51 |
| FIGURA 19 | Varição da concentração de dióxido de cloro do experimento 9..... | 52 |
| FIGURA 20 | Varição da concentração de dióxido de cloro do experimento 10..... | 53 |
| FIGURA 21 | Varição da concentração de dióxido de cloro do experimento 11..... | 55 |
| FIGURA 22 | Varição da concentração de dióxido de cloro do experimento 12..... | 56 |
| FIGURA 23 | Varição da concentração de dióxido de cloro no experimento 13..... | 62 |
| FIGURA 24 | Gráfico genérico de Titulação amperométrica..... | 63 |
| FIGURA 25 | Varição da concentração de dióxido de cloro no experimento 14..... | 65 |
| FIGURA 26 | Varição da concentração de dióxido de cloro no experimento 15..... | 66 |
| FIGURA 27 | Varição da concentração de dióxido de cloro no experimento 16..... | 67 |

LISTA DE QUADRO E TABELAS

| | | |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| QUADRO 1 | Formas de geração de dióxido de cloro..... | 15 |
| TABELA 1 | Resultados comparativos entre a metodologia 327.0 e LGB (experimento 1) . | 39 |
| TABELA 2 | Resultados comparativos entre a metodologia 327.0 e LGB (experimento 2) . | 40 |
| TABELA 3 | Resultados comparativos entre a metodologia 327.0 e LGB (experimento 3) . | 42 |
| TABELA 4 | Resultados comparativos entre as médias dos experimentos EPA 327.0 x LGB..... | 43 |
| TABELA 5 | Resultados comparativos entre os desvios padrões dos experimentos e EPA 327.0 x LGB..... | 43 |
| TABELA 6 | Resultados comparativos entre os coeficientes de variação dos experimentos EPA 327.0 x LGB..... | 44 |
| TABELA 7 | Resultados comparativos do Teste F entre a metodologia 327.0 e LGB | 45 |
| TABELA 8 | Resultados comparativos do Teste F entre a metodologia 327.0 e LGB | 45 |
| TABELA 9 | Resultados comparativos do Teste T entre a metodologia 327.0 e LGB | 45 |
| TABELA 10 | Resultados comparativos do teste de ponto de Hipótese..... | 46 |
| TABELA 11 | Resultados da recuperação do experimento 4 entre EPA 327.0 e LGB | 47 |
| TABELA 12 | Resultados da recuperação do experimento 5 entre EPA 327.0 e LGB | 47 |
| TABELA 13 | Resultados da recuperação do experimento 6 entre EPA 327.0 e LGB | 47 |
| TABELA 14 | Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (experimento 7) | 49 |
| TABELA 15 | Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (experimento 8) | 50 |
| TABELA 16 | Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (experimento 9) | 51 |
| TABELA 17 | Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (experimento 10) | 53 |
| TABELA 18 | Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (experimento 11) | 54 |
| TABELA 19 | Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (experimento 12) | 56 |
| TABELA 20 | Resultados comparativos entre as médias da comparação entre Titulação Amperométrica e metodologia LGB | 57 |
| TABELA 21 | Resultados comparativos entre aos desvios padrões da comparação entre Titulação Amperométrica e metodologia LGB | 57 |

| | | |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 22 | Resultados do Teste F dos dados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB..... | 59 |
| TABELA 23 | Resultados do Teste F (variância e precisão intermediárias) dos dados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB..... | 59 |
| TABELA 24 | Resultados do Teste T dos dados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB..... | 60 |
| TABELA 25 | Resultados do Teste do ponto de Hipótese dos dados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB..... | 60 |
| TABELA 26 | Dados comparativos entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica (experimento 13)..... | 62 |
| TABELA 27 | Dados comparativos entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica (experimento 14)..... | 64 |
| TABELA 28 | Dados comparativos entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica (experimento 15)..... | 66 |
| TABELA 29 | Dados comparativos entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica (experimento 16)..... | 67 |
| TABELA 30 | Dados comparativos entre as médias dos fatores de diluição para Titulação Amperométrica..... | 68 |
| TABELA 31 | Dados comparativos entre desvios padrões dos fatores de diluição para a Titulação Amperométrica..... | 69 |
| TABELA 32 | Coefficientes de variação entre os fatores de diluição da Titulação Amperométrica..... | 69 |
| TABELA 33 | Dados comparativos de teste ANOVA fator único entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica..... | 70 |

SUMÁRIO

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 2. OBJETIVOS | 13 |
| 2.1. Objetivo geral | 13 |
| 2.2. Objetivos específicos..... | 13 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 14 |
| 3.1. Formas de geração de dióxido de cloro..... | 14 |
| 3.2. Aplicação do dióxido de cloro no tratamento de água e subprodutos de desinfecção | 15 |
| 3.3. Técnicas para análise de dióxido de cloro | 18 |
| 3.4. Titulação amperométrica | 19 |
| 3.5. Método EPA 327.0..... | 22 |
| 3.6. Método LGB | 23 |
| 4. METODOLOGIA | 26 |
| 4.1. Materiais e reagentes | 26 |
| 4.2. Geração da solução padrão de dióxido de cloro | 27 |
| 4.3. Procedimentos experimentais | 28 |
| 4.4. Preparação e padronização de soluções | 31 |
| 4.4.1. Método iodométrico | 31 |
| 4.4.2. Soluções do método LGB | 31 |
| 4.4.3. Preparação das soluções Método 327.0 | 31 |
| 4.4.4. Titulação amperométrica | 32 |
| 4.4.5. Procedimento do Método LGB | 33 |
| 4.4.6 - Procedimento do método EPA 327.0 | 34 |
| 5. CÁLCULOS ESTATÍSTICOS | 35 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 38 |
| 6.1. Comparação entre as metodologias LGB e Método EPA 327.0 | 38 |
| 6.2. Utilização dos testes de significância para os métodos EPA 327.0 e metodologia LGB | 44 |
| 6.3. Comparação entre as recuperações dos métodos EPA 327.0 e LGB | 46 |
| 6.4. Comparação entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB | 48 |
| 6.5. Uso de testes de significância na comparação entre a Titulação Amperométrica e a Metodologia LGB | 58 |
| 6.6. Comparação entre os fatores de diluição utilizando Titulação Amperométrica | 61 |
| 6.7. Utilização do teste ANOVA <i>One-Way</i> para os fatores de diluição | 70 |
| 7. CONCLUSÕES | 72 |
| 8. RECOMENDAÇÕES | 74 |
| 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 75 |

1 – INTRODUÇÃO

O dióxido de cloro foi descoberto em 1811 por Sir Humphrey Davy. No entanto, o seu uso em tratamento de água se deu muito depois, já no século XX, na Cidade Ostende, na Bélgica. A partir daí, muito utilizado por suas propriedades similares ao cloro, o dióxido de cloro encontrou espaço em várias estações de tratamento de água especialmente na Europa e nos Estados Unidos. Por exemplo, na França, ele é utilizado no tratamento de água em associação com o ozônio e o cloro, isso significa dizer que primeiro o dióxido de cloro é aplicado na água antes de ser tratada, depois se aplicam ozônio e cloro.

No Brasil, o dióxido de cloro não pode ser utilizado sozinho, pois existe a Portaria 518/05 do Ministério da Saúde segundo a qual deve haver um nível mínimo de cloro na água para garantir a inexistência de microorganismo patogênico na água a ser consumida.

Medidas dessa natureza levaram a necessidade de se desenvolverem técnicas analíticas adequadas para análises de dióxido de cloro, principalmente em laboratórios de análise de processos e controle de qualidade. Nessas práticas, certamente são formuladas muitas metodologias com características bastante peculiares. Como uma metodologia, para ser considerada confiável, deve ser objeto de uma análise acurada de um determinado composto e precisa ser bastante específica para determinar a concentração da espécie de interesse, consideramos relevante contribuir com a realização de estudos que visam comprovar o quanto algumas metodologias de quantificação de dióxido de cloro são adequadas e sob que condições elas devem ser empregadas.

A adequação de que falamos pode ser constatada através de análises que são normalmente submetidas a protocolos de validação analítica, como, por exemplo, já ocorreu com as metodologias EPA 327.0 e Titulação Amperométrica, em que se utilizam determinadas ferramentas estatísticas para checar a qualidade dos dados obtidos e o nível de confiança dos resultados apresentados. Nessa etapa do trabalho, o papel principal do analista é definir procedimentos experimentais com os quais se possam apresentar as respostas para os questionamentos quanto à confiabilidade de cada metodologia e como cada uma delas pode ser executada em um nível admissível de operação e eficiência.

Tendo isso em mente, apresentamos a seguir os objetivos da presente pesquisa.

2 – OBJETIVOS

2.1 - Geral

- Comparar as metodologias analíticas para quantificação de dióxido de cloro em função da precisão e exatidão.

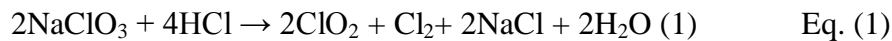
2.2 - Objetivos Específicos

- Estabelecer relação entre as metodologias referenciadas, EPA 327.0 e Titulação Amperométrica e a metodologia LGB (Lissamine Green B);
- Avaliar o procedimento analítico LGB para análises em laboratório de controle de qualidade em ETA's;
- Analisar a viabilidade de implementação da metodologia EPA 327.0, segundo suas vantagens e desvantagens;
- Analisar a metodologia da Titulação Amperométrica, segundo suas vantagens e desvantagens;
- Comparar os efeitos da variação da diluição na metodologia Titulação Amperométrica.

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - Formas de geração de dióxido de cloro

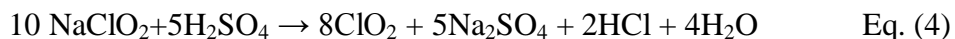
A síntese em escala industrial do dióxido de cloro iniciou-se no século XX com a reação entre clorato de sódio e ácido clorídrico, rota esta ainda utilizada por alguns processos patenteados, possuindo como um dos subprodutos da reação o cloro e o cloreto de sódio conforme se observa na equação 1 (Gates, 1998).



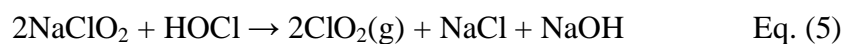
Este processo possui como inconveniente rendimento que não alcança valor muito acima de 80% já que parte do clorato não reage e é introduzido na água tratada. Assim, essa substância, mesmo diluída em solução, comprometeria a qualidade da água para o abastecimento. Outra tecnologia de produção, essa uma rota sintética patenteada, utiliza uma mistura oxidante em excesso de peróxido de hidrogênio e ácido sulfúrico para reagir com o clorato de sódio conforme a equação 2 (EPA,1999):



Uma vantagem dessa reação é que não há formação de cloro nem cloreto de sódio como subproduto. Outro processo utiliza a acidificação do clorito de sódio aquoso com ácido sulfúrico. Esta reação foi uma das primeiras a ser utilizada em escala industrial para produção de dióxido de cloro conforme as equações 3 e 4:



Uma rota sintética industrial é a reação do clorito de sódio aquoso com hipoclorito de sódio. Uma desvantagem dessa rota é que há produção de cloreto de sódio e hidróxido de sódio que altera o pH do meio que pode favorecer reações paralelas contribuindo para formação de subprodutos como íons clorito e íons clorato (equação 5).



O Quadro 1 apresenta algumas rotas comerciais de síntese de dióxido de cloro incluindo características de cada rota.

Quadro 1: Formas de geração de dióxido de cloro

| Tipo de gerador | Reação | Características |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ácido - clorito | $5\text{NaClO}_2 + 4\text{HCl} \rightarrow 4\text{ClO}_2(\text{g}) + 5\text{NaCl} + 2\text{H}_2\text{O}$ | <ul style="list-style-type: none"> • Rendimento em torno de 80% |
| Cloro aquoso - clorito | $[\text{HOCl}/\text{Cl}_2] + \text{NaClO}_2 \rightarrow \text{ClO}_2(\text{g}) + \text{H}/\text{OCl}^- + \text{NaOH} + \text{ClO}_3^-$ | <ul style="list-style-type: none"> • Excesso de cloro para neutralizar o NaOH • Alta conversão, mas rendimento de somente de 80-92% • Efluente mais corrosivo devido ao baixo pH |
| Cloro gasoso - clorito | $\text{Cl}_2(\text{g}) + \text{NaClO}_2(\text{aq}) \rightarrow \text{ClO}_2(\text{aq})$ | <ul style="list-style-type: none"> • Sem excesso de cloro • Efluente com pH perto da neutralidade |
| Cloro gasoso – clorito sólido | $\text{Cl}_2(\text{g}) + \text{NaClO}_2(\text{s}) \rightarrow \text{ClO}_2(\text{g}) + \text{NaCl}$ | <ul style="list-style-type: none"> • Rendimento elevado (99%) |
| Eletroquímico | $\text{NaClO}_2(\text{aq}) \rightarrow \text{ClO}_2(\text{aq}) + \text{e}^-$ | <ul style="list-style-type: none"> • Baixa produção |
| Ácido – peróxido - clorato | $2\text{NaClO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow 2\text{ClO}_2 + \text{O}_2 + \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}$ | <ul style="list-style-type: none"> • Utiliza excesso de peróxido e ácido • Baixo pH |

Fonte: Adaptado de Gates (1998)

3.2 - Aplicações do dióxido de cloro no tratamento de água e subprodutos da desinfecção

As aplicações do dióxido de cloro não se restringem somente a desinfecção. A desinfecção é uma das principais aplicações deste composto. Devido ao seu alto poder oxidante e germicida é capaz de destruir oocistos de várias espécies e até mesmo alguns tipos

de vírus presente na água (CHAURET, 2001). Vários estudos mostram que dentre os principais desinfetantes, comumente utilizados em tratamento de água, o dióxido de cloro apresenta larga vantagem pela total eliminação de cianotoxinas, bem como microcistinas, substâncias bastante comum em águas eutrofizadas (RODRÍGUEZ, 2007).

Entretanto, dependendo do momento em que haja sua aplicação no tratamento de água pode agir também como um auxiliar na coagulação visto que pode contribuir para desestabilizar as partículas por um mecanismo ainda não completamente conhecido. Esta contribuição para a eficiência da coagulação pode estar relacionada ao fato que o dióxido de cloro modifica a estrutura de substâncias orgânicas complexas fazendo com que se torne mais fácil de se ligarem a compostos de Al (III) e Fe (III) na coagulação (LIBÂNIO, 2008).

Uma utilização fundamental do dióxido de cloro é no controle de odor e sabores causado por compostos fenólicos presentes na água. Estes produtos podem ser derivados da reação do cloro com fenol ou até mesmo outros compostos fenólicos quando o cloro é utilizado na oxidação (AGUS, 2009).

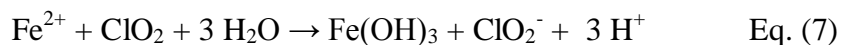
Um aspecto bastante peculiar é a utilização do dióxido de cloro como oxidante químico para controle de ferro e manganês em águas para abastecimento. A presença destas espécies compromete em muito o sabor e o aspecto visual da água a ser distribuída sendo muitas vezes necessária a utilização de um oxidante para remoção desses metais. O dióxido de cloro reage quantitativamente com estas duas espécies. No caso do ferro (II) existem duas possibilidades (WHITE, 2010):

1) Redução do dióxido de cloro a cloreto e formação do hidróxido de ferro:



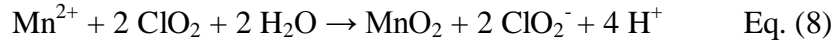
Nesta reação 0,24 mg de ClO_2 são necessários para oxidar 1 mg de Fe^{2+} .

2) Redução do dióxido de cloro a clorito e formação do hidróxido de ferro :



Um dos principais inconvenientes na utilização de sais de ferro (II), é que dependendo da quantidade de dióxido de cloro aplicado, há a formação de bastante clorito sendo necessário a aplicação de altas doses de sais de ferro, fato que compromete a qualidade da água, dependendo do pH da aplicação (KATZ, 2001).

Nesta reação (reação 2) 1,2 mg de ClO₂ são requeridos para oxidar 1 mg de Fe²⁺. Caso do manganês é mais simples, pois só existe uma reação conhecida da oxidação deste elemento por dióxido de cloro:

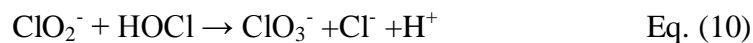


O dióxido de cloro possui a vantagem de ser um produto que não deixa resíduo de cloro depois de solubilizado, se transforma majoritariamente em clorito, algo em torno de 70%:

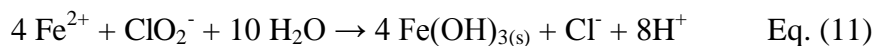


Essa reação é responsável pela presença de boa parte do clorito presente em águas para abastecimento. A portaria 518/2004 do Ministério da Saúde define um nível máximo de clorito de 0,2 ppm, é bem mais restritiva que a norma da EPA que é de 1 ppm. Por essa razão, esse subproduto é tão estudado e seus efeitos agudos ou até mesmo de longa exposição estão ligados a doenças como anemia hemolítica (WHO,2005). Não existem estudos conclusivos sobre seus efeitos agudos ou de longa exposição por ingestão de água contendo íons clorato em seres humanos.

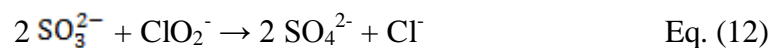
No entanto, há indícios de que altas doses de clorito e clorato possam causar alterações genéticas no DNA de outras espécies como plantas e fungos, comprometendo assim o seu desenvolvimento (FERRETI, 2008). Podem ser formados por reações paralelas que ocorrem em geradores comerciais ou até mesmo por oxidação do clorito em solução. Podendo também haver formação de sub-produtos devido a alterações no pH do meio, fazendo com que haja formação de clorato em maior escala (ODEH, 2002):



Atualmente existem mecanismos para diminuição da concentração de subprodutos da desinfecção com dióxido de cloro, como por exemplo, sais de ferro, sulfito ou carvão ativado que por adsorção, são capazes de diminuir a presença destas espécies. Na utilização de sais de ferros, o ferro estando na forma reduzida, temos a seguinte equação:



Na utilização de sulfito, o clorito é reduzido a cloreto, sendo esta reação mais eficiente a pH entre 5 e 6,5, sendo um detalhe importante o tempo de reação, segundo a equação (White, 2010):



Outra problemática envolvendo os sub-produtos é quanto a sua quantificação. A única metodologia normatizada atualmente utiliza a cromatografia iônica com supressor de

íons (EPA, 1999). Esta técnica é bastante cara por conta da cromatógrafo, treinamento especializado e manutenção do equipamento. Técnicas vêm sendo desenvolvidas que utilizam outros princípios, mais simples e que tornam bem menos dispendiosos os gastos com a quantificação destes sub-produtos, podendo ser aplicada em estações de tratamento de água (HOSSEINI, 2009).

3.3 - Técnicas para análise de dióxido de cloro

As metodologias desenvolvidas para análise envolvem várias técnicas analíticas tais como espectrofotometria, cromatografia, análise por injeção em fluxo e métodos eletroanalíticos. As técnicas espectrofotométricas são as mais comuns, pois utilizam geralmente um corante ou reagente que se extingue por oxidação na presença do dióxido de cloro em solução (THEMELIS, 2006). Esta reação nem sempre é específica, podendo cada metodologia ter suas limitações quanto aos interferentes comumente presentes em soluções de dióxido de cloro. Uma das principais vantagens desse tipo de técnica é o baixo custo da análise (TZANAVARAS, 2007).

As técnicas cromatográficas, sejam elas de cromatografia líquida ou gasosa, tornam-se mais caras pela própria aquisição e manutenção do aparelho bem como pelo nível de instrução técnica exigido para o analista. Uma vantagem fundamental nesse tipo de metodologia é a sensibilidade inerente a boa parte dos métodos cromatográficos. Boa parte dos métodos publicados atende também o quesito seletividade, ponto fundamental em qualquer técnica analítica (SHIN, 2006). Vale ressaltar que nenhuma metodologia de análise cromatográfica para dióxido de cloro foi até hoje adotada como norma que, hoje em dia, conta com apenas a titulação amperométrica (APHA, 2002).

A titulação amperométrica é um método eletroanalítico que utiliza um equipamento de custo razoável podendo ser totalmente automático ou não. Um bom método para ser utilizado tem de possuir alguns quesitos fundamentais tais como: seletividade, boa sensibilidade, linearidade e baixo nível de interferentes, além do custo de implementação e manutenção ser também um outro fator a ser analisado.

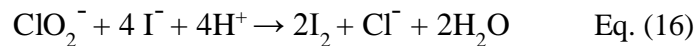
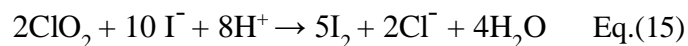
Certamente uma técnica que possa preencher perfeitamente estes pontos ainda não está disponível no mercado, restando ao analista definir, que metodologia utilizar em função de suas necessidades, sejam elas em laboratórios de processo ou de controle de qualidade (Taverniers, 2004).

3.4 - Titulação amperométrica

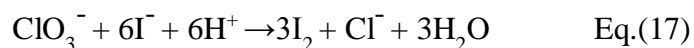
A titulação amperométrica é uma metodologia para análise de dióxido de cloro que foi desenvolvida por Aieta *et al.* em 1984 para a medida da concentração de espécies cloradas em solução. Esta técnica utiliza óxido de fenilarsina (C_6H_5AsO) ou tiosulfato de sódio ($Na_2S_2O_3$) como titulante em uma série de titulações nas quais se adicionam íons iodeto e se varia o pH do meio de acordo com cada etapa da titulação. Na 1ª etapa há a adição do tampão de fosfato no meio de forma se alcançar pH 7:



A primeira etapa titula todo o cloro residual e 1/5 parte do dióxido de cloro presente em solução. Na segunda etapa da titulação titula-se o restante do dióxido de cloro e o clorito presente na amostra. Há a adição de ácido clorídrico no meio para reduzir o pH a aproximadamente 2:



A segunda titulação é precedida por um acondicionamento da amostra ao abrigo da luz para que se evite a fotooxidação dos íons iodeto presentes no meio. Uma nova amostra é preparada com adição novamente de 1 ml do tampão de fosfato para deixar o pH do meio em aproximadamente em 7 e a amostra é purgada por 15 minutos pra se retirar todo o dióxido de cloro e cloro presente em solução. Uma recomendação é que essa etapa seja feita com nitrogênio muito puro para que não seja introduzida na amostra espécies que possam vir a reagir com as espécies cloradas presentes, tais como clorito e clorato. Repetem-se as adições anteriores após a purga, ou seja, iodeto na 3ª etapa e ácido clorídrico na 4ª etapa. A 5ª e última etapa visa determinar todas as espécies cloradas em solução incluindo os íons clorato:



A amostra é fortemente acidificada com a adição de ácido clorídrico puro e com a adição de uma solução de hidrogenofosfato de sódio saturada. Um detalhe importante é que esta etapa é repetida com um branco, ou seja, uma amostra que não contém a espécie de interesse. Aieta *et al.* (1984) mostraram que há interferência de oxigênio dissolvido, nitrato e manganês. Por conta disso a titulação amperométrica é recomendada para amostras que não

apresentem concentrações consideráveis principalmente manganês, elemento comum em amostras de água para tratamento. Um detalhe interessante é a indicação de que essa metodologia deve ser preferencialmente executada em equipamento com eletrodo de metal nobre, como platina, o qual aumenta a vida útil do equipamento, já que a corrosão pode comprometer sua operação (APHA, 2002).



Figura 1: Titulador Amperométrico Hach Autocat 9000

A titulação é muito utilizada para se estimar o rendimento e a pureza de soluções derivadas de geradores comerciais devido a capacidade de determinar todas as principais espécies clorinadas presentes no meio através da equação:

$$\text{Rendimento} = \left(\frac{[\text{ClO}_2]}{[\text{FAC}] + [\text{ClO}_2^-] + [\text{ClO}_3^-] + [\text{ClO}_2]} \right) * 100 \quad \text{Eq. (18)}$$

A determinação do ponto final da titulação é feita quando a corrente é zero com o decorrer da adição do titulante em um gráfico que pode apresentar dois perfis de acordo com o titulante utilizado (Figura 2 e 3).

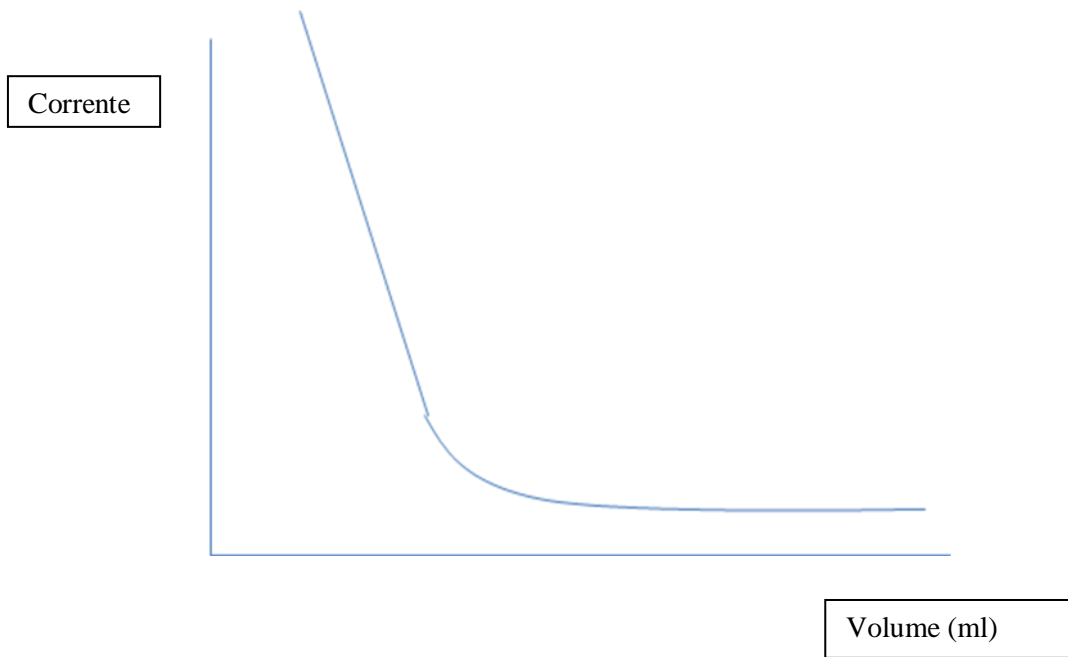


Figura 2: Perfil do gráfico da titulação amperométrica com tiosulfato de sódio

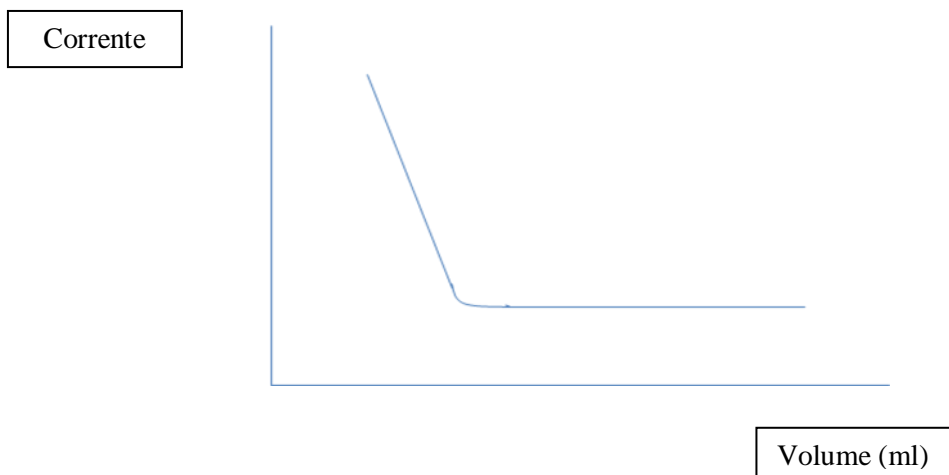


Figura 3: Perfil do gráfico da titulação amperométrica com óxido de fenilarsina

No gráfico, nota-se que o ponto de inflexão quando se utiliza óxido de fenilarsina (Fig. 3) é diferente do ponto de inflexão quando se utiliza Tiosulfato de sódio (Fig. 2). Estes gráficos apresentam-se de acordo com o que é discutido no Manual do fabricante do equipamento (HACH). Isto faz com que seja bastante importante a atenção na escolha do titulante, pois é através do ponto de inflexão que se determinam os volumes referentes ao ponto final que serão utilizados para os cálculos em cada etapa da titulação (WHITE, 2010). Em aparelhos automáticos é apresentada, a opção de definição automática ou manual destes

pontos de inflexão. Assim é fundamental que o analista possua um bom nível de conhecimento tanto da operação do equipamento como da teoria que envolve a metodologia. Este fato constitui uma dos principais pontos críticos da utilização deste método, visto o nível de capacitação exigido ao operador (ALBANO, 2009).

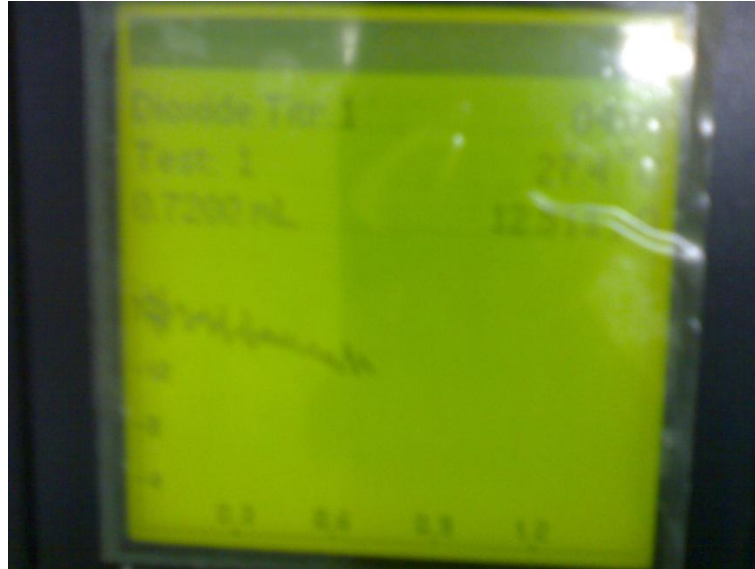


Figura 4: Interface do titulador amperométrico

3.5 - Método EPA 327.0

O método 327.0 é uma técnica analítica recente e reconhecida somente pela EPA não postulando ainda como um método normatizado no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 2002)). A metodologia é fruto de um trabalho conjunto do laboratório do Dr. Gilber Gordon da Universidade de Miami. O método foi então validado através de um estudo interlaboratorial por recomendação da EPA. A metodologia é uma variante da metodologia desenvolvida por Chiswel e Halloran em 1991 na qual se utiliza novamente o reagente Lissamine Green B (LGB). O método EPA 327.0 utiliza um tampão ácido cítrico/citrato e glicina para tamponar a amostra a um pH em torno de 6 a 6,2 e também uma solução, o reagente combinado, nessa mesma faixa de pH. A solução do reagente combinado é preparada numa razão 1:1 com o reagente LGB tamponado e a solução tamponada da enzima HRP (PEPICH, 2007).

O procedimento de análise envolve adições e retiradas sequenciadas de mesmo volume (1 ml) da amostra. Como resultado desse processo, todo o clorito presente em solução é convertido a dióxido de cloro que reage com o corante Lissamine Green B. A utilização do

pH entre 6,0 e 6,2 deve-se ao fato que a atividade enzimática é máxima nessa faixa (KORTVÉLYESI, 2007). Após vários estudos, a EPA recomenda também a utilização da enzima HRP tipo II apesar de permitir que se utilizem também enzimas da mesma família similares (tipo I e IV). Uma desvantagem fundamental é que mesmo utilizando a enzima tipo II a técnica é bastante cara e exige treinamento especializado (JAKOPITSCH, 2008). Uma vantagem é a utilização de padrões de clorito o que torna a técnica menos susceptível a problemas de perda de amostra por volatilização, diminuindo a probabilidade de erros aleatórios.



Figura 5: Aparato Experimental do método EPA 327.0

Um gráfico é gerado pela plotagem dos dados de diferença de absorbância versus concentração dos padrões de clorito. Esta diferença de absorbância é feita entre o branco e o padrão de cada ponto da curva. A norma da EPA indica também que, normalmente a curva apresente um coeficiente angular entre 0,35 e 0,38. Logo isto pode servir para o analista como um indicativo para checagem dos dados. Outra indicação constante no método é que, ao se trabalhar com concentrações menores que 0,3 mg/L, deve se ter uma recuperação variando entre 50-150%, em valores acima de 0,5 mg/L deve-se variar entre 70-130% (USEPA, 2005).

3.6 - Método LGB (Lissamine Green B)

A metodologia LGB foi desenvolvida em 1991 por Chiswell e Halloran através de estudos feitos com vários corantes para análise de dióxido de cloro. Neste trabalho o reagente

DPD (N,N-Dietil-p-fenilenadiazina) foi questionado como reagente espectrofotométrico para análise de soluções de dióxido de cloro devido a presença do cloro livre em solução oxidar o DPD antes dele sofrer oxidação pelo dióxido de cloro. Estudos por voltametria cíclica mostraram que o DPD possui um potencial de oxidação menor que cloro livre em solução e que dessa maneira a tendência era o cloro livre oxidar o reagente antes deste reagir com o dióxido de cloro.

Chiswell e Halloran (1991) então decidiram testar uma série de reagentes, todos corantes, para que pudessem ter uma reação simples com o dióxido de cloro, e assim pudesse ser utilizados como um reagente espectrofotométrico localizando por varredura espectrofotométrica o máximo de absorvância daquela substância. Neste tipo de análise, utiliza-se o comprimento de onda onde é a máxima a absorção por um dado composto, pois assim garante-se que se tem o máximo da sensibilidade.

O corante Lissamine Green B (LGB) tem uma estrutura composta por vários anéis aromáticos e é um composto sulfurado. A metodologia utiliza a estratégia da extinção desta espécie em solução na presença de dióxido de cloro, o qual oxida este corante apesar de sua estrutura.

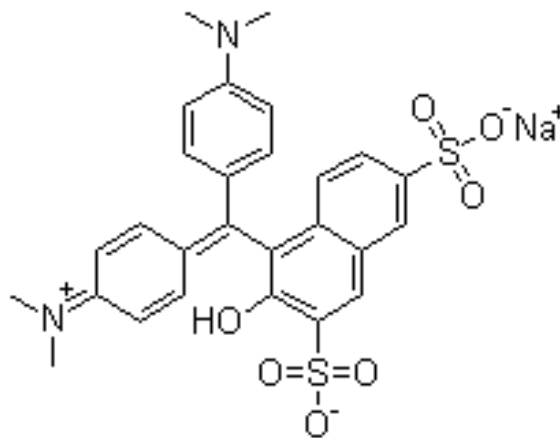


Figura 6: Estrutura do LGB

Chiswell e Halloran (1991) estudaram a influência da presença de cloro livre em concentrações de no máximo 5 ppm e perceberam que, até essa concentração, o cloro não interferiria significativamente nas medidas analíticas. Assim conseguiram constatar que o método poderia ser utilizado em laboratórios de processo e controle de qualidade em ETA's (Estações de Tratamento de Água). Eles também testaram vários sistemas de tampão para que pudesse eliminar a interferência do cloro livre presente. Eles utilizaram tampão de amônio a pH 9, já que nesse pH todo o cloro livre estaria na forma hipoclorito, o qual não oxidaria o

LGB presente e parte seria transformado em ácido cloroaminoacético por reação com o tampão.



Figura 7: Aparato Experimental do método LGB

Eles testaram curvas com e sem cloro livre na concentração antes mencionada e notaram que não havia diferença significativa. Desai (2002) também testou essa metodologia comparando-a com outros métodos entre eles a titulação amperométrica. Ele testou concentrações de clorito e clorato a 0,5 mg/L e não diferença significativa nos resultados. Ainda não há estudos conclusivos sobre interferentes como clorito e clorato a níveis maiores que 0,52 mg/L, como os encontrados em geradores comerciais utilizados em estações de tratamento de água.

4 – METODOLOGIA

4.1 - Materiais e reagentes

Foram utilizados os seguintes reagentes para os ensaios analíticos conforme abaixo:

- Soluções Padrão comercial de Clorito de Sódio (NaClO_2); $994 \pm 6 \text{ mg L}^{-1}$ em clorito de sódio; Quimlab
- Solução Padrão de Clorato de Sódio (NaClO_3); $998 \pm 6 \text{ mg L}^{-1}$; Merck; $\square\square 98,0\%$; Quimlab
- Hidrogenocitrato Dissódico Sesquihidratado ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$); Sigma Aldrich; 99,0 %
- Citrato Trissódico Dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); Sigma Aldrich; 99,0 %
- Glicina ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$); Dinâmica; 99,0 %
- Lissamina *Green B* ($\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{NaO}_7\text{S}_2$); Sigma Aldrich; 63,0 %.
- Ácido Acético Glacial ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$); Synth; 99,7 %
- Iodeto de Potássio (KI); Merck; 99,0 %
- Tiosulfato de Sódio Pentahidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$); Vetec; 98%
- Gás Nitrogênio (N_2); White Martins; 99,99999 % (5.0)
- *Horseradish* peroxidase Tipo IV; Sigma Aldrich;
- Ácido Sulfúrico; Synth; 98%
- Solução Tampão Fosfato; Hach
- Solução Padrão Óxido de Fenilarsênio 0,00564 N; Hach
- Dicromato de potássio; Vetec; 99%
- Ácido clorídrico; Synth; 99%

Para a realização destes ensaios foram utilizados os seguintes materiais e equipamentos abaixo:

- Frascos de vidro âmbar (*Vials*) de 15 mL com tampa de polietileno; Sigma Aldrich
- Espectrofotômetro DR 2500 Hach® com lâmpada de tungstênio;
- Titulador amperométrico Autocat 9000 Hach®;
- Medidor de pH Digimed DM-22.

4.2 - Geração da solução padrão de dióxido de cloro

As soluções de dióxido de cloro foram preparadas de acordo com a metodologia prevista em APHA (2002), onde ocorrem sucessivas adições de ácido sulfúrico 1:9 por meio de um funil de separação, em uma solução de clorito de sódio diluída (Frasco 2) sendo mantido um fluxo de gás nitrogênio após cada adição da mistura ácida. Preparada dessa forma, a solução normalmente contém entre 200 e 500 ppm de dióxido de cloro em solução (Frasco 3).

O acondicionamento das soluções padrão foi feito em frascos âmbar e mantida sob uma temperatura de aproximadamente 6°C. Com isso evita-se a decomposição da solução por fotólise e devido a temperatura. Na figura 8, temos o frasco 1 que contém somente água destilada e o frasco 4 é a solução a ser descartada.

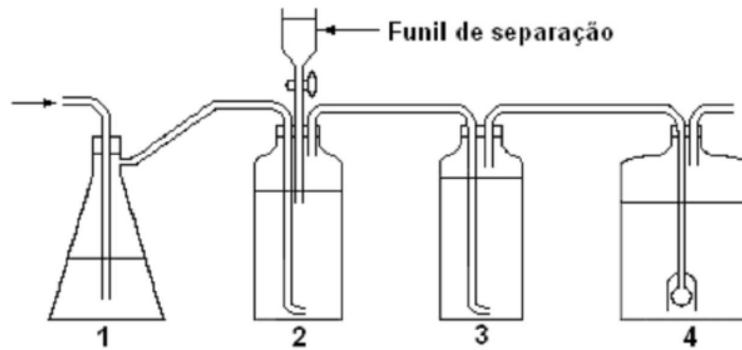


Figura 8: Esquema do gerador de dióxido de cloro em laboratório



Figura 9: Aparato experimental para geração de dióxido de cloro

4.3 - Procedimentos experimentais

O procedimento experimental, segundo o fluxograma na figura 12, foi desenvolvido de forma a se estudar basicamente dois aspectos:

1. No caso da comparação entre diferentes metodologias, utilizou-se a diluição de 1/200 de forma a comparar os dois métodos certificados com o método LGB. Assim compararam-se separadamente os resultados obtidos na titulação amperométrica com o LGB e posteriormente o EPA 327.0 com o LGB.
2. Como a diluição influenciava no erro das análises: A solução padrão, após padronizada, sofreu as diluições de 1/100, 1/200 e 1/250. O método analítico usado para este procedimento foi a titulação amperométrica;

Inicialmente, uma solução padrão de dióxido de cloro com volume aproximado de 1500 ml foi preparada. Para a comparação entre os métodos a solução concentrada era padronizada por Iodometria (APHA, 2002), diluída e imediatamente analisada em regime de batelada de 9 análises para a comparação entre as metodologias EPA 327.0 e LGB e 10 análises para a comparação entre a metodologia LGB e titulação amperométrica. Foi preparada um 1 litro de solução diluída (1/200) para cada comparação entre métodos. Após a preparação de cada diluição, a solução padrão concentrada de dióxido de cloro era novamente armazenada na geladeira para evitar perdas por volatilização. Cada diluição tão logo preparada foi analisada em triplicata por cada um dos métodos.

Foram feitos testes comparando as metodologias LGB e EPA 327.0 na diluição 1/200. As amostras diluídas eram analisadas pelo método 327.0 e, em paralelo, eram feitas as adições do método LGB, visto que para a análise do método 327.0 ainda existe o passo para a purga do dióxido de cloro feita em 10 minutos com fluxo de 250 ml/minuto de nitrogênio puro.



Figura 10: Titulação amperométrica

A próxima etapa dos experimentos consistiu na comparação entre as metodologias LGB e a titulação amperométrica utilizando o fator de diluição 1/200. Nesta etapa a amostra diluída era adicionada para análise da titulação amperométrica. Enquanto a titulação era efetuada, houve as adições referentes ao método LGB, sendo primeiramente adicionado a solução de LGB e posteriormente o tampão de amônio. Como cada titulação amperométrica demora em torno de 35 a 40 minutos, era possível efetuar o método LGB e esperar os 30 minutos para efetuar a leitura espectrofotométrica das amostras sem comprometer o andamento das adições na titulação amperométrica.



Figura 11: Coloração da amostra no ponto final de cada titulação

Posteriormente, comparou-se os métodos EPA 327.0 e LGB com concentrações fixas de 0,5 mg/L, 1,0 mg/L e 1,5 mg/L de dióxido de cloro. Este procedimento analítico é conhecido como recuperação e é muito utilizado para verificar a acurácia de métodos. A titulação iodométrica foi novamente utilizada para proceder a análise destas soluções padrão. Vale salientar que cada padrão correspondente às concentrações de 0,5 mg/L, 1,0 mg/L e 1,5 mg/L foi preparado por diluição direta da solução padrão, previamente padronizada. Com tal procedimento procurou-se evitar as perdas por volatilização da solução padrão.

Nas titulações amperométricas também se utilizou o mesmo cuidado com a solução padrão para cada análise. Uma vantagem da titulação amperométrica é que cada diluição podia ser registrada no equipamento sendo adicionado somente o volume necessário para cada fator de diluição, logo após a padronização da solução padrão. Tal estratégia foi adotada para que se evitasse que as perdas por volatilização. Vale ressaltar que antes de cada batelada de experimentos envolvendo as diluições, a solução padrão concentrada de dióxido

de cloro por iodometria era padronizada. A metodologia experimental está apresentada através de um fluxograma na figura 12.

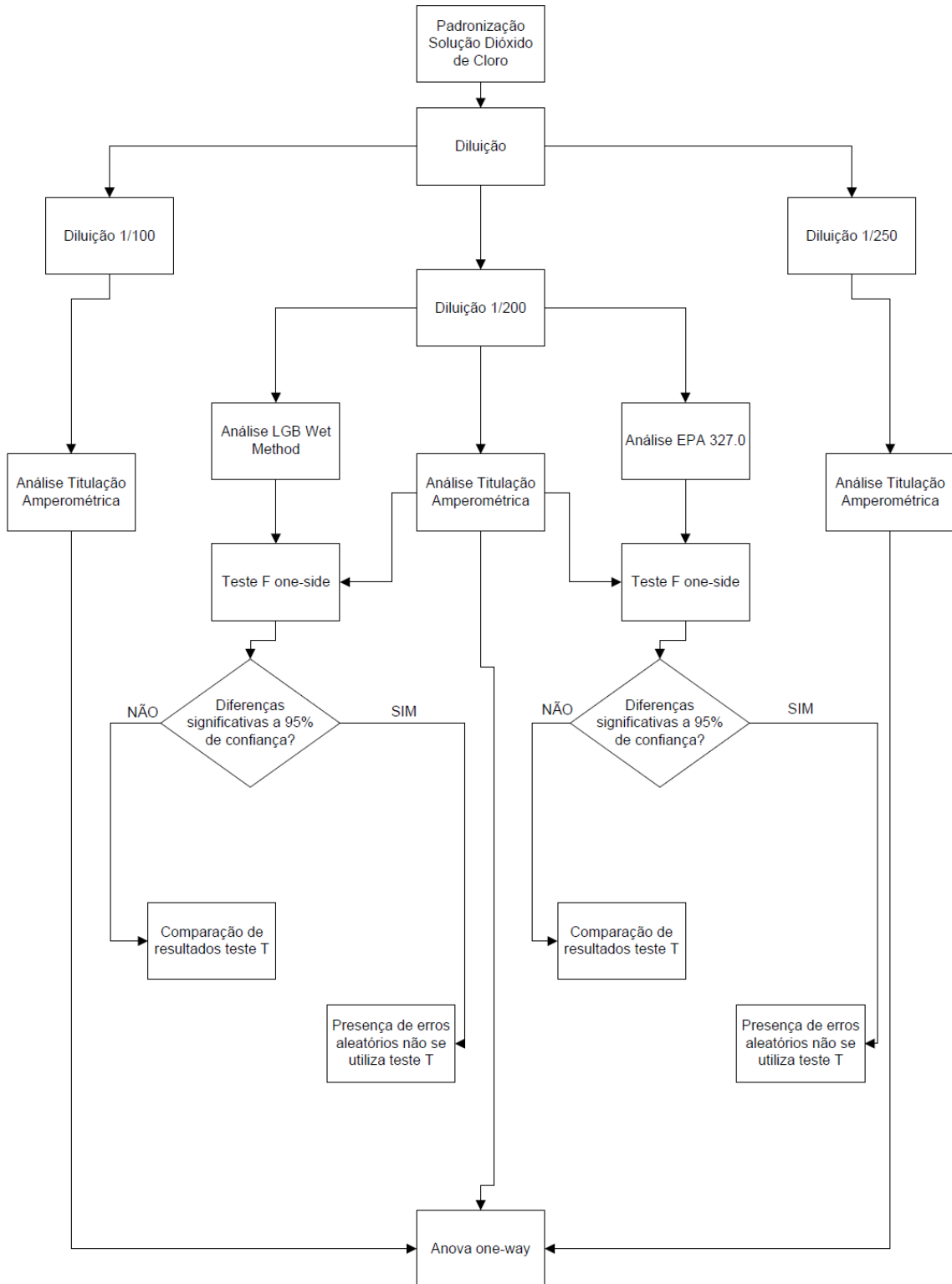


Figura 12: Fluxograma da Metodologia Experimental

4.4 - Preparação e padronização de soluções

4.4.1 - Método iodométrico

A solução padrão titulante de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) foi preparada utilizando o método do dicromato de potássio descrito no *Standard Methods 2002* (4500 – Cl B). Foi mantida a mesma concentração do titulante. Um detalhe importante é que a adição do iodeto de potássio foi feita diretamente na amostra para a instantaneidade da reação, evitando a oxidação dos íons iodeto. A solução padrão de dióxido de cloro foi então padronizada com prevista no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 2002*.

4.4.2 - Soluções do método LGB

A solução estoque LGB (960mg/L) foi preparada pela dissolução de 0,1922 g do corante Lissamine Green B em 200 ml de água deionizada. Uma agitação posterior durante 1 hora foi necessária para garantir uma completa dissolução dessa massa. O tampão de amônio foi preparado com a diluição de 10 ml de Hidróxido de Amônio (NH_4OH) 30% para 1.000 ml com água deionizada. Uma solução de cloreto de amônio (NH_4Cl) foi preparada pela dissolução de 107 g de cloreto de amônio em água deionizada e diluindo para 1.000 ml. Destas soluções preparadas, misturou-se 20 ml da solução de hidróxido de amônio e 80 ml da solução de cloreto de amônio 2M e diluiu-se para 1000 ml com água deionizada, sendo o pH ajustado a 9.

4.4.3 - Preparação das soluções método 327.0

A solução tampão citrato/hidrogenocitrato foi preparada com 9 g de citrato trissódico, 5 g de hidrogenocitrato trissódico e 1 g de glicina, dissolvidos em 125 mL de água deionizada. Para verificação do pH da solução tampão, diluiu-se 1 mL desta em 15 mL de água e mediu-se o pH o qual foi mantido na faixa de 6,0 a 6,2. A solução estoque do corante Lissamina *Green B* (960 mg/l) foi preparada a partir do reagente sólido em água deionizada. O teor de pureza mínimo aceitável é de 70 % para o reagente utilizado. Essa solução tem validade por 2 meses se estocada adequadamente (a 4° C e ao abrigo da luz). Outra solução foi preparada a partir desta solução estoque diluindo-se 2,5 vezes em água deionizada contendo 6 mL de solução tampão de ácido cítrico/glicina, totalizando um volume final de 100 mL de solução. Essa solução tem validade de 1 dia e deve ser preparada somente quando as demais soluções forem preparadas. Para verificar se a solução está adequada, diluiu-se 0,5

mL desta solução em 15 mL de água contendo 1 mL de tampão de ácido cítrico/glicina e mediu-se a absorbância no máximo de absorção (633 nm) com uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm. A absorbância foi de 1,5. Como a pureza do corante disponível era de 63%, de acordo com fornecedor, efetuou-se o seguinte cálculo para saber a quantidade de solução estoque a ser adicionada, onde P_{LGB} é a pureza do corante:

$$V_{LGB} = 40 \left(\frac{73}{P_{LGB}} \right) \quad \text{Eq. (19)}$$

A solução de *Horseradish Peroxidase* (HRP) tipo IV tamponada desta enzima foi preparada pesando-se aproximadamente 60 mg do sólido e dissolvendo em 50 mL de água deionizada contendo 6 mL de solução tampão de ácido cítrico/glicina. A solução do reagente combinado (RC LGB/HRP) foi preparada a partir das soluções estoques tamponadas de Lissamina *Green B* e de *Horseradish* peroxidase na proporção de 1:1. Essa solução foi conservada com clorofórmio e armazenada em frasco de vidro âmbar a 4° C, sendo estável por 14 dias, sendo utilizada em todos os testes de determinação de Clorito e dióxido de cloro. Os padrões de Clorito foram preparados a partir de um padrão comercial de clorito de 1000 ppm de concentrações de 0,2, 0,5, 1,0, 1,5 e 2 mg/L.

4.4.4 - Titulação amperométrica

Para a titulação amperométrica a única solução preparada foi a solução de HCl 2,5 N pela diluição de 200 ml de Ácido Clorídrico concentrado sob agitação em 1000 ml de água destilada. As outras soluções utilizadas na metodologia são disponibilizadas juntamente com aquisição do equipamento Autocat 9000 Hach. No entanto durante os experimentos o tampão de fosfato pH 7 foi preparado pela dissolução 72,4 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ e 32,4 g de KH_2PO_4 em água destilada e completados até 1 litro e pH ajustado para 7.

Na titulação amperométrica utilizou-se um volume de amostra de 200 ml seguindo o procedimento experimental abaixo:

1. TITULAÇÃO DO CLORO RESIDUAL E 1/5 DO ClO_2 DISPONÍVEL : Colocou-se 1 ml do tampão de fosfato em um bequer de 250 ml. Adicionou-se a amostra com o mínimo de aeração possível e adicionou-se 1 g de grãos de KI. Titulou-se até o ponto final com óxido de fenilarsina.

- LEITURA A : ml titulante / mL amostra
2. TITULAÇÃO DOS 4/5 RESTANTES ClO₂ DISPONÍVEL E CLORO : Mantendo a mesma amostra, adicionou-se 2 ml de HCl 2.5 N. Deixou-se em repouso no escuro por 5 minutos. Titulou-se até o ponto final.
- LEITURA B: ml titulante / ml amostra
3. TITULAÇÃO DO CLORO NÃO-VOLATILIZADO: Adicionou-se 1 ml do tampão de fosfato pH 7 no vaso de purga. Adicionou-se uma segunda amostra e purgou-se com nitrogênio por 10 minutos. Adicionou-se 1 g de KI e titulou-se até o ponto final.
- LEITURA C: ml titulante / ml amostra
4. TITULAÇÃO DO CLORITO: Continuando com a mesma amostra, adicionou-se 2 ml de HCl 2.5 N. Deixou-se em repouso no escuro por 5 minutos. Titulou-se até o ponto final com óxido de fenilarsina.
- LEITURA D: ml titulante / ml amostra

Para os cálculos das concentrações das espécies de interesse utilizaram-se as relações:

$$\text{Clorito, mg/L ClO}_2^- = D \times N \times 16863 \quad \text{Eq. (20)}$$

$$\text{Dióxido de cloro, mg/L ClO}_2 = (5/4) \times (B - D) \times N \times 13490 \quad \text{Eq. (21)}$$

Onde N é a normalidade do titulante, 0,00564 N.

4.4.5 - Procedimento do método LGB

A análise pelo método LGB consistiu primeiramente da preparação de uma curva de calibração e logo após, a análise da amostra como descrito a seguir:

- Preparou-se padrões de dióxido de cloro nas concentrações de 0,2, 0,5, 1,0, 1,5, 1,8 e 2,0 mg/L a partir da solução mais concentrada;
- Adicionou-se, em um balão de 100 ml, 5ml do tampão de amônio, 900 µL da solução estoque da solução de LGB, os volumes correspondentes às concentrações de cada padrão de Dióxido de Cloro e completou-se o volume;
- Após 30 minutos procedeu-se leitura das amostras em cubeta de quartzo de 1 cm a 616 nm;
- Plotou-se os resultados em gráficos Absorbância *versus* Concentração

No caso da análise da amostra procedeu-se da forma descrita abaixo:

- Adicionou-se, em um balão de 100 ml, 5ml do tampão de amônio, 900 µL da solução estoque da solução de LGB e 0,5 ml de amostra;
 - Após 30 minutos procedeu-se a leitura da amostra em cubeta de quartzo de 1 cm a 616 nm

4.4.6 - Procedimento do método EPA 327.0

Para a análise pelo método EPA 327.0 é preparada inicialmente uma curva de calibração com padrões de clorito tal como descrito abaixo:

- Preencheu-se completamente frasco de 15 mL com a solução de ClO_2^- diluída na concentração do ponto da curva a ser analisado (0,2, 0,5, 1,0 , 1,5 e 2 ppm);
- Removeu-se 1 mL da amostra (solução padrão);
- Adicionou-se 1 mL da solução tampão de ácido cítrico/glicina;
- Tampou-se o frasco e misturou-se por inversão;
- Observou-se se houve a formação de bolhas no frasco
- Removeu-se 1 mL da amostra tamponada;
- Adicionou-se 1 mL do reagente combinado RC LGB/HRP;
- Tampou-se o frasco e misturou-se por inversão;
- Deixou-se estabilizando por 30 minutos.
- Realizou-se a leitura da amostra em uma cubeta de quartzo e mediu-se a absorvância em 633 nm.

Para cada frasco pertencente a um ponto da curva de calibração preparou-se um branco correspondente. Plotou-se em gráfico a diferença das absorvâncias entre o branco e o ponto da curva versus concentração. O procedimento de análise das amostras foi recíproco ao da curva de calibração, sendo que, uma 2ª amostra é purgada com nitrogênio ultrapuro (99%) e, posteriormente submetida a análise tal como descrito anteriormente. O resultado da concentração em ppm de dióxido de cloro é a diferença entre a concentração da amostra não-purgada e da purgada.

5 – CÁLCULOS ESTATÍSTICOS

Os cálculos estatísticos foram efetuados utilizando-se as ferramentas estatísticas Teste F, Teste de Ponto De hipótese, Teste T e ANOVA *One-way* através dos programas Origin® e Microsoft Excel® 2007. Utilizou-se o teste *F* para os dois conjuntos de dados para se verificar a precisão entre os métodos, comparando método EPA 327.0 *versus* metodologia LGB e Titulação amperométrica *versus* metodologia LGB, para se estimar a repetibilidade e a precisão intermediária entre os métodos (KUTTATHARMMAKUL, 1999). O teste T foi utilizado para comparar as amostras entre metodologias diferentes (LGB x EPA 327.0 e LGB x AMPEROMÉTRICO), mas com amostras com o mesmo fator de diluição (1/200). As amostras foram mantidas sob as mesmas condições para a análise entre os dois métodos diferentes.

A função primordial do teste F é investigar a precisão de um método em comparação a outro. Este procedimento é normalmente aplicado quando ocorre o desenvolvimento de um novo método para análise de um dado composto. No caso do teste T visa-se analisar se as diferenças entre um método A e o método B são tão significativas de forma a rejeitar a hipótese nula. A utilização de testes de significância é bastante comum para fins comparativos em química analítica, seja para comparar a exatidão entre métodos bem a como a precisão (ARAÚJO, 2009).

Tais testes são realizados em função do limite de confiança determinado pelo analista e, assim, os testes são aplicados no intuito de se identificar possíveis erros sistemáticos ou aleatórios e, se estes erros, geram resultados significativamente diferentes ao se comparar métodos ou até mesmo conjuntos de amostras de uma mesma técnica. Um ponto importante é a definição quanto a utilização de testes “*one tail*” ou “*two tail*” para a análise dos resultados obtidos (HEYDEN, 2007).

Segundo Gemperline (2006), os testes “*two tail*” normalmente são utilizados quando não se sabe se os resultados são maiores ou menores que a média verdadeira. Os testes “*one tail*” são utilizados quando se deseja saber se os valores são maiores ou menores que a média verdadeira. Assim não há distinção quanto ao sinal do valor calculado quando se utiliza estes “*two tail*”. O limite de confiança definido para o presente trabalho foi 95% e optou-se por utilizar testes “*two tail*” quando se utilizou o teste T e “*one tail*” para o teste *F* que daria informações se um método é mais preciso que outro. O teste F utilizou-se a seguinte fórmula para os cálculos:

$$F = \left(\frac{S_1^2}{S_2^2} \right) \quad \text{Eq. (22)}$$

Onde S_1 é a variância do método 1 e S_2 é a variância do método 2. Os graus de liberdade são considerados também no cálculo no valor de F, sendo indicados no índice de F, e comparados com valor de F calculado. Os cálculos da variância da repetibilidade e do componente “entre-dias” (*between-days precision*) servem para auxiliar no cálculo da precisão intermediária, que é fundamental na comparação entre os métodos utilizando a expressão do cálculo do valor de F (Feinberg, 2007). A variância da repetibilidade é calculada através da expressão:

$$S_r^2 = MSe = \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{p(n-1)} \quad \text{Eq. (23)}$$

Onde n é o número de medidas realizadas, p é número de dias em que as análises foram realizadas. \bar{y}_i é a média dos resultados obtidos no dia i (i=1,2,3,...,p) e \bar{y} é a média das médias dos dias. A variância da componente “entre-dias” é calculada a partir da diferença entre a equação *Msd* e a equação *Mse* dividido pelo número de medidas realizadas. Com a diferença que leva em consideração todos os resultados de todos os dias:

$$MSd = \frac{n \sum_{i=1}^p (\bar{y}_i - \bar{y})^2}{p-1} \quad \text{Eq. (24)}$$

Sendo a componente da repetibilidade “entre-dias” calculada como:

$$S_t^2 = \frac{MSd - MSe}{n} \quad \text{Eq. (25)}$$

Onde y_{ij} é o resultado i no dia j e \bar{y}_i é a média dos resultados. A componente que representa a precisão intermediária é a soma da variância da repetibilidade e a variância “entre-dias”. Cada variância calculada é utilizada na equação 22, considerando a hipótese nula a ser utilizada neste trabalho, onde o índice B significa o método alternativo (LGB):

$$H_0 = \sigma_B^2 \leq \sigma_A^2 \quad \text{Eq. (26)}$$

E a hipótese alternativa

$$H_1 = \sigma_B^2 > \sigma_A^2 \quad \text{Eq. (28)}$$

Assim, um teste *F one-tail* é aplicado para se investigar se o método alternativo B é menos preciso que o método normatizado A. O teste T utiliza as expressões abaixo para calcular se a hipótese nula deve ser rejeitada ou não.

$$|T| = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \cdot \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{Eq. (29)}$$

e

$$s = \frac{(n_1 - 1) \cdot s_1^2 + (n_2 - 1) \cdot s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)} \quad \text{Eq. (30)}$$

onde \bar{x}_1 é a média do conjunto de dados 1 e \bar{x}_2 é a média do conjunto de dados 2.

A estimativa do desvio padrão, s , é então calculado através dos desvios padrões dos dados 1 e 2.

A função ANOVA *One-way* foi utilizada pra investigar as variâncias dentro de um mesmo método com fatores de diluição diferentes (1/100, 1/200 E 1/250) para se constatar se há diferenças significativas ao nível de confiança adotado, 95%. Assim só há uma variável dependente que é a diluição sendo o método utilizado o mesmo (VOGEL, 2008).

A análise da tendência (bias) entre o método alternativo e o método de referência é feita através da comparação entre as grandes médias \bar{y}_A e \bar{y}_B , por meio do teste de ponto de hipótese. O teste do ponto de hipótese utiliza um teste *two-tail* ($H_0: \mu_A = \mu_B, H_1 = \mu_A \neq \mu_B$) em que o resultado da equação 20 é comparado com $t_{\alpha/2}; v_d$ (LINSINGER, 2008).

$$t_{cal} = \frac{\bar{y}_A - \bar{y}_B}{s_d} \quad \text{Eq. (31)}$$

A tendência é aceitável se $t_{cal} \leq t_{\alpha/2}; v_d$. No teste do ponto de hipótese, utilizam-se as equações 32,33 e 34 para calcular as variáveis necessárias para a estimativa de t_{cal} .

$$S_y^2 = \frac{MS_d}{n} \quad \text{Eq. (32)}$$

$$S_p = \frac{\left((p_a - 1) S_{yA}^2 + (p_b - 1) S_{yB}^2 \right)}{(p_a + p_b - 2)} \quad \text{Eq. (33)}$$

$$S_d = \sqrt{S_p^2 \left(\frac{1}{p_a} + \frac{1}{p_b} \right)} \quad \text{Eq. (34)}$$

6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 - Comparação entre as metodologias LGB e método EPA 327.0

As metodologias EPA 327.0 e LGB possuem a similaridade de utilizarem um mesmo reagente, o corante Lissamine Green B. Na verdade, a metodologia EPA 327.0 tornou-se um avanço frente à metodologia LGB por alguns fatores: utilização de padrões de íons clorito menos voláteis que padrões de dióxido de cloro, eliminação do dióxido de cloro presente na amostra através da purga com nitrogênio para se quantificar dióxido de cloro e clorito separadamente e utilização de vidraria de análise âmbar para se evitar perdas por exposição à luz.

Apesar de tais vantagens, o método 327.0 encontra problemas quanto à sua implementação, principalmente quanto à execução da análise. A metodologia envolve uma série de etapas que faz com que seja necessário pessoal treinado para efetuar as determinações analíticas. Principalmente no momento em que a amostra é tamponada e logo após cada adição, já que se faz necessário ter o cuidado de evitar a presença de bolhas nos recipientes de análise (*Vials*).

Cada amostra ao ser analisada requer uma purga entre 10 e 15 minutos para se determinar somente o clorito com nitrogênio de elevada pureza. Outro aspecto que compromete implementação a análise é o alto custo da aquisição da enzima, R\$ 1800 por 100 mg, e sua instabilidade térmica que promove a oxidação dos íons clorito presentes tanto nos padrões quanto na amostra. Altas temperaturas inativam a enzima e, por conseguinte comprometem os resultados não havendo a completa transformação dos íons clorito presentes nos padrões em dióxido de cloro. Na tabela 1 observa-se os resultados do experimento 1, em que a concentração da solução concentrada de dióxido de cloro foi de 240 mg/L, sendo esta solução padronizada por iodometria. Comparou-se as metodologias LGB e EPA 327.0 e, a variação em torno da média para cada metodologia. A comparação entre as metodologias EPA 327.0 e LGB foram feitas durante 7 dias e após 7 dias foi realizada a comparação entre a titulação amperométrica e método LGB. Os dados de concentração estão apresentados em mg/L de dióxido de cloro analisado por cada método.

A média das concentrações de dióxido de cloro analisadas pelo método EPA 327.0 foi de 221,8 mg/L no experimento 1 e 225,5 mg/L pelo método LGB no mesmo experimento. Cada experimento de comparação foi realizado no mesmo dia, tendo o cuidado da adequada preservação da solução concentrada de dióxido de cloro, de

forma a se evitar a perda de amostra tanto por fotólise (ação da luz) como por volatilização (ação da temperatura).

Tabela 1: Resultados comparativos entre a metodologia 327.0 e LGB (Experimento 1)

| Amostra | EPA | Diferença % em relação à média | LGB | Diferença % em relação à média |
|----------------|------------|---------------------------------------|------------|---------------------------------------|
| 1 | 223,0 | 0,55 | 229,0 | 1,57 |
| 2 | 215,6 | -2,79 | 216,0 | -4,20 |
| 3 | 220,8 | -0,44 | 225,2 | -0,12 |
| 4 | 222,4 | 0,28 | 220,7 | -2,11 |
| 5 | 215,8 | -2,70 | 224,5 | -0,43 |
| 6 | 226,0 | 1,90 | 228,3 | 1,26 |
| 7 | 225,8 | 1,81 | 227,9 | 1,08 |
| 8 | 224,8 | 1,36 | 229,2 | 1,66 |
| 9 | 221,8 | 0,01 | 228,4 | 1,30 |
| Média | 221,8 | x | 225,5 | X |

Vê-se que nas amostras 2, 5 e 6 há uma maior diferença de valores em relação à média em ambas as metodologias. Os valores de variação em torno da média mostram que, as concentrações variaram entre aproximadamente -2,8% e 2% para a metodologia EPA 327.0 e, aproximadamente entre -4% e 2% para a metodologia LGB. Nota-se assim, uma maior amplitude dos valores em relação à média na metodologia LGB, o que mostra que a variação dos valores da metodologia EPA 327.0 está compreendida dentro do intervalo de variação da metodologia LGB. Outro aspecto interessante é que na maioria das análises (8 no total), os valores de concentração obtidos pela metodologia LGB foram maiores que os do método EPA 327.0.

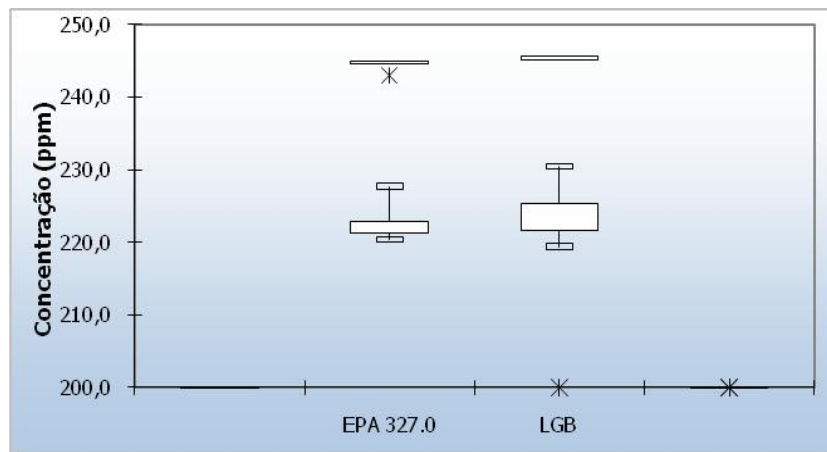


Figura 13: Variação da concentração de dióxido de cloro do experimento 1

Na figura 13 vê-se os resultados do experimento 1 da comparação entre as metodologias LGB e EPA 327.0, quanto à sua variação, a partir de gráficos Box-Plot. Assim como na Tabela 1 os dados correspondem as amostras analisadas do experimento 1 e em ppm de dióxido de cloro. Nota-se pela análise dos gráficos que a mediana da metodologia LGB é maior, e que os dados dessa mesma metodologia, estão mais dispersos em torno da mediana. Os valores que estão acima da mediana, são mais evidentes no conjunto de dados da metodologia LGB, apesar de ter tido um “outlier”, ou seja, um valor atípico da série no conjunto de dados da metodologia EPA 327.0, que foi de 214,7 ppm. Vale frisar que, este valor por ser um “outlier”, não fez parte dos cálculos posteriores para a comparação da precisão entre os métodos. Não se utilizou o Teste de Grubb para a identificação de outliers pois, a própria planilha desenvolvida para os gráficos Box-plot identificava automaticamente estes valores.

O método EPA 327.0 teve uma menor dispersão e, por conseguinte, a metodologia LGB teve um conjunto maior de valores acima do segundo quartil (Q_{75}). Na tabela 2 estão compilados os dados do experimento 2 entre a comparação da metodologia EPA 327.0 e a metodologia LGB. É observável uma variação dos valores em torno da média de aproximadamente -3,5% a 2,3% no método EPA 327.0 e entre -2,5% a 2,4% no método LGB. Nota-se também que na maioria dos valores de concentração estimados pelo método EPA 327.0 estão acima da média obtida por este (7 no total), fato inverso ao método LGB, que obteve 4 medidas acima da média deste método.

Tabela 2: Resultados comparativos entre a metodologia 327.0 e LGB (Experimento 2)

| Amostra | EPA | Diferença % em relação à média | LGB | Diferença % em relação à média |
|----------------|------------|---------------------------------------|------------|---------------------------------------|
| 1 | 220,4 | 0,14 | 225,3 | 0,13 |
| 2 | 222,9 | 0,91 | 221,5 | -1,56 |
| 3 | 224,6 | 0,14 | 221,7 | -1,47 |
| 4 | 222,9 | -3,54 | 219,4 | -2,49 |
| 5 | 214,7 | 2,30 | 230,4 | 2,40 |
| 6 | 227,7 | 0,41 | 228,2 | 1,42 |
| 7 | 223,5 | -0,57 | 225,6 | 0,27 |
| 8 | 221,3 | 1,18 | 224,8 | -0,09 |
| 9 | 225,2 | 1,18 | 228,1 | 1,38 |
| Média | 222,6 | x | 225,0 | x |

Na figura 14 vêem-se os dados da tabela 2 e que mostram graficamente as diferenças entre os resultados. O gráfico mostra a variação e dispersão dos valores de

concentração entre os métodos EPA 327.0 e LGB. Novamente observa-se que a metodologia LGB seguiu praticamente o padrão de dispersão dos dados anteriores e, que o método 327.0, foi que obteve a menor dispersão em torno da mediana e acima do Q_{75} . Assim como no conjunto de dados anteriores, a metodologia LGB apresenta um número bem maior de valores acima deste intervalo.

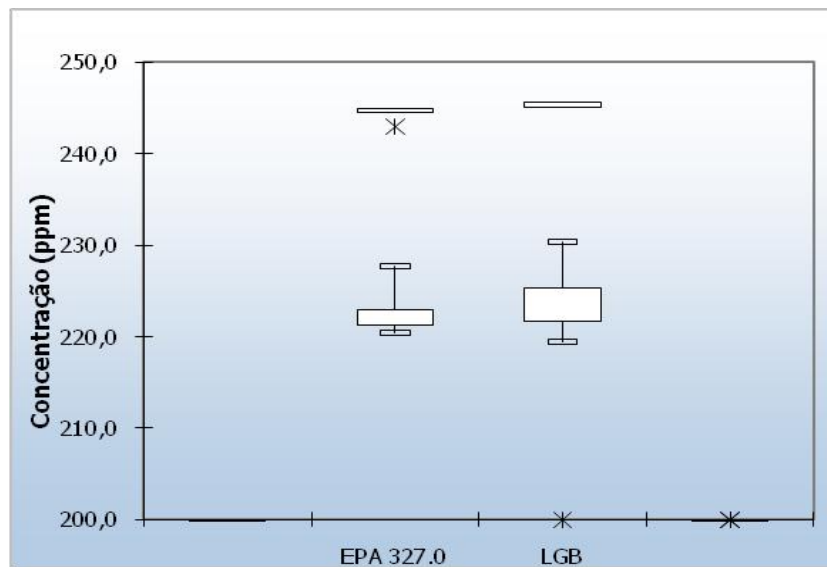


Figura 14: Variação da concentração de dióxido de cloro do experimento 2

Considerando que os experimentos foram em dias consecutivos pode-se afirmar que os resultados das análises praticamente não tiveram diferenças entre estes dias de experimento. Assim como no experimento anterior na maioria das análises (7 no total) a metodologia LGB teve resultados de concentrações maiores que o método LGB na estimativa da concentração de dióxido de cloro. No entanto diferente do experimento anterior as diferenças no geral foram menores entre as amostras.

Na tabela 3 estão compilados os dados do experimento 3 para os resultados das análises comparativas entre a metodologia LGB e EPA 327.0. Neste experimento, as amostras tiveram valores estimados entre aproximadamente 210 e 225 mg/l de dióxido de cloro. Estes limites, tanto o superior como inferior, são menores que os valores do experimentos anteriores (experimento 1 e 2). Tais valores podem ser atribuídos a alguma perda de concentração da solução padrão estoque, já que as amostras para análise (diluição 1/200) foram preparadas da solução mais concentrada que era previamente padronizada por Iodometria.

Novamente os valores de concentração de dióxido de cloro obtidos pela metodologia LGB foram maiores que a média na maioria das amostras (6 no total). No entanto, as diferenças entre as metodologias foram maiores que as obtidas no experimento

anterior (Figura 13). A variação em torno dos valores da média foi entre aproximadamente -3% e 4% para o método EPA 327.0 e entre -1,5% e 3,42 para o método LGB. Ou seja, nesse caso a amplitude maior observada foi entre os dados do método EPA 327.0.

Quanto ao método LGB, a maioria dos resultados das análises (5 no total), estiveram abaixo da média obtida nas análises desta metodologia. Na figura 15 estão organizados os dados obtidos por ambos os métodos em termos de variação e dispersão. O gráfico corrobora as informações apresentadas na tabela 3, quanto a dispersão dos dados. Os valores acima da mediana no método LGB estão menos dispersos que no método EPA 327.0 e que, a quantidade de valores que estão acima do Q_{75} .

Tabela 3: Resultados comparativos entre a metodologia 327.0 e LGB (Experimento 3)

| Amostra | EPA | Diferença % em relação à média | LGB | Diferença % em relação à média |
|----------------|------------|---------------------------------------|------------|---------------------------------------|
| 1 | 219,6 | 0,98 | 222,4 | 1,10 |
| 2 | 211,2 | -2,88 | 221,4 | 0,65 |
| 3 | 214,7 | -1,27 | 220,4 | 0,19 |
| 4 | 216,7 | -0,35 | 219,4 | -0,26 |
| 5 | 218,3 | 0,38 | 217,4 | -1,17 |
| 6 | 210,9 | -3,02 | 216,7 | -1,49 |
| 7 | 225,8 | 3,83 | 218,3 | -0,76 |
| 8 | 218,6 | 0,52 | 216,3 | -1,67 |
| 9 | 221,4 | 1,81 | 227,5 | 3,42 |
| Média | 217,5 | x | 219,98 | x |

Na figura 15 está gráfico Box-Plot que mostra a variação dos dados do experimento 3. Nota-se que, o padrão de variabilidade foi maior nos experimentos da metodologia EPA 327.0, que apresentou valores mais variados tanto acima da mediana quanto abaixo, em comparação ao método LGB.

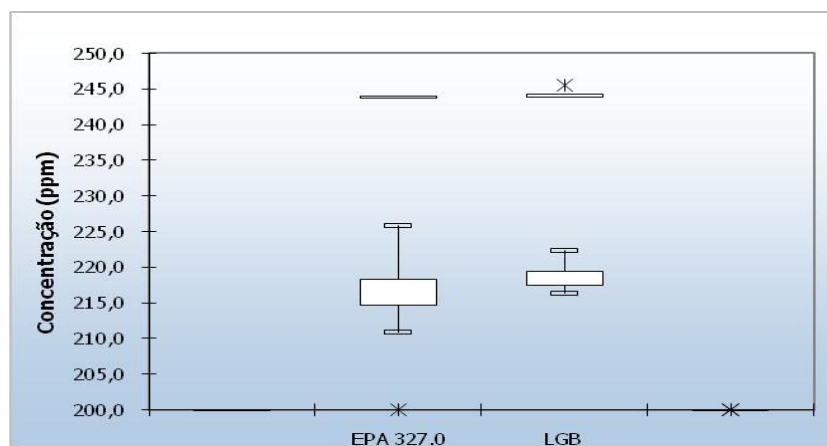


Figura 15: Variação da concentração de dióxido de cloro do experimento 3

A tabela 4 mostra os valores das médias das concentrações obtidas por cada método na estimativa da concentração de dióxido de cloro. Observa-se que em média a metodologia LGB obteve valores mais elevados que a metodologia EPA 327.0. Nota-se também que no último experimento os valores são em média menores que dos anteriores, fato que pode ser atribuído possivelmente a uma perda de concentração da solução mais concentrada apesar do acondicionamento em ambiente resfriado e ao abrigo da luz.

Tabela 4: Resultados comparativos entre as médias dos experimentos EPA 327.0 x LGB

| Experimento | Média EPA 327.0 | Média LGB |
|--------------------|------------------------|------------------|
| 1 | 221,8 | 225,5 |
| 2 | 222,6 | 225 |
| 3 | 217,5 | 220 |

Os valores das médias dos dois primeiros experimentos são bastante próximos tanto para os resultados da metodologia LGB como do método EPA 327.0.

No experimento 3 a estimativa do desvio padrão do método EPA 327.0 esteve bastante próximo do limite aceitável em laboratórios de análise e processo (5%). A estimativa do desvio padrão é importante pois, ele avalia os erros aleatórios obtidos por cada método dando um diagnóstico quanto a precisão obtida por um dado conjunto de amostras.

Tabela 5: Resultados comparativos entre os desvios padrões dos experimentos EPA 327.0 x LGB

| Experimento | Desvio Padrão EPA 327.0 | Desvio Padrão LGB |
|--------------------|--------------------------------|--------------------------|
| 1 | 3,9 | 4,5 |
| 2 | 3,7 | 3,6 |
| 3 | 4,8 | 3,5 |

Evidencia-se também uma pequena variação nos valores dos desvios padrões podendo até, estes valores serem considerados constantes. Ou seja, um mesmo erro aleatório foi cometido em todos os pares da amostras para cada metodologia.

Outra figura de mérito importante aplicada ao trabalho foi o coeficiente de variação. Esta variável é obtida da razão entre o desvio padrão e a média de cada valor multiplicada por 100 quando expressa em porcentagem. A EPA recomenda em seu método de análise para análise de dióxido de cloro e clorito um limite de 20% para o coeficiente de variação como aceitável. Na tabela 6 vêem-se os resultados dos coeficientes de variação para

cada metodologia. Vale ressaltar que todos os conjuntos de dados, independente da metodologia, estão dentro do que preconiza o método EPA 327.0.

Tabela 6: Resultados comparativos entre os coeficientes de variação dos experimentos EPA 327.0 x LGB

| Experimento | Coeficiente de Variação EPA 327.0 | Coeficiente de Variação LGB |
|--------------------|------------------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 1,76 | 2,00 |
| 2 | 1,66 | 1,60 |
| 3 | 2,21 | 1,59 |

Mesmo nenhum dos valores de coeficiente de variação estando acima do valor de 20%, no experimento 3 houve uma variação de aproximadamente de 30% entre os coeficientes de variação do experimento 3. Esta variação é bem maior que nos outros 2 experimentos que foi de no máximo 12% (experimento 1). Isto mostra que, mesmo homogêneo os dados ainda apresentam alguma variação quando comparados entre metodologias. No experimento 1 e 2 os coeficientes de variação foram mais próximos, assim como os desvios padrões e as médias. Assim, apesar da média do experimento 3 ter sido menor que as outras médias os desvios padrões foram maiores o que revela uma maior dispersão neste conjunto de dados.

6.2 - Utilizações dos testes de significância para os métodos EPA 327.0 e metodologia LGB

Na tabela 7 estão os valores calculados para o teste F aplicado aos resultados das concentrações obtidas pelo método EPA 327.0 e LGB. Vale ressaltar que, estes valores correspondem a análise da precisão somente para cada dia de análise. O limite de confiança definido para o teste foi de 95%. Todos os experimentos tiveram resultados aceitáveis, ou seja, não se rejeita a hipótese nula de que, não há diferenças entre os métodos EPA 327.0 e o método LGB, em cada dia de análise.

O teste F é sempre aplicado antes do teste T, pois, a partir dos resultados do teste F caso haja uma diferença significativa nas precisões é que se faz uma avaliação da acurácia entre os conjuntos de dados. A tabela 5 apresenta as outras componentes da análise da precisão entre os métodos EPA 327.0 e LGB.

Tabela 7: Resultados comparativos do teste F entre a metodologia 327.0 e LGB

| Experimento | Estimativa do Desvio Padrão EPA | Desvio Padrão LGB | F_{calc} | F_{crit} |
|-------------|---------------------------------|-------------------|------------|------------|
| 1 | 3,9 | 4,5 | 1,33 | 3,179 |
| 2 | 3,7 | 3,6 | 0,95 | |
| 3 | 4,8 | 3,5 | 0,53 | |

Na análise dos dados, a partir da tabela 8, observou-se que não houve diferença significativa entre os métodos em nenhuma das componentes consideradas: a variância “entre-dias” e o cálculo da precisão intermediária. Logo, evidencia-se que não se rejeita a hipótese nula de que, não há diferenças significativas entre a precisão dos métodos EPA 327.0 e a metodologia LGB ao nível de 95%.

Tabela 8: Resultados comparativos do teste F entre a metodologia 327.0 e LGB

| Variável Estatística | EPA | LGB | F_{calc} | F_{crit} | |
|----------------------|-------|-------|------------|------------|------|
| MSd | 30,23 | 37,05 | | | 0,89 |
| MSe | 17,03 | 15,21 | | | |
| S_r^2 | 17,03 | 15,21 | | | |
| S_i^2 | 1,47 | 2,43 | 1,65 | | |
| $S_{I(T)}^2$ | 18,50 | 17,64 | 0,95 | | |

Vale ressaltar que as amostras foram analisadas em dias consecutivos e que os testes foram aplicados considerando o resultados gerais. Logo, mostra-se através dos resultados obtidos que a metodologia LGB não possui uma precisão pior do que a metodologia EPA 327.0, ao nível de significância de 95%.

Na tabela 6 estão compilados os valores do teste T aplicados aos resultados dos experimentos 1 ao 3. Nota-se que, não há diferenças significativas entre os métodos e, portanto não se rejeita a hipótese nula de que, não há erros sistemáticos entre os métodos EPA 327.0 e LGB.

Tabela 9: Resultados comparativos do teste T pareado entre a metodologia 327.0 e LGB

| Teste T | $ T $ calculado | T crítico |
|---------------|-----------------|-----------|
| Experimento 1 | 1,86 | 2,12 |
| Experimento 2 | 1,42 | |
| Experimento 3 | 1,27 | |

Outro teste aplicado foi o teste de hipótese desenvolvido por Hartman et al. (1995) para avaliar a tendência observada entre os métodos. Este teste é complementar aos testes de comparação entre métodos, já que ele considera se há ou não tendência entre os dados considerando a comparação entre os dois métodos. Na tabela 10 estão compilados os dados da comparação entre os métodos EPA 327.0 e a metodologia LGB. De acordo com as variáveis calculadas, e com valor de $F_{s_{y_A}^2/s_{y_B}^2}$, pode-se afirmar que os métodos não apresentam tendência ao nível de 95%, ou seja, o método alternativo possui acurácia semelhante ao método normatizado EPA 327.0.

Tabela 10: Resultados comparativos do teste de ponto de Hipótese

| TESTE DE HIPÓTESE | |
|--------------------------|-------|
| <i>Sp</i> | 3,364 |
| <i>Sd</i> | 1,12 |
| <i>Tcal</i> | 2,57 |
| <i>Tcrít</i> | 2,78 |

6.3 - Comparação entre as recuperações dos métodos EPA 327.0 e LGB

A recuperação é uma metodologia normalmente aplicada para avaliar a exatidão de cada método. Consiste da adição de um volume ou quantidade de concentração conhecida de amostra que corresponde a concentração que se deseja analisar. Assume-se que esta é a concentração verdadeira e analisa-se a amostra da forma usual de cada método. A partir do resultado calcula-se a diferença em relação ao valor “verdadeiro” da seguinte forma (Skoog, 2005):

$$R = \left(\frac{A-B}{C} \right) \times 100 \quad \text{Eq. (35)}$$

Onde A é a concentração medida na amostra fortificada, B é a concentração medida na amostra não fortificada, C é a concentração da fortificação e R é a recuperação. O método EPA 327.0 recomenda que valores de recuperação entre 70 e 130% são aceitáveis e quando concentrações de fortificação abaixo de 0,3 ppm são utilizadas valores entre 50 e 150% são aceitáveis. Na tabela 6 vê-se os valores de recuperação para a concentração de 0,5 ppm. O valor da recuperação para o método EPA 327.0 foi um pouco maior que do método LGB mas, ainda assim está dentro do limite aceitável recomendado pelo método EPA 327.0.

Na tabela 7 apresentam-se os dados da recuperação para a concentração de 1 ppm. Percebe-se que a metodologia LGB apresentou uma pequena alta em valor ao valor da recuperação do método EPA 327.0, apesar de nenhum dos valores estar fora dos limites recomendáveis pelo método EPA 327.0. É importante pontuar que em comparação a concentração anterior (0,5 ppm) que houve em diferença maior que 10%. Na tabela 13 os valores de recuperação variaram entre 97 e 104%, sendo a recuperação da metodologia LGB novamente maior que a recuperação do método EPA 327.0.

Nos três experimentos de recuperação os valores estiveram dentro dos limites recomendados pelo método EPA 327.0 e a metodologia LGB obteve valores de recuperação maior na maioria dos experimentos. Vale citar que as concentrações definidas para os experimentos de recuperação estão dentro da faixa intermediária das curvas de calibração de ambos os métodos (0,5, 1,0 e 1,5 mg/l).

Tabela 11: Resultados da recuperação do experimento 4 entre EPA 327.0 e LGB

| Metodologia | EPA 327.0 | LGB |
|-------------------------------|------------------|------------|
| Concentração nominal | 0,5 ppm | 0,5 ppm |
| Concentração analítica | 0,52 ppm | 0,5 ppm |
| % de recuperação | 104 | 100 |

Tabela 12: Resultados da recuperação do experimento 5 entre EPA 327.0 e LGB

| Metodologia | EPA 327.0 | LGB |
|-------------------------------|------------------|------------|
| Concentração nominal | 1,0 ppm | 1,0 ppm |
| Concentração analítica | 1,02 ppm | 1,14 ppm |
| % de recuperação | 102 | 114 |

Tabela 13: Resultados da recuperação do experimento 6 entre EPA 327.0 e LGB

| Metodologia | EPA 327.0 | LGB |
|-------------------------------|------------------|------------|
| Concentração nominal | 1,5 ppm | 1,5 ppm |
| Concentração analítica | 1,46 ppm | 1,56 ppm |
| % de recuperação | 97,3 | 104 |

Na figura 16, o gráfico mostra a correlação entre os valores para cada concentração obtida por ambos os métodos na análise de dióxido de cloro. É importante colocar que ambas as metodologias possuem similaridades, pois, utilizam o mesmo princípio de análise (espectrofotometria) e o mesmo reagente (LGB). As concentrações estudadas são exatamente as mesmas da curva de calibração do método EPA 327.0 e estão na faixa de concentrações da curva de calibração preparada para a metodologia LGB (0,2 a 1,8 ppm). Este gráfico mostra o nível de correlação entre os métodos que apresentou um coeficiente de correlação acima de 0,99 mostrando que há uma forte correlação entre os dados.

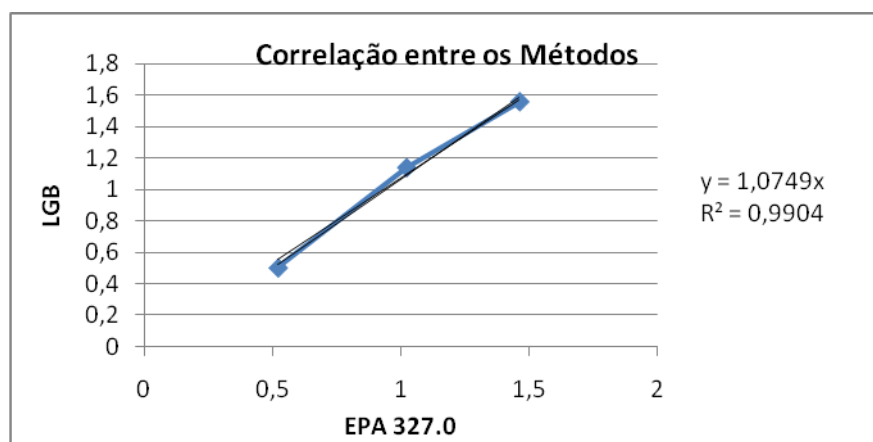


Figura 16: Gráfico de correlação entre os métodos EPA 327.0 e LGB

6.4 - Comparação entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB

A comparação das metodologias Titulação Amperométrica e LGB seguiu os mesmos princípios da metodologia de comparação dos experimentos anteriores entre o método EPA 327.0 e a metodologia LGB. A solução padrão estoque foi novamente utilizada para preparar as amostras na diluição definida na metodologia experimental do trabalho (diluição 1/200). As amostras também foram analisadas em dias consecutivos. Na tabela 9, vêem-se os dados do 1º experimento comparativo entre as metodologias titulação amperométrica e LGB. No experimento 7, a titulação amperométrica apresentou diferenças em relação à média entre aproximadamente -2,5% e 2,32%, e a metodologia LGB entre -3,0% e 2%. Isso mostra que, a amplitude foi praticamente a mesma para ambos os métodos. A titulação amperométrica apresentou um equilíbrio entre o conjunto de valores abaixo da média e acima da média, bem como na metodologia LGB.

Tabela 14: Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (Experimento 7)

| Amostra | TA | Diferença % em relação à média | LGB | Diferença % em relação à média |
|----------------|---------------|---------------------------------------|---------------|---------------------------------------|
| 1 | 232,4 | 1,19 | 221,0 | -2,9 |
| 2 | 228,0 | -0,73 | 227,0 | -0,3 |
| 3 | 229,0 | -0,29 | 232,0 | 1,9 |
| 4 | 226,0 | -1,60 | 231,0 | 1,5 |
| 5 | 230,3 | 0,27 | 232,0 | 1,9 |
| 6 | 229,0 | -0,29 | 223,0 | -2,0 |
| 7 | 231,0 | 0,58 | 227,0 | -0,3 |
| 8 | 224,0 | -2,47 | 229,0 | 0,6 |
| 9 | 232,0 | 1,01 | 224,0 | -1,6 |
| 10 | 235,0 | 2,32 | 230,0 | 1,1 |
| Média | 229,67 | - | 227,60 | - |

Na figura 17 estão compilados graficamente, em Box-plot, os dados do experimento 7, comparando a titulação amperométrica e metodologia LGB. A metodologia LGB, apresentou uma dispersão maior em comparação à titulação amperométrica, apesar de apresentarem valores próximos das medianas muito similares. Tanto acima quanto abaixo da mediana, a metodologia LGB apresentou uma variação bem maior que a titulação amperométrica.

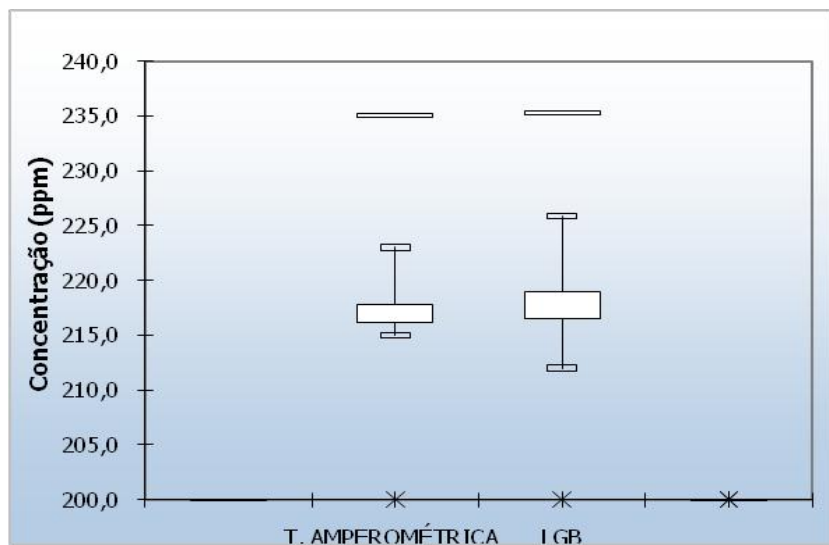


Figura 17: Variação da concentração de dióxido de cloro do experimento 7

Esta variabilidade nos dados incide principalmente no desvio padrão desse conjunto de dados como será discutido posteriormente.

Na tabela 15 vê-se os valores de concentração de dióxido de cloro estimados pelos métodos titulação amperométrica e LGB no experimento 8. Nas amostras nº 1 assim como no experimento anterior apresentaram as maiores diferenças entre os valores de concentração, comparando-se entre si os valores, aproximadamente 5%. Foi observada uma diferença em relação à média na titulação amperométrica variando entre aproximadamente -1,3% e 2,20% e quanto à metodologia LGB -3,3% e 3%. A amplitude entre os valores da diferença da média é maior na metodologia LGB.

Tabela 15: Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (Experimento 8)

| Amostra | TA | Diferença % em relação à média | LGB | Diferença % em relação à média |
|----------------|-----------|---------------------------------------|------------|---------------------------------------|
| 1 | 215,4 | -1,28 | 225,9 | 3,06 |
| 2 | 220,3 | 0,97 | 221,0 | 0,82 |
| 3 | 216,7 | -0,68 | 212,0 | -3,28 |
| 4 | 218,0 | -0,09 | 222,1 | 1,32 |
| 5 | 215,0 | -1,46 | 216,0 | -1,46 |
| 6 | 216,0 | -1,00 | 219,0 | -0,09 |
| 7 | 222,0 | 1,75 | 223,0 | 1,73 |
| 8 | 223,0 | 2,20 | 216,0 | -1,46 |
| 9 | 218,0 | -0,09 | 218,0 | -0,55 |
| 10 | 217,5 | -0,32 | 219,0 | -0,09 |
| Média | 218,19 | - | 219,20 | - |

Na figura 18, observa-se que os valores das concentrações estão bem mais dispersos que na titulação amperométrica, com muitos valores tanto acima quanto abaixo da mediana. A titulação amperométrica apresentou um quantidade similar ao da metodologia LGB de valores acima da mediana, apesar dos dados da metodologia LGB estarem mais dispersos.

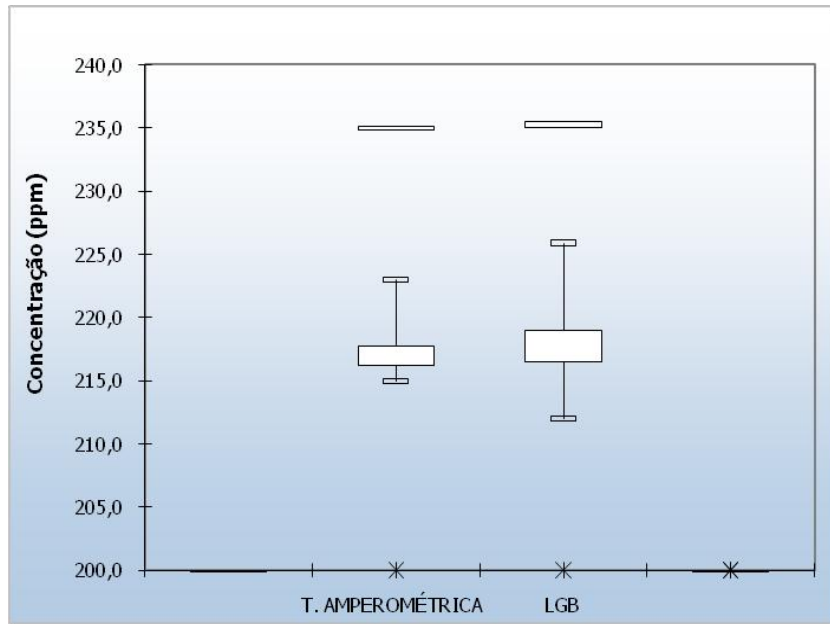


Figura 18: Variação da concentração de dióxido de cloro do experimento 8

As concentrações variaram entre 215 e 225 mg/l, sendo o menor valor correspondendo à titulação amperométrica e o maior valor correspondendo à metodologia LGB.

Na tabela 16 estão listados os valores de concentrações dos pares entre o método EPA 327.0 e metodologia LGB. Observa-se novamente que os maiores valores de concentração são da titulação amperométrica.

Tabela 16: Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (Experimento 9)

| Amostra | TA | Diferença % em relação à média | LGB | Diferença % em relação à média |
|--------------|--------|--------------------------------|--------|--------------------------------|
| 1 | 179,6 | -2,16 | 172,4 | -1,49 |
| 2 | 185,3 | 0,95 | 176,3 | 0,74 |
| 3 | 183,2 | -0,20 | 169,5 | -3,15 |
| 4 | 186,7 | 1,71 | 170,4 | -2,63 |
| 5 | 178,3 | -2,87 | 174,5 | -0,29 |
| 6 | 190,3 | 3,67 | 180,3 | 3,02 |
| 7 | 184,9 | 0,73 | 176,4 | 0,79 |
| 8 | 185,1 | 0,84 | 172,6 | -1,38 |
| 9 | 184,3 | 0,40 | 174,3 | -0,41 |
| 10 | 177,9 | -3,08 | 183,4 | 4,79 |
| Média | 183,56 | - | 175,01 | - |

No experimento 6, a variabilidade das concentrações foram bem similares para ambas as metodologias, sendo inclusive a mediana bastante próxima comparando-se as duas metodologias. O padrão de dispersão também foi muito similar entre as metodologias, apesar de a titulação amperométrica apresentar valores um pouco mais dispersos tanto acima quanto abaixo da mediana.

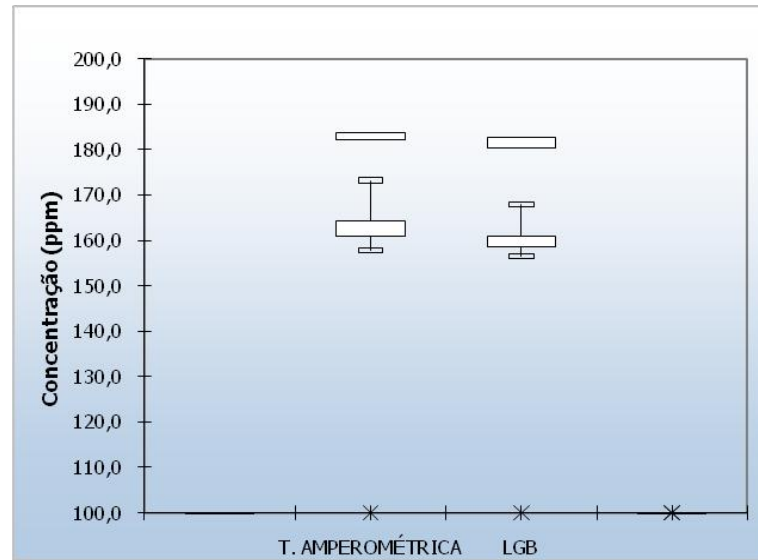


Figura 19: Variação da concentração de dióxido de cloro do experimento 9

O menor valor de concentração de dióxido de cloro foi em torno de 170 mg/l e o maior 190 mg/l. Esta amplitude é maior que nos experimentos anteriores apesar de valores de concentração maiores nos primeiros. Uma justificativa para menores concentrações a medida que se avançam nos experimentos é que a manipulação da solução mais concentrada, certamente acarreta alguma perda na concentração, seja por volatilização ou por fotólise. A amostra no teste 4 foi o menor valor para a metodologia LGB e a maior foi no teste 6 para a titulação amperométrica na tabela 16.

Na tabela 17 estão os dados do experimento 10 da comparação entre a titulação amperométrica e LGB. Outra vez os dados da concentração obtidos pela titulação amperométrica foram maiores que os da metodologia LGB. Em 70% dos valores a titulação amperométrica obteve resultados maiores de concentração, sendo importante observar que em algumas medidas houve uma diferença de 5% nas amostras 2 e 10. Na tabela 17 observa-se claramente que em alguns valores a diferença praticamente não foi perceptível, como é o caso das amostras 3 e 7. Resultados assim mostram que nestas situações os erros sistemáticos e erros randômicos foram bastante minimizados.

Tabela 17: Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB para o experimento 10

| Amostra | TA | Diferença % em relação à média | LGB | Diferença % em relação à média |
|--------------|--------|--------------------------------|--------|--------------------------------|
| 1 | 167,4 | 1,78 | 164,3 | 1,52 |
| 2 | 168,3 | 2,32 | 159,4 | -1,51 |
| 3 | 157,7 | -4,12 | 157,8 | -2,50 |
| 4 | 163,2 | -0,78 | 158,3 | -2,19 |
| 5 | 167,2 | 1,65 | 162,3 | 0,28 |
| 6 | 165,3 | 0,50 | 167,8 | 3,68 |
| 7 | 160,3 | -2,54 | 159,3 | -1,57 |
| 8 | 159,9 | -2,78 | 156,4 | -3,36 |
| 9 | 162,3 | -1,33 | 167,4 | 3,44 |
| 10 | 173,2 | 5,30 | 165,4 | 2,20 |
| Média | 164,48 | - | 161,84 | - |

Na figura 20, nota-se novamente que a titulação amperométrica apresentou uma maior dispersão em relação a metodologia LGB. Estes resultados mostram que a titulação amperométrica apresentou-se com a maior dispersão em relação aos dados até aqui apresentados.

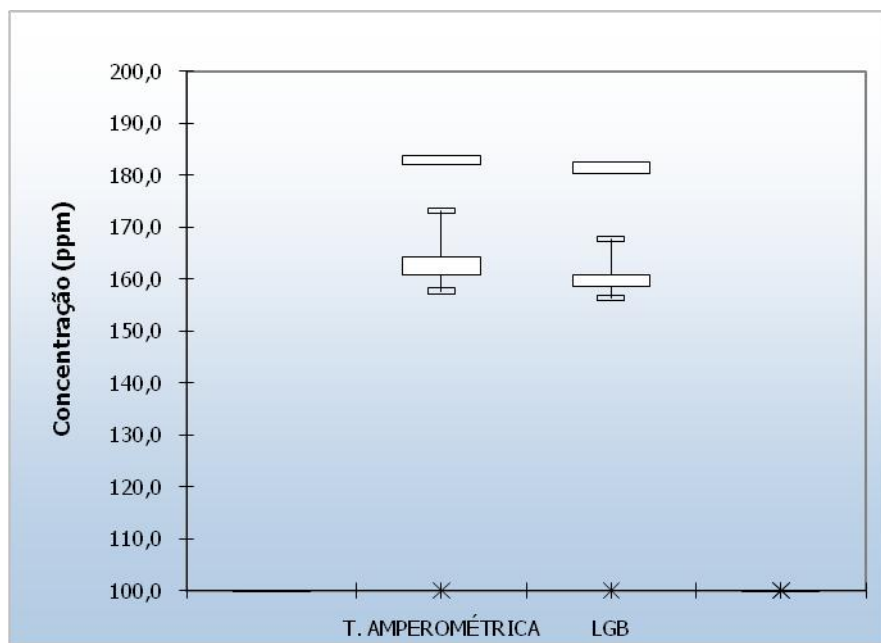


Figura 20: Variação da concentração de dióxido de cloro do experimento 10

Uma vantagem alcançada pela metodologia experimental do presente trabalho é a preparação das diluições 1/200 diretamente da solução mais concentrada pela adição direta do volume necessário para a preparação das amostras. Na tabela é possível também estimar a variação entre o menor valor de concentração de dióxido de cloro estimada de 156,4 mg/l

obtida pela metodologia LGB e a maior de 173,2 mg/l pela titulação amperométrica. Estes dados geram uma amplitude de 16,8 mg/l entre as concentrações, uma diferença muito parecida com a dos outros experimentos que foi de aproximadamente 15 ppm.

Na tabela 18 observa-se o conjunto de resultados do experimento 11. Os dados revelam que houve uma inversão, pois, neste novo conjunto de concentrações estimadas a metodologia LGB apresentou os maiores valores de concentração. Nota-se que há uma diminuição nas concentrações comparadas com os experimentos anteriores, fato que mostra que realmente há uma perda a medida que se trabalha com a mesma solução padrão, mesmo tendo todos os cuidados quanto a sua conservação. Outro detalhe importante é nas amostras 6 há uma grande diferença entre os valores da titulação amperométrica e a metodologia LGB, estimada em mais de 10%. Esta diferença é bem significativa em comparação aos experimentos anteriores que foram de no máximo 7%. É importante destacar que em somente 2 experimentos (8 e 10) os valores da titulação amperométrica foram maiores.

A amplitude entre as medidas de concentração também foi muito próxima da amplitude do experimento anterior, ou seja, no experimento 11 foi de 16 ppm. Esta diferença revela que considerando somente as amplitudes anteriores há uma variação quase constante nesta amplitude ao longo dos outros conjuntos de dados. Isto reforça a idéia de que os erros tanto sistemáticos como aleatórios se distribuíram de forma igual dentro do conjunto de dados nesta comparação.

Tabela 18: Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (Experimento 11)

| Amostra | TA | Diferença % em relação à média | LGB | Diferença % em relação à média |
|----------------|-----------|---------------------------------------|------------|---------------------------------------|
| 1 | 109,3 | 5,12 | 115,3 | 6,24 |
| 2 | 102,3 | -1,62 | 110,4 | 1,72 |
| 3 | 103,2 | -0,75 | 109,3 | 0,71 |
| 4 | 100,3 | -3,54 | 104,5 | -3,71 |
| 5 | 101,6 | -2,29 | 106,4 | -1,96 |
| 6 | 99,3 | -4,50 | 110,3 | 1,63 |
| 7 | 107,3 | 3,19 | 113,2 | 4,30 |
| 8 | 104,5 | 0,50 | 103,2 | -4,91 |
| 9 | 102,5 | -1,42 | 108,4 | -0,12 |
| 10 | 109,5 | 5,31 | 104,3 | -3,90 |
| Média | 103,98 | - | 108,53 | - |

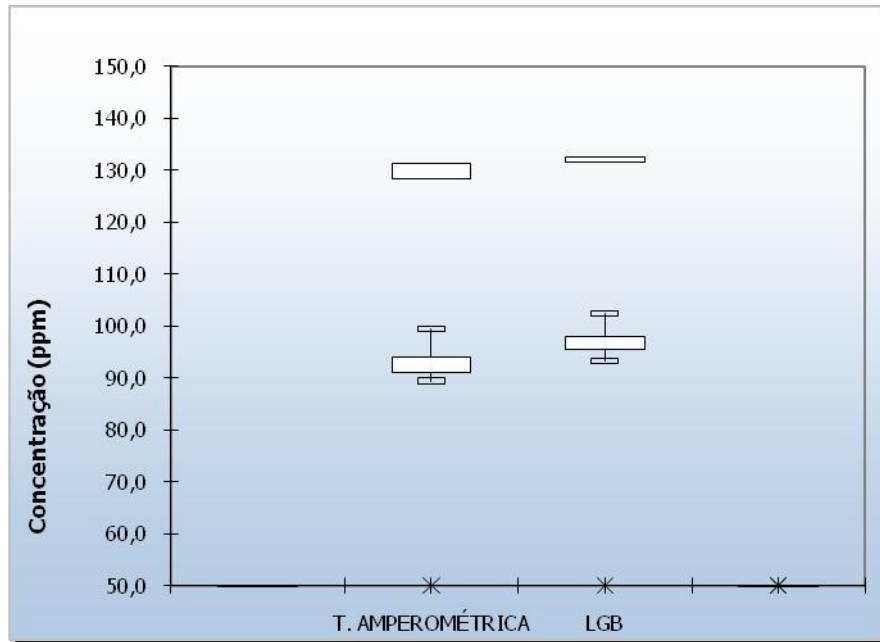


Figura 21: Variação da concentração de dióxido de cloro do experimento 11

Na figura 21 estão compilados graficamente (Box-plot) os dados do experimento 11. Vê-se que há razoável variação na maioria dos dados da metodologia LGB, somente um valor esteve muito acima da média (amostra 1) e outro muito abaixo (amostra 8). Quanto aos valores da titulação amperométrica, estes foram mais homogêneos que os da metodologia LGB, fato comprovado pelo menor desvio padrão deste conjunto de dados.

Na tabela 19 estão os dados referentes ao conjunto de dados do experimento 12 da comparação a titulação amperométrica e a metodologia LGB. Em relação aos experimentos anteriores, este apresentou as menores concentrações estimadas de dióxido de cloro. Vale ressaltar que se utilizou a mesma solução padrão concentrada ao longo de todos os experimentos de comparação. Este procedimento teve como intuito garantir que a mesma amostra, ou seja, dióxido de cloro concentrado fosse submetida a todos os testes de comparação mesmo com as diferenças na concentração. Esta diferença de concentração ficou evidente na estimativa da concentração pelas duas metodologias.

De todos os conjuntos de dados este foi o que apresentou a menor média, de 94,2 mg/l para a titulação amperométrica e 97,4 mg/l para a metodologia LGB. Logo, foi fundamental trabalhar com a mesma amostra e comparar os dados, diferenciando apenas os métodos e mantendo a mesma diluição. Na tabela 19 observa-se que as maiores concentrações estimadas foram em sua maioria, obtidas pela metodologia LGB, assim como no experimento anterior.

Tabela 19: Resultados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB (Experimento 12)

| Amostra | TA | Diferença % em relação à média | LGB | Diferença % em relação à média |
|--------------|-------|--------------------------------|--------|--------------------------------|
| 1 | 99,4 | 5,49 | 102,3 | -4,60 |
| 2 | 93,2 | -1,09 | 110,4 | 2,96 |
| 3 | 98,3 | 4,32 | 109,3 | 1,93 |
| 4 | 89,4 | -5,13 | 104,5 | -2,55 |
| 5 | 89,7 | -4,81 | 106,4 | -0,77 |
| 6 | 90,2 | -4,28 | 110,3 | 2,86 |
| 7 | 94,5 | 0,29 | 113,2 | 5,57 |
| 8 | 98,4 | 4,43 | 103,2 | -3,76 |
| 9 | 95,6 | 1,45 | 108,4 | 1,09 |
| 10 | 93,6 | -0,67 | 104,3 | -2,73 |
| Média | 94,23 | - | 107,23 | - |

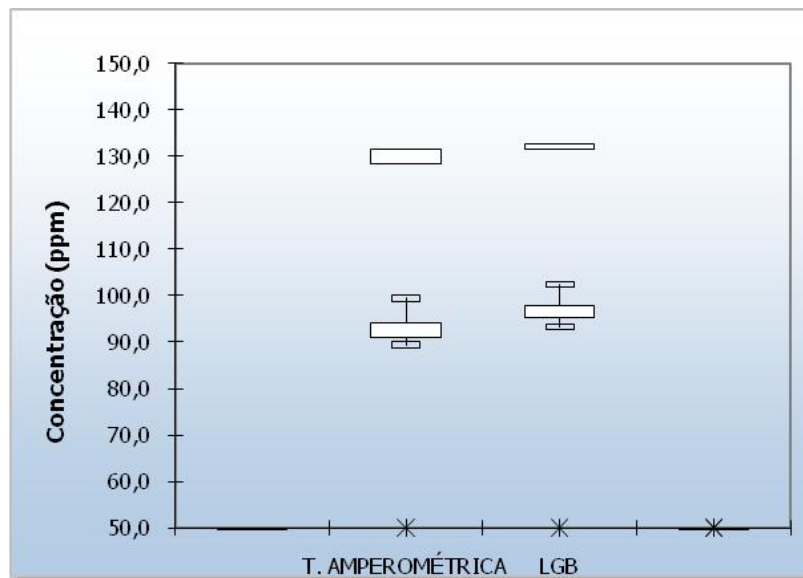


Figura 22: Variação da concentração de dióxido de cloro do experimento 12

Um detalhe interessante na tabela 20 a gradativa redução nas médias entre os experimentos, fato que reforça a hipótese da perda de amostra da solução concentrada ao se trabalhar com a mesma em dias sucessivos.

Tabela 20: Resultados comparativos entre os desvios padrões da comparação entre Titulação Amperométrica e Metodologia LGB

| Média | Titulação amperométrica | LGB |
|----------------------|--------------------------------|------------|
| Experimento 1 | 229,7 | 227,6 |
| Experimento 2 | 218,2 | 219,2 |
| Experimento 3 | 183,6 | 175,0 |
| Experimento 4 | 164,5 | 161,8 |
| Experimento 5 | 104,0 | 108,5 |
| Experimento 6 | 94,2 | 97,4 |

Vale ressaltar que houve uma perda considerável de concentração da solução padrão durante os experimentos de comparação entre a Titulação Amperométrica e metodologia LGB, da ordem de 130 ppm em média.

Na tabela 21, estão compilados todos os valores de desvio padrão dos experimentos comparativos entre a titulação amperométrica e a metodologia LGB. Nota-se que a variação entre os desvios padrões da metodologia LGB é menor em comparação dos obtidos pela titulação amperométrica, mesmo sem nenhum dos valores estar acima de 5%.

Tabela 21: Resultados comparativos entre os desvios padrões da comparação entre Titulação Amperométrica e Metodologia LGB

| Desvio Padrão | Titulação amperométrica | LGB |
|----------------------|--------------------------------|------------|
| Experimento 1 | 3,9 | 3,7 |
| Experimento 2 | 2,7 | 3,8 |
| Experimento 3 | 3,9 | 4,3 |
| Experimento 4 | 4,7 | 4,2 |
| Experimento 5 | 3,6 | 4,0 |
| Experimento 6 | 2,8 | 2,6 |

Uma maior variação no desvio padrão é atribuída a uma maior influência de erros aleatórios, já que variações maiores em torno da média são atribuídos a falhas ou erros na execução do método desconhecidas ou difíceis de serem identificadas pelo analista.

No experimento 11 os valores do coeficiente de variação tanto para titulação amperométrica como metodologia LGB foram praticamente os mesmos

Analisando os desvios padrões dos experimentos anteriores (1, 2 e 3) a comparação entre a Titulação Amperométrica e a metodologia LGB tiveram desvios padrões

bem similares. É importante citar que o número de experimentos desta última comparação foi o dobro do número de experimentos comparando o método EPA 327.0 e a metodologia LGB. Ainda assim tomando como base mesmo os menores valores de desvio padrão entre a Titulação Amperométrica e a metodologia LGB, estes são similares aos desvios dos conjuntos de dados entre método EPA 327.0 e metodologia LGB. Vale ressaltar está se comparando os 3 primeiros experimentos da Titulação Amperométrica *versus* metodologia LGB com os dados da comparação entre o método EPA 327.0 e a metodologia LGB. Esta comparação serve ilustrar o quão dispersos estão os dados nos métodos. Utilizou-se essa comparação, pois, aplicou-se o mesmo fator de diluição para ambos os experimentos comparativos.

A utilização de um mesmo fator de diluição visou atender a dois requisitos básicos. Em primeiro lugar, submeter as técnicas analíticas ao mesmo fator de diluição, ou seja, mesma condição de análise. Em segundo lugar, o fator de diluição de 1/200 garantiria que todas as concentrações analisadas estariam na faixa de análise de todos os métodos estudados.

6.5 - Uso de testes de significância na comparação entre a Titulação Amperométrica e a Metodologia LGB

Com o valor de F calculado comparou-se com o valor de F crítico de acordo com número de dados da titulação amperométrica e a metodologia LGB que, nesta situação são os mesmos. Na tabela 22 estão listados os valores de F calculado para cada conjunto de dados. O intuito foi comparar conjuntos de dados e investigar se há diferenças nas precisões entre os métodos ao nível de significância de 95%.

Nota-se que em nenhum dos conjuntos de dados difere ao nível de significância de 95%. Observando a tabela 21 nota-se que este é o conjunto de experimentos que apresenta a maior variação entre os valores de desvio padrão entre métodos. Assim a diferença significativa é justificada pelos valores apresentados pelo desvio padrão pois, no cálculo do teste F são utilizadas as variâncias que nada mais é que o desvio padrão ao quadrado. No experimento 8 observa-se que a média (tabela 20) são similares mas os desvios padrões foram bastante diferentes (tabela 21). Importante citar que, mesmo as médias sendo similares, isso não interfere na precisão quando se comparam métodos, ou seja, o teste F avalia se os possíveis erros randômicos comprometeram ou não um dado conjunto de dados. Vale frisar que em um mesmo conjunto os erros podem se distribuir em torno da média e assim, avaliar métodos primeiramente pela média pode tornar-se na avaliação comparativa entre métodos.

Tabela 22: Resultados do teste F dos dados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB

| Dia | Desvio Padrão Titulação Amperométrica | Desvio Padrão LGB | F | F crít |
|-----|---------------------------------------|-------------------|------|----------|
| 1 | 3,9 | 3,7 | 0,90 | 2,978 |
| 2 | 2,7 | 3,8 | 1,98 | |
| 3 | 3,9 | 4,3 | 1,22 | |
| 4 | 4,7 | 4,2 | 0,80 | |
| 5 | 3,6 | 4 | 1,23 | |
| 6 | 2,8 | 2,6 | 0,86 | |

Tabela 23: Resultados do teste F (Variância e precisão intermediária) dos dados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB

| Variável Estatística | Titulação Amperométrica | LGB | F | F crít |
|----------------------|-------------------------|----------|------|----------|
| MSd | 32170,29 | 29461,16 | | |
| MSe | 13,67 | 15,09 | | |
| S_r^2 | 13,69 | 15,09 | 1,10 | 2,27 |
| S_f^2 | 3215,662 | 2944,607 | 0,92 | |
| $S_{I(T)}^2$ | 3229,33 | 2959,70 | 0,92 | |

O teste T foi aplicado para que se pudesse investigar a hipótese nula, ou seja, de que não diferenças significativas entre os métodos ao nível de significância de 95%. É importante destacar que os valores de F crítico encontrados na tabela 16 referem-se ao teste T “two tail”, pois, não se sabe os valores obtidos estão acima ou abaixo da média verdadeira. Nesta mesma tabela observam-se os valores de T calculado para os conjuntos de dados dos experimentos comparativos entre a titulação amperométrica e a metodologia LGB.

Nota-se que somente nos experimentos 9, 11 e 12 os dados diferem significativamente ao nível de significância de 95%. Vale lembrar que anteriormente que em nenhum dos dados do experimento 8 apresentou diferença significativa quanto a precisão, considerando a hipótese nula de que, o método alternativo (LGB) possui precisão semelhante ao método normatizado (EPA 327.0). No entanto, quanto a exatidão, utilizando o teste T diferenças significativas foram constatadas.

No caso dos experimentos 9,11 e 12, estes apresentam precisões similares, mas diferem significativamente quanto a acurácia entre os conjuntos de dados. No caso da

acurácia, 4 dos 6 experimentos não diferiram significativamente, ou seja, comparando estas informações vê-se que na maioria dos experimentos a titulação amperométrica e a metodologia LGB tiveram precisões similares e quanto a acurácia também observou-se que na maioria dos experimentos, a metodologia LGB não diferiu sinificativamente ao nível de significância de 95%.

Tabela 24: Resultados do teste T dos dados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB

| Teste T | $ T $ calculado | T crítico |
|-----------------------|--------------------|-----------|
| Experimento 7 | 1,30 | 2,10 |
| Experimento 8 | 0,66 | |
| Experimento 9 | 4,64 | |
| Experimento 10 | 1,33 | |
| Experimento 11 | 2,68 | |
| Experimento 12 | 2,14 | |

Outro detalhe a ser destacado é que em testes de significância não se leva em consideração o sinal obtido pelo valor de T calculado. Um teste aplicado, em conjunção aos testes anteriores, foi o Teste de Ponto de Hipótese, onde se avalia se a tendência apresentada pelo método alternativo é aceitável ou não em comparação a um valor crítico de t na distribuição de *Student*. Na tabela 17, estão listados o valor de T calculado e o valor crítico, se acordo com os graus de liberdade utilizados na equação. A tendência entre o método LGB e o método EPA 327.0 é aceitável pois, $t_{cal} \leq t_{\alpha/2}; v_d$. Esse fato é interessante pois, apesar de o Teste T indicar erros sistemáticos nos experimentos em 3 dos experimentos, isto não indicou que a tendência observada entre os métodos, estivesse além de um valor crítico. Vale ressaltar também que, mesmo a dispersão considerável, tanto nos valores absolutos de concentrações estimadas, quanto na variação em torno da média, não evidenciou que a precisão e a acurácia entre os métodos, fosse prejudicada.

Tabela 25: Resultados do teste de ponto de Hipótese dos dados comparativos entre as metodologias Titulação Amperométrica e LGB

| TESTE DE HIPÓTESE | |
|--------------------------|---------|
| <i>Sp</i> | 3081,57 |
| <i>Sd</i> | 513 |
| <i>Tcal</i> | 0,0015 |
| <i>Tcrít</i> | 2,23 |

Apesar de representar resultados confusos, a dispersão observada quanto a amplitude entre as variações em torno da média para ambas as metodologias, quando comparada a observação dos dados nos gráficos Box-plot, é que as variações em torno da média são valores relativos. Diferente dos gráficos, que consideram quantos valores absolutos está acima ou abaixo da mediana, e acima do Q_{25} e do Q_{75} . Ou seja, as amplitudes observadas nos desvios em relação à média possam ou não coincidir com as observações dos gráficos Box-plot.

6.6 - Comparação entre os fatores de diluição utilizando Titulação Amperométrica

A diluição em muitos processos de análise é um procedimento experimental bastante comum. A comparação entre fatores de diluição visou-se investigar a variância entre o efeito da diluição para uma mesma amostra e uma mesma metodologia. O teste estatístico utilizado foi Anova *one-way*, pois há apenas uma variável dependente, o fator de diluição. Esses fatores de diluição foram escolhidos, pois mesmo que uma solução matriz tenha uma concentração da ordem de 300 mg/l ou mais, com as diluições aplicadas a amostra diluída estaria dentro da faixa de análise do titulador amperométrico.

A diluição foi ajustada no próprio aparelho que permite que sejam feitas mudanças tais como alteração de volume da amostra e fator de diluição caso a amostra seja bastante concentrada. Na tabela 26 estão os valores de concentração de dióxido de cloro utilizando os fatores de diluição 1/100, 1/200 e 1/250, tendo como matriz a solução padronizada de dióxido de cloro mais concentrada.

Vale ressaltar que o foco desta etapa era avaliar se a diluição poderia fazer com que houvesse diferenças significativas ao nível de significância de 5%. Os valores apresentados estão bem próximos e uma amplitude entre 92,6 ppm (fator 1/200) e 114,5 ppm (fator 1/250). Esta amplitude corresponde a uma diferença de 21,9 ppm. Todos os valores listados variaram entre aproximadamente 93 e 115 ppm. Outro fator importante a ser destacado é, que as amostras foram preparadas sequenciadas, ou seja, cada amostra era preparada com o fator de diluição a ser analisado.

Tabela 26: Dados comparativos entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica (Experimento 13)

| Fatores de diluição | | | | | | |
|---------------------|-------------|-------------------------------|-------------|-------------------------------|-------------|-------------------------------|
| Amostra | 1/100 (ppm) | Desvio em relação à média (%) | 1/200 (ppm) | Desvio em relação à média (%) | 1/250 (ppm) | Desvio em relação à média (%) |
| 1 | 112,3 | 7,75 | 99,5 | -3,19 | 98,4 | -6,92 |
| 2 | 109,4 | 4,97 | 99 | -3,68 | 102,3 | -3,23 |
| 3 | 99,5 | -4,53 | 102,6 | -0,18 | 105,4 | -0,30 |
| 4 | 98,6 | -5,39 | 103,1 | 0,31 | 108,2 | 2,35 |
| 5 | 105,6 | 1,32 | 98,4 | -4,26 | 112,6 | 6,51 |
| 6 | 104,2 | -0,02 | 92,6 | -9,90 | 114,5 | 8,30 |
| 7 | 105,8 | 1,52 | 110,3 | 7,32 | 103,5 | -2,10 |
| 8 | 97,9 | -6,06 | 113,5 | 10,43 | 100,8 | -4,65 |
| 9 | 101,6 | -2,51 | 105,3 | 2,45 | 102,6 | -2,95 |
| 10 | 107,3 | 2,96 | 103,5 | 0,70 | 108,9 | 3,01 |
| Média | 104,22 | x | 102,78 | x | 105,72 | x |

Na tabela 26, nota-se que os valores das concentrações diferiram em torno da média entre aproximadamente -6% e 8% na diluição 1/100, enquanto que na diluição 1/200 estes valores variaram entre 10% e 10,5% em torno da média. Na diluição 1/250, a variação esteve entre -7% e 6,5%. Nota-se que a diluição que apresentou a menor amplitude quanto a variação em torno da média foi a diluição 1/100, ou seja, a solução menos diluída. Na figura 23, estão representadas graficamente as variações das concentrações obtidas pelos fatores de diluição estudados. A diluição 1/200 foi a que apresentou o maior valor mediano, enquanto que as outras diluições, 1/100 e 1/250, apresentaram variações maiores acima do valor mediano, ou seja, acima da mediana os valores estavam mais dispersos.

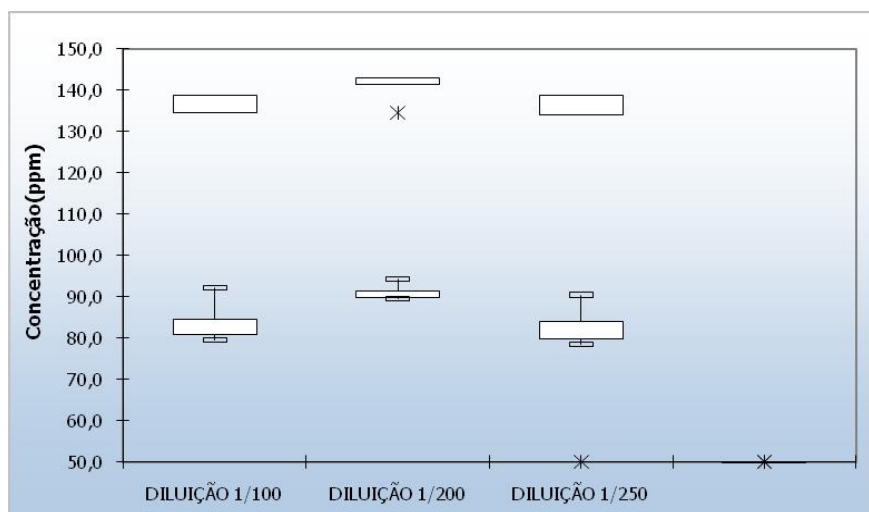


Figura 23: Variação da concentração de dióxido de cloro no experimento 13

Logo após a solução concentrada de dióxido de cloro era estocada ao abrigo da luz e na geladeira para evitar perdas por volatilização. Tal procedimento visou minimizar as perdas de concentração da solução padrão. Os experimentos comparativos entre os fatores de diluição foram realizados em dias consecutivos, assim como nos experimentos anteriores.

Na tabela 18 estão apresentados os dados do experimento 14 de comparação entre os fatores de diluição. A mesma metodologia anterior foi utilizada para este experimento. No entanto, devemos frisar que um ponto em especial foi desenvolvido durante a pesquisa ao utilizar a titulação amperométrica. A adição do titulante foi controlada, sendo programada diretamente no aparelho seguindo as recomendações do fabricante, de forma ser reduzido o volume de titulante adicionado. Tal procedimento foi adotado em todos os experimentos comparativos dos fatores de diluição. Este procedimento visou diminuir o ruído do aparelho que, prejudicava a obtenção de uma boa curva de titulação pelo aparelho.

A curva de titulação apresentada na interface digital do aparelho é Corrente x Volume de titulante, tal como reproduzida na figura 24. O ajuste para o cálculo do volume correspondente ao ponto final de cada etapa da titulação pode ser feito de forma automática ou manual. O fabricante sugere que o ajuste seja feito de forma manual para que as medidas sejam mais confiáveis. Nesse sentido, o fabricante recomenda no manual de instruções que a porção da curva antes e depois seja a mais linear possível para que o aparelho possa reconhecer e calcular de forma o volume correspondente ao ponto final.

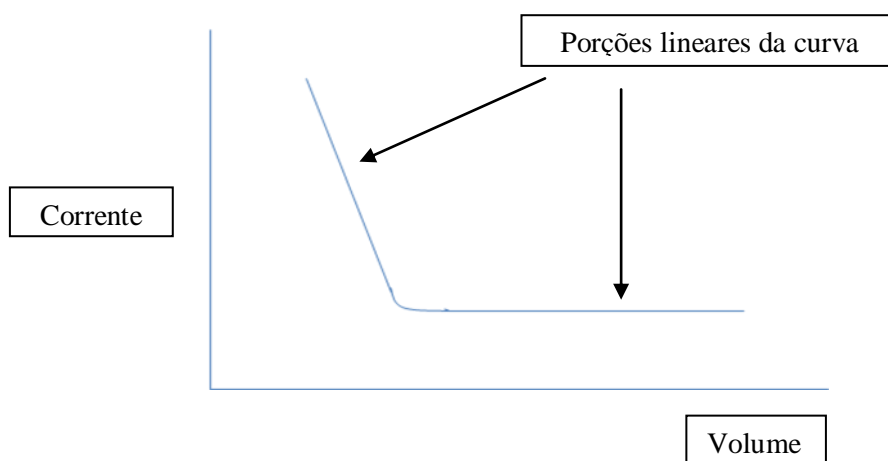


Figura 24: Gráfico genérico de Titulação amperométrica.

Existem funções que selecionam a melhor porção da curva obtida para os cálculos do volume correspondente ao ponto final. Dessa forma, o aparelho fornece volume do ponto final e ao final de todas as etapas calcula a concentração de dióxido de cloro presente na amostra, como explicitado no procedimento da titulação amperométrica. Os valores de concentração do experimento 14 não foram muito inferiores aos do experimento anterior, estando em torno de 90 mg/l e 112 mg/l, tendo uma amplitude de aproximadamente 22 mg/l.

Na tabela 27 é possível notar que, a diluição 1/100 variou em torno da média entre aproximadamente -7% e 10%, enquanto que na diluição 1/200 a variação foi entre -10% e 9% em torno da média e na diluição 1/250 foi entre -5% e 11%, ou seja, a maior amplitude entre as variações em torno da média foi nas diluições 1/100 e 1/200, ou seja, estes foram os dados mais dispersos em torno da média de cada diluição analisada.

Tabela 27: Dados comparativos entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica (Experimento 14)

| Fatores de diluição | | | | | | |
|----------------------------|------------------------|----------------------------------------------|------------------------|----------------------------------------------|------------------------|----------------------------------------------|
| Amostr a | 1/100 (ppm) | Desvio em relação à média (%) | 1/200 (ppm) | Desvio em relação à média (%) | 1/250 (ppm) | Desvio em relação à média (%) |
| 1 | 95,6 | -6,87 | 99,4 | -1,58 | 95,6 | -5,24 |
| 2 | 103,4 | 0,73 | 100,5 | -0,50 | 99,4 | -1,48 |
| 3 | 100,2 | -2,39 | 103,5 | 2,48 | 98,7 | -2,17 |
| 4 | 97,4 | -5,11 | 102,5 | 1,49 | 103,5 | 2,59 |
| 5 | 102,9 | 0,24 | 98,4 | -2,57 | 103,7 | 2,79 |
| 6 | 102,3 | -0,34 | 90,4 | -10,50 | 112,4 | 11,41 |
| 7 | 109,5 | 6,67 | 103,7 | 2,67 | 97,5 | -3,36 |
| 8 | 97,2 | -5,31 | 110,3 | 9,21 | 95,8 | -5,05 |
| 9 | 112,3 | 9,40 | 102,7 | 1,68 | 98,5 | -2,37 |
| 10 | 105,7 | 2,97 | 98,6 | -2,38 | 103,8 | 2,88 |
| Média | 102,65 | x | 101,00 | x | 100,89 | x |

Na figura 25, estão compilados os dados das concentrações estimadas para cada diluição estudada, em gráficos Box-plot. Nota-se que, a variação foi muito similar em comparação aos dados do experimento anterior (tabela 17). A diluição 1/100 e 1/250 apresentaram os dados mais dispersos em torno da mediana, enquanto que na diluição 1/200, os dados estiveram todos próximos em torno da mediana.

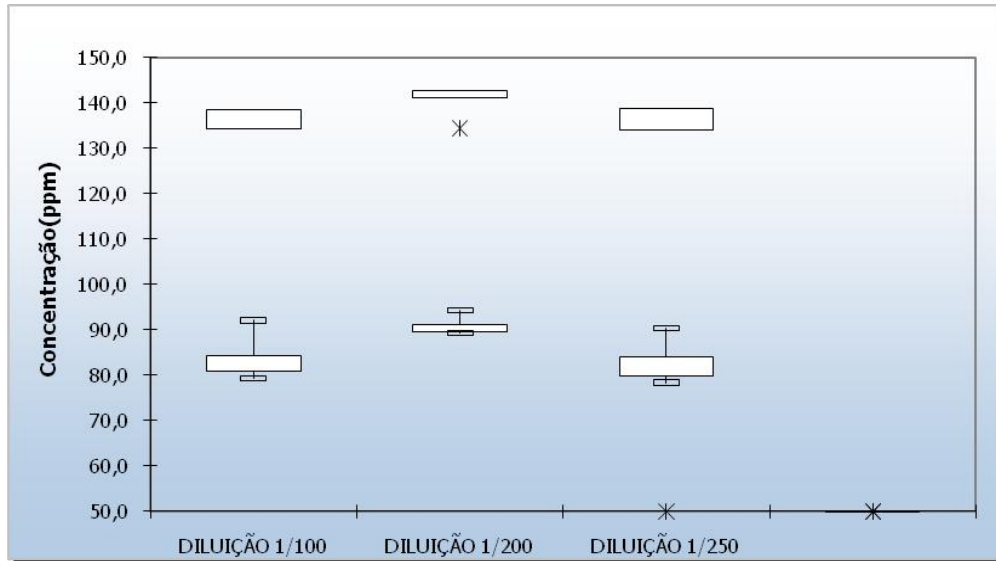


Figura 25: Variação da concentração de dióxido de cloro no experimento 14

Os dados do experimento 15 estão listados na tabela 28. Nela é possível observar que há uma considerável diminuição nas concentrações estimadas por todos os fatores de diluição, ou seja, não somente um fator de diluição apresentou uma concentração estimada menor. Em teoria, quanto maior a diluição ou mais sucessivas as diluições aumenta-se a probabilidade de perda de amostra. A utilização de fatores de diluição da ordem utilizada deve-se a dois fatores.

O primeiro fator foi que o aparelho, em experimentos preliminares não conseguia calcular de forma adequada o volume do ponto final de cada titulação, pois, o nível de ruído observado em cada curva era muito grande dificultando a estimativa de uma boa curva para os cálculos. O outro fator é que a possibilidade perda de amostra era maior pois, uma amostra menos concentrada era preparada para os cálculos. Os fatores de diluição utilizados conseguiram estimar a concentração, pois, mesmo a uma concentração de aproximadamente de 90 mg/l e diluindo a amostra 250 vezes teríamos uma concentração teórica de aproximadamente 0,4 mg/l, valor que representa 4 vezes o limite de detecção do método informado pelo fabricante do equipamento.

Na tabela 28 observa-se que o menor valor estimado foi de 80,4 mg/l e o maior foi 102,1 mg/l, correspondendo aos fatores de diluição 1/250 e 1/200 respectivamente. Isto corresponde a uma amplitude de aproximadamente 22 ppm entre as análises realizadas, valor maior que o conjunto de dados do experimento anterior.

Os dados mais dispersos, em relação à média de cada diluição, correspondem a diluição 1/250. Este fator de diluição variou entre -11,5% e 2,7%. Na diluição 1/100, as

concentrações estimadas variaram entre aproximadamente -3,7% e 6% em torno da concentração média estimada. A diluição apresentou concentrações variando em torno da média entre -7% e 5%, sendo uma variação similar ao da diluição 1/250.

Tabela 28: Dados comparativos entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica (Experimento 15)

| Fatores de diluição | | | | | | |
|---------------------|-------------|-------------------------------|-------------|-------------------------------|-------------|-------------------------------|
| Amostra | 1/100 (ppm) | Desvio em relação à média (%) | 1/200 (ppm) | Desvio em relação à média (%) | 1/250 (ppm) | Desvio em relação à média (%) |
| 1 | 89,4 | -3,71 | 92,3 | 0,14 | 87,5 | -3,69 |
| 2 | 90,5 | -2,52 | 94,3 | 2,31 | 80,4 | -11,50 |
| 3 | 95,4 | 2,76 | 95,5 | 3,61 | 90,5 | -0,39 |
| 4 | 97,4 | 4,91 | 96,7 | 4,91 | 92,5 | 1,82 |
| 5 | 89,4 | -3,71 | 91,2 | -1,05 | 94,3 | 3,80 |
| 6 | 92,3 | -0,58 | 90,7 | -1,59 | 92,4 | 1,71 |
| 7 | 90,5 | -2,52 | 85,7 | -7,02 | 94,3 | 3,80 |
| 8 | 95,6 | 2,97 | 86,9 | -5,72 | 90,3 | -0,61 |
| 9 | 89,5 | -3,60 | 89,8 | -2,57 | 93,1 | 2,48 |
| 10 | 98,4 | 5,99 | 98,6 | 6,98 | 93,2 | 2,59 |
| Média | 92,84 | x | 92,17 | x | 90,85 | x |

Na figura 26 estão os dados do experimento 15, em função da dispersão em torno da mediana. Como nos experimentos anteriores, a dispersão é muito similar em relação aos experimentos anteriores (13 e 14), com a diluição 1/100 e 1/250 apresentando os valores mais dispersos em relação a mediana.

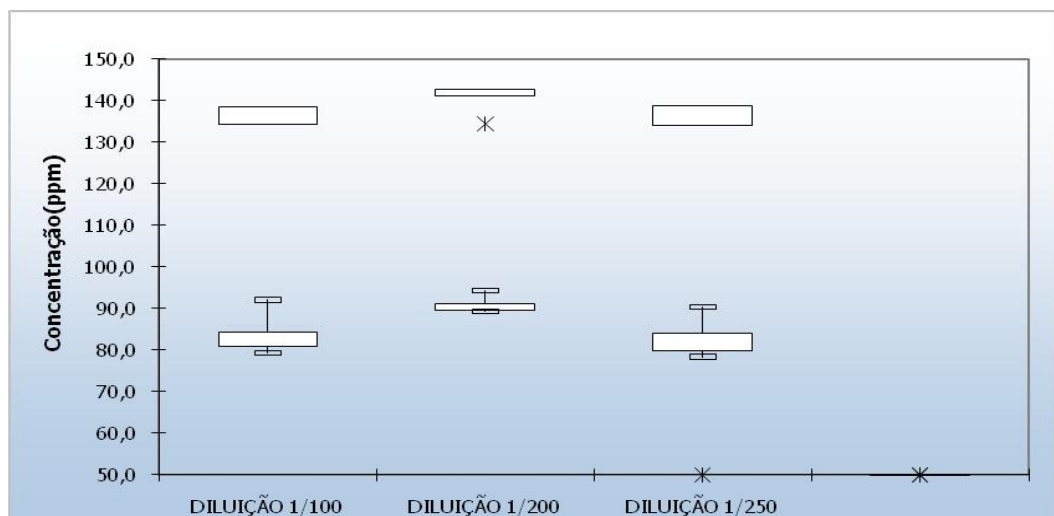


Figura 26: Variação da concentração de dióxido de cloro no experimento 15

Na tabela 19 não nota-se uma diferença marcante entre as concentrações, apesar de as concentrações serem menores que no experimento anterior. Logo vê-se que do experimento anterior para este houve uma perda de concentração da solução padrão mais concentrada. O fato que apoia a afirmativa é que todos os fatores de diluição obtiveram valores semelhantes na estimativa da concentração de dióxido de cloro.

Os dados da última batelada de experimentos comparativos entre os fatores de diluição estão listados na tabela 29. Nesta última rodada de análises observa-se uma maior variação entre as concentrações estimadas.

Tabela 29: Dados comparativos entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica (Experimento 16)

| Fatores de diluição | | | | | | |
|---------------------|----------------|------------------------------|----------------|------------------------------|----------------|------------------------------|
| Amostr a | 1/100 (ppm) | Desvio em relação à média | 1/200 (ppm) | Desvio em relação à média | 1/250 (ppm) | Desvio em relação à média |
| 1 | 82,4 | -2,91 | 91,3 | 0,43 | 79,5 | -5,56 |
| 2 | 86,3 | 1,68 | 94,3 | 3,73 | 86,5 | 2,76 |
| 3 | 80,4 | -5,27 | 93,2 | 2,52 | 83,6 | -0,69 |
| 4 | 79,4 | -6,45 | 89,4 | -1,66 | 90,4 | 7,39 |
| 5 | 92,1 | 8,52 | 84,5 | -7,05 | 89,4 | 6,20 |
| 6 | 90,4 | 6,52 | 89,4 | -1,66 | 79,4 | -5,68 |
| 7 | 85,4 | 0,62 | 91,2 | 0,32 | 78,4 | -6,87 |
| 8 | 83,5 | -1,61 | 93,9 | 3,29 | 80,6 | -4,25 |
| 9 | 89,4 | 5,34 | 90,4 | -0,56 | 84,5 | 0,38 |
| 10 | 79,4 | -6,45 | 91,5 | 0,65 | 89,5 | 6,32 |
| Média | 84,87 | x | 90,91 | x | 84,18 | x |

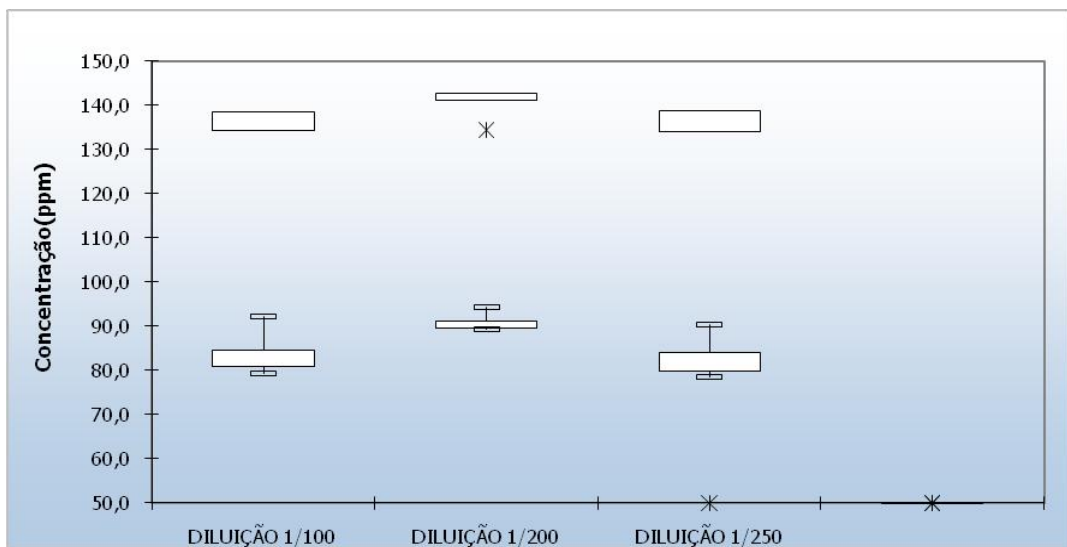


Figura 27: Variação da concentração de dióxido de cloro no experimento 16

Apesar da variabilidade entre as concentrações, este conjunto de amostras apresentou uma menor amplitude que os outros 3 experimentos anteriores, de apenas 14,5 mg/l. A pequena amplitude não representa homogeneidade nos dados, apenas mostra o quanto variou as medidas realizadas.

Na tabela 30 estão os dados das médias entre todos os experimentos comparativos entre os fatores de diluição. O experimento com a maior diferença entre as médias foi o experimento 16, sendo este também com os menores valores de concentração. O fato de o último experimento apresentar as menores não foi novidade na pesquisa, visto que, a perda por volatilização no manuseio da amostra é bastante difícil de ser evitado, podendo ser minimizado com acomodação da solução padrão em ambiente refrigerado. No entanto, o foco da pesquisa não foi comparar as concentrações entre experimentos sucessivos e sim entre os fatores de diluição em um mesmo dia de amostragem.

Tabela 30: Dados comparativos entre as médias dos fatores de diluição para a Titulação Amperométrica

| Média | Diluição 1/100 | Diluição 1/200 | Diluição 1/250 |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Experimento 13 | 104,2 | 102,8 | 105,7 |
| Experimento 14 | 102,7 | 101,0 | 100,9 |
| Experimento 15 | 92,8 | 92,5 | 90,9 |
| Experimento 16 | 84,9 | 90,9 | 84,2 |

Interessante notar que nesse experimento teve-se a menor amplitude entre as concentrações estimadas mas a maior variação entre as médias. Ou seja, uma amplitude menor não significa que os dados estejam mais homogêneos. A menor variação entre as médias foi no experimento 13 de apenas 1,5 ppm.

A tabela 22 mostra um fato interessante do ponto de vista estatístico. O conjunto de dados do experimento 16 apresentou menor amplitude e o desvio padrão também teve valores menores que dos outros experimentos. No experimento 13 para a diluição 1/200 apresentou-se o maior desvio padrão, ou seja, este foi o conjunto de dados menos homogêneo da comparação entre todos os fatores de diluição.

Tabela 31: Dados comparativos entre desvios padrões dos fatores de diluição para a Titulação Amperométrica (Experimento 16)

| Desvio Padrão | Diluição 1/100 | Diluição 1/200 | Diluição 1/250 |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Experimento 13 | 4,8 | 6,0 | 5,2 |
| Experimento 14 | 5,4 | 5,1 | 5,1 |
| Experimento 15 | 3,5 | 4,9 | 4,2 |
| Experimento 16 | 4,6 | 2,8 | 4,6 |

No caso da diluição 1/200, esta obteve a menor variação na estimativa das concentrações no experimento 16. O experimento 14 foi o que alcançou a menor variação entre os desvios padrões. Isto é importante, pois, representa que os erros aleatórios foram os mesmos longo do estudo de todos os fatores de diluição, mesmo neste experimento os desvios padrões tenham estado acima de 5, sabe-se que os erros randômicos foram os mesmos. Diferente do experimento 16 que apresentou a maior variação entre os desvios padrões, ou seja, um erro aleatório que possa ter se manifestado em uma diluição não foi o mesmo nas outras diluições. Isto dificulta ainda mais a identificação de possíveis erros aleatórios para o analista.

O coeficiente de variação também foi estudado para estes conjuntos de dados. Esta variável também como o desvio padrão informa variações em torno da média verdadeira. O experimento que teve o maior coeficiente de variação foi o experimento 13 para a diluição 1/200. Este conjunto de dados também apresentou o maior valor quanto ao desvio padrão entre todos os conjuntos de dados. O menor coeficiente de variação foi no experimento 16 para a diluição 1/200 e este também foi o menor valor dentre todos os desvios padrões nestes experimentos comparativos para os fatores de diluição. Apesar do experimento 16 ter apresentado a menor amplitude entre os valores de concentração de dióxido de cloro e a maior variação entre as médias, obteve o conjunto de dados mais homogêneo referente a diluição 1/200.

Tabela 32: Coeficientes de variação entre os fatores de diluição da Titulação Amperométrica (em sequência por batelada)

| Coeficiente de Variação | Diluição 1/100 | Diluição 1/200 | Diluição 1/250 |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Experimento 13 | 4,6 | 5,8 | 4,9 |
| Experimento 14 | 5,3 | 5,0 | 5,1 |
| Experimento 15 | 3,8 | 5,3 | 4,6 |
| Experimento 16 | 5,4 | 3,1 | 5,5 |

6.7 - Utilização do teste ANOVA *One-Way* para os fatores de diluição

A utilização do teste estatístico é bastante comum quando se deseja comparar metodologias analíticas. Pode ser utilizada também quando se quer comparar desempenhos de diferentes analistas ou diferentes condições de análise. No caso trabalho desenvolvido, este teste tem o intuito de investigar diferentes condições de análise nos conjuntos de dados, ou seja, a variação nos fatores de diluição. Como a estimativa deste conjunto de concentrações foi realizada pelo mesmo analista, organiza-se uma tabela ANOVA *one-way*.

Caso utilize-se, outro analista e diferentes condições de análise ou diferente metodologias, teria de ser feita uma tabela ANOVA “*two way*”. Nos experimentos notou-se que houve uma variação pronunciável nos desvios padrões do experimento 16, No entanto, quando em um mesmo experimento temos variações parecidas nos desvios padrões significa que os erros aleatórios se propagaram da mesma forma, ou seja, errou-se da mesma forma e isto dependendo da frequência vem a tornar-se um erro sistemático, onde o analista já tem condições de identificar mais facilmente.

Na tabela 33 estão listadas os valores de F calculado para cada experimento comparativo entre os fatores de diluição. Dentre todos os experimentos o único que ficou acima do F crítico foi o experimento 16. Assim confirma-se a hipótese inicial na discussão do teste ANOVA *one-way*, os erros aleatórios neste experimento foram tão perceptíveis que o conjunto de dados foi significativamente diferente ao nível de significância de 5%.

Tabela 33: Dados comparativos de teste ANOVA fator único entre os fatores de diluição para a Titulação Amperométrica

| Anova Fator Simples | F Calculado | F crítico |
|-----------------------|-------------|-----------|
| Experimento 13 | 0,750 | 3,354 |
| Experimento 14 | 0,360 | 3,354 |
| Experimento 15 | 0,637 | 3,354 |
| Experimento 16 | 8,104 | 3,354 |

O experimento 14 apesar de ter tidos valores de desvio padrão (tabela 31) mais elevados não foi significativamente diferente pois, o analista “errou” aleatoriamente praticamente da mesma maneira em todos os fatores de diluição. Prova disso é que o valor do F calculado para o experimento 14 foi o menor dentre todos F dos experimentos. No experimento 13 também houve certa variação nos valores dos desvios padrões mas, isto não causou diferenças significativas ao nível de significância de 5%, apesar deste conjunto de

experimentos ter apresentando o maior desvio padrão dentre todos os experimentos. O desvio padrão guarda uma íntima relação com o teste ANOVA pois, o que se utiliza para o cálculo da tabela são as variâncias, ou seja, o desvio padrão ao quadrado. Apesar do experimento 16 ter apresentado a menor amplitude entre os valores de concentração (tabela 20), isto mostrou apenas que a amplitude é uma medida absoluta e que, o desvio padrão é que dá maiores informações quanto a precisão do método e distanciamento da média verdadeira.

Com o intuito de comparar somente entre os fatores de diluição do experimento que diferiu significativamente ao nível de significância de 5%, organizou-se uma tabela ANOVA *one-way* comparando os valores dos fatores de diluição do experimento 16. Observa-se que o fator de diluição é o único fator de diluição que se diferencia significativamente dos outros dois fatores de diluição. Assim nota-se que o fator de diluição 1/200 que antes no experimento 13 havia apresentado o maior desvio padrão (tabela 22) também diferiu de forma significativa ao compararmos somente dentro de um mesmo experimento. Um fato interessante, pois esta diluição foi a utilizada para fins comparativos entre a titulação amperométrica e a metodologia LGB. Logo a diluição não constituiu um fator que apresentasse diferenças significativas ao nível de significância de 95%, entre todos os fatores de diluição estudados neste experimento.

7 – CONCLUSÕES

- O Teste F quando aplicado as metodologias EPA 327.0 e LGB mostrou que os conjuntos de dados não diferiam significativamente ao nível de confiança estipulado para o trabalho, 95%, sendo analisado tanto a repetibilidade dos métodos quanto a precisão intermediária;
- A metodologia EPA 327.0 e a LGB apresentaram padrão de dispersão similar em torno da mediana, apesar de o método 327.0 ter apresentado dados mais dispersos, fato evidenciado pela análise dos gráficos Box-plot, tendo tido inclusive a presença de *outliers*, no conjunto de dados;
- Os valores de coeficiente de variação obtidos em ambos os métodos também estiveram dentro do valor máximo estipulado no método EPA 327.0 que é de 20%, fato que mostrou que a metodologia LGB obteve uma variabilidade similar ao método normatizado;
- A metodologia LGB apresentou acurácia similar ao método EPA 327.0, fato evidenciado pelo teste T e o Teste de Ponto de Hipótese, sendo o último também utilizado para avaliar se a tendência entre os métodos é aceitável, sendo que a tendência entre os métodos esteve dentro do aceitável ao nível de significância de 95%;
- A recuperação obtida pelos métodos EPA 327.0 e LGB esteve dentro da faixa recomendada (70-130%) para concentrações acima de 0,5 mg/l, sendo que os valores de recuperação estudados foram os mesmos para ambas as metodologias;
- A comparação da titulação amperométrica com a metodologia LGB através do teste F mostrou que, o método LGB não apresentou precisão pior que o a titulação amperométrica, método normatizado, ao se avaliar a variância da repetibilidade e a precisão intermediária no mesmo nível de concentração;
- A metodologia LGB apresentou acurácia similar a titulação amperométrica, fato evidenciado pelos resultados do teste de Ponto de Hipótese e o teste T mostrou que não houve erros sistemáticos que mostrassem que os dados entre a titulação amperométrica e a metodologia LGB diferissem significativamente ao nível de 95%;
- A metodologia que apresentou o maior custo foi a titulação amperométrica por conta da aquisição do equipamento, mas em termos de reagentes foi a metodologia EPA 327.0;
- A comparação entre as metodologias referenciadas e a metodologia LGB serviu como estudo do comportamento frente a métodos normatizados;

- A metodologia de mais simples execução foi a metodologia LGB, sendo seu procedimento experimental executado em aproximadamente 7 minutos;
- A metodologia LGB (Lissamine Green B) apresentou-se como a mais viável tanto em tempo de execução (7 minutos) em relação às outras, método EPA demorou em torno de 35 minutos e a titulação amperométrica em torno de 45 minutos. Além disso, o método LGB é o mais barato considerando-se as análises individuais.

8 – RECOMENDAÇÕES

- Estudos de interferentes tais como clorito e clorato em diversas concentrações devem ser realizados para as metodologias LGB e EPA 327.0 de acordo com as características da rota sintética utilizada pelo gerador comercial de dióxido de cloro;
- Realizar um protocolo de validação com a metodologia LGB entre diferentes laboratórios com profissionais treinados para a execução desta técnica, para avaliar a reprodutibilidade da metodologia LGB;
- Aplicar testes de interferência do cloro livre para a metodologia EPA 327.0;
- Realizar testes de interferência de cloro livre em concentrações maiores que os utilizados pelos idealizadores da metodologia LGB;
- Avaliar a capacidade de operação do titulador amperométrico em diferentes etapas do tratamento de água, analisando concentrações dos sub-produtos da desinfecção com dióxido de cloro;
- Realizar treinamento específico para a titulação amperométrica, visto ser uma técnica automatizada que exige certo nível operacional para o analista;

9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUS, Eva; VOUTCHKOV, Nikolay; SEDLAK, David L. **Disinfection by- products and their potential impact on the quality of water produced by desalination systems: A literature review.** *Desalination*, v. 237, p. 214 – 237, 2009.

AIETA, E. MARCO; ROBERTS, Paul V.; HERNÁNDEZ, Margarita. **Determination of Chlorine Dioxide, Chlorine, Chlorite, and Chlorate in Water.** *Journal of the American Water Works Association*, v. 76, p. 64 – 70, 1984.

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.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 21st ed. Washington, 2005.

ARAÚJO, Pedro. **Key Aspects of Analytical Method Validation and linearity Evaluation.** *Journal of Chromatography B*, 877 (2009) 2224-2234.

BARBEAU, Benoit; DESJARDINS, Raymond; MYSORE, Chandra; PRE´VOST, Michele. **Impacts of water quality on chlorine and chlorine dioxide efficacy in natural waters.** *Water Research*, v. 39, p. 2024 – 2033, 2005.

BRASIL. **Ministério da Saúde**, Portaria nº 518, 2004.

CHANG, Chen-Yu; HSIEH, Yung-Hsu; HSU, Sheng-Sheng; HU, Po-Yu; WANG, Kuo-Hua. **The formation of disinfection by-products in water treated with chlorine dioxide.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 79, p. 89 – 102, 2000.

CHAURET, Christian P.; RADZIMINSKI, Chris Z.; LEPUIL, Michael; CREASON, Robin; ANDREWS, Robert C. **Chlorine dioxide inactivation of *Cryptosporidium Parvum* Oocysts and bacterial spore indicators,** *Applied and Environmental Microbiology*, v. 67, n. 7, p. 2993 – 3001, 2001.

CHISWELL, B.; O'HALLORAN, K. R., **Use of Lissamine Green B as a Spectrophotometric Reagent for the Determination of Low Residuals of Chlorine Dioxide.** *Analyst*, v. 116, p. 657 – 661, 1991.

CHUESAARD, Thanyarat *et al.* **Reversed Flow Injection Spectrophotometric Determination of Chlorate.** *Talanta* 79 (2009) 1181-1187.

COOPER, William J.; JONES, Adam C.; WHITEHEAD, Robert F.; ZIKA, Rod G. **Sunlight-Induced Photochemical Decay of Oxidants in Natural Waters: Implications in Ballast Water Treatment.** *Environmental Science & Technology*, v. 41, p. 3728 – 3733, 2007.

CSORDÁS, Viktor; BUBNIS, Bernie; FABIÁN, István; GORDON, Gilbert. **Kinetics and Mechanism of Catalytic Decomposition and Oxidation of Chlorine Dioxide by the Hypochlorite Ion.** *Inorganic Chemistry*, v. 40, p. 1833 – 1836, 2001.

D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. De Jong, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A*, Elsevier, Amsterdam, 1997.
DESHWAL, B.R.; LEE, H.-K. “**Kinetics and mechanism of chloride based chlorine dioxide generation process from acidic sodium chlorate**”, *Journal of Hazardous Materials*, v. 108, p. 173 – 182, 2004.

DING, Jie *et al.* **Release and Removal of Microcystins from *Mycrocistis* during Oxidative-, Physical-, and UV-Based Disinfection**. *Journal of Environmental Engineering*, January 2010.

ELLENBERGER, Christine Spada. **Water Quality Impacts of Pure Chlorine Dioxide Pretreatment at The Roanoke County (Virginia) Water Treatment Plant**. (Dissertação de mestrado), Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 2000.

EMMERT, Gary L.; COUTANT, David E.; SWEETIN, Deborah L.; GORDON, Gilbert; BUBNIS, Bernard. **Studies of Selectivity in the Amaranth Method for Chlorine Dioxide**, *Talanta*, v. 51, p. 879 – 888, 2000.

EPA. **Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual**, United States Environmental Protection Agency, 1999.

EPA. Method 300.1 – **Determination of inorganic anions in drinking water by ion chromatography**, National Exposure Research Laboratory Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati, Ohio, 1999.

EURACHEM Guide, **The Fitness for Purpose of Analytical Methods**, A Laboratory guide to Method Validation and related topics, EURACHEM Working Group, December 1998. <http://eurachem.org/guides/valid.pdf>.

FEINBERG, Max. **Validation of analytical methods based on accuracy profiles**. *Journal of Chromatography A*, v. 1158, p. 174 – 183, 2007.

FERRETI, D. *et al.* Evaluation of Chlorite and Chlorate Genotoxicity using Plant Bioassays and *in vitro* DNA damage tests. *Water Research* 42 (2008) 4075-4082.

GAGNON, G. A. *et al.* **Comparative Analysis of Chlorine Dioxide, Free Chlorine and Chloramines on Bacterial Water in Model Distribution Systems**, *Journal of Environmental Engineering*, Novembro 2004.

GARCIA-VILLANOVA, Rafael J. *et al.* **Ocurrence of Bromate, Chlorite and Chlorate in Drinking Waters Disinfected with Hypochlorite Reagentes**. Tracing their origins. *Science of the Total Environment* 408 (2010) 2616-2620.

GATES, Donald J. **The Chlorine Dioxide Handbook**. American Water Works Association: Denver, 1998.

GONZÁLEZ, A. Gustavo; HERRADOR, M. Ángeles. **A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles**, *Trends in Analytical Chemistry*, v. 26, p. 227 – 238, 2007.

HACH AUTOCAT 9000 AMPEROMETRIC TITRATOR. **User Manual, for Chlorine, Chlorine Dioxide, Chlorite, Sulfite and Total Oxidants**, Disponível em http://www.power.hach.com/fmmimghach?/CODE%3A5008118_ED312979|1, acessado 14/07/10.

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

HEYDEN, Yvan Vander; SMEYERS-VERBEKE, Johanna. **Set-up and evaluation of interlaboratory studies**. Journal of Chromatography A, v. 1158, p. 158 – 167, 2007.

HOSSEINI, S. G.; POURMORTAZAVI, S. M.; GHOLIVAND, Kh. **Spectrophotometric determination of chlorate ions in drinking water**. Desalination, v. 245, p. 298 – 305, 2009.

HUA, Guanghui; RECKHOW, David A. **Comparison of disinfection byproduct formation from chlorine and alternative disinfectants**. Water Research, v. 41, p. 1667 – 1678, 2007.

HUASHOU, Li *et al.* **Toxic Effects of Chlorate on Three Plant Species Inoculated Mycorrhizal Fungi**. Ecotoxicology and Environmental Safety 71 (2008) 700-705.

International Organisation for Standardisation (ISO) Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results, ISO 5725-2, 5725-3 and 5725-4, Geneva, 1994.

JAKOPITSCH, Christa; SPALTEHOLZ, Holger; FURTMÜLLER, Paul G.; ARNHOLD, Jürgen; OBINGER, Christian. **Mechanism of reaction of horseradish peroxidase with chlorite and chlorine dioxide**. Journal of Inorganic Biochemistry, v. 102, p. 293 – 302, 2008.

KATZ, A.; NARKIS, N. **Removal of chlorine dioxide disinfection by-products by ferrous salts**. Water Research, v. 35, p. 101 – 108, 2001.

KORN, Caroline; ANDREWS, Robert C.; ESCOBAR, Michael D. **Development of chlorine dioxide-related by-product models for drinking water treatment**, Water Research, v. 36, p. 330 – 342, 2002.

KÖRTVÉLYESI, Zsolt; GORDON, Gilbert. **Chlorite ion Interference in the Spectrophotometric Measurement of Chlorine Dioxide**. Journal American Water Works Association, v. 96, p. 81 – 87, 2004.

KUTTATHARMMAKUL, Siriporn; MASSART, D. Luc; SMEYERS-VERBEKE, Johanna. **Comparison of alternative measurement methods**. Analytica Chimica Acta, v. 391, p. 203 – 225, 1999.

LEE, Yoon-Jin; KIM, Hea-tae; LEE, Un-gi. **Formation of Chlorite and Chlorate from Chlorine Dioxide with Han River Water**. Korean Journal of Chemical Engineering, v. 21, p. 647 – 653, 2004.

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

LINSINGER, Thomas P. J. **Use of recovery and bias information in analytical chemistry and estimation of its uncertainty contribution.** Trends in Analytical Chemistry, v. 27, p. 916 – 923, 2008.

ODEH, Ihab N.; FRANCISCO, Joseph S.; MARGERUM, Dale W. **New Pathways for Chlorine Dioxide Decomposition in Basic Solution,** Inorganic Chemistry, v. 41, p. 6500 – 6506, 2002.

PEPICH, Barry V.; DATTILIO, Teri A.; FAIR, Patricia S.; MUNCH, David J.; GORDON, Gilbert; KÖRTVÉLYESI, Zsolt. **An improved colorimetric method for chlorine dioxide and chlorite ion in drinking water using lissamine green B and horseradish peroxidase.** Analytica Chimica Acta v. 596, p. 37 – 45, 2007.

RICHARDSON, Susan D. *et al.* **Occurrence, Genotoxicity, and Carcinogenicity of regulated and emerging Disinfection By-Products in Drinking Water: A Review and Roadmap.** Mutation Research 636 (2007) 178-242.

RODRÍGUEZ, Eva; ONSTAD, Gretchen D., KULL, Tomas P. J.; METCALF, James S.; ACERO, Juan L.; VON GUNTEN, Urs. **Oxidative elimination of cyanotoxins: Comparison of ozone, chlorine, chlorine dioxide and permanganate,** Water Research, v. 41, p. 3381 – 3393, 2007.

SHIN, Ho-Sang; JUNG, Dong-Gyun. **Determination of chlorine dioxide in water by gas Chromatography-mass spectrometry.** Journal of Chromatography A, v. 1123, p. 92 – 97, 2006.

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

SORLINI, Sabrini; COLLIVIGNARELLI, Carlo. **Trihalomethane Formation during Chemical Oxidation with Chlorine, Chlorine Dioxide and Ozone of Ten Italian Natural Waters.** Desalination 176 (2005) 103-111.

SWEETIN, Deborah L.; SULLIVAN, Elizabeth; GORDON, Gilbert. **The Use of Chlorophenol Red for the Selective Determination of Chlorine Dioxide in Drinking Water.** Talanta, v. 43, 103 – 108, 1996.

TAVERNIERS, Isabel; DE LOOSE, Marc; VAN BOCKSTAELE, Erik. **Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance.** Trends in Analytical Chemistry, v. 23, p. 535 – 552, 2004.

THEMELIS, Demetrius G.; KIKA, Fotini S. **Gas-diffusion flow injection assay for the selective determination of chlorine dioxide based on the fluorescence quenching of chromotropic acid,** Microchemical Journal, v. 82, p. 108 – 112, 2006.

TZANAVARAS, Paraskevas D.; THEMELIS, Demetrius G.; KIKA, Fotini S. **Review of Analytical Methods for the Determination of Chlorine Dioxide,** Central European Journal of Chemistry, v. 5, p. 1 – 12, 2007.

USEPA . **Method 327.0 – Determination of Chlorine Dioxide and Chlorite Ion in Drinking Water Using Lissamine Green B and Horseradish Peroxidase with Detection by Visible Spectrophotometry.** Technical Support Center Office of Ground Water and Drinking Water U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati, Ohio, 2005.

VESCHETTI, E.; CITTADINI, B.; MARESCA, D.; CITTI, G.; OTTAVIANI, M. **Inorganic by-products in waters disinfected with chlorine dioxide.** *Microchemical Journal*, v. 79, p. 165 – 170, 2005.

VIKTOR CSORDA'S, Bernie Bubnis, István Fábíán, and Gilbert Gordon, **“Kinetics and Mechanism of Catalytic Decomposition and Oxidation of Chlorine Dioxide by the Hypochlorite Ion”**, *Inorg. Chem.* 2001, 40, 1833-1836.

VOGEL, Arthur Israel. **Análise química quantitativa.** 6ª ed., Rio de Janeiro - RJ: LTC, 2008.

VOLK, C. J.; HOFMANN, R.; CHAURET, C.; GAGNON, G. A.; RANGER, G.; ANDREWS, R. C. **Implementation of chlorine dioxide disinfection: Effects of the treatment change on drinking water quality in a full-scale distribution system.** *Journal of Environmental Engineering and Science*, v. 1, n. 5, p. 323 – 330, 2002.

WHITE, George Clifford. **The Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants**, 5th ed.; John Wiley & Sons, 2010.

WHO (World Health Organization). **Chlorite and Chlorate in Drinking-water.** Background document for development of WHO - Guidelines for Drinking-water Quality, 2005.

XIN, Zhang; JINYU, Zhao. **Highly Selective Spectrophotometric Determination of Chlorine Dioxide in Water Using Rhodamine B.** *Analyst*, v. 120, p. 1199 – 1200, 1995.

YING, Ji *et al.* Degradation of Microcystins-RR in Water by Chlorine Dioxide. *Journal of China University of Mining & Technology* 18 (2008) 623-628.