

Desenvolvimento e validação de métodos espectrofotométricos para determinação de corantes azos em ensaios de adsorção em fase aquosa

Development and validation of spectrophotometric methods for determination of azo dyes in aqueous phase adsorption experiments

- **Data de entrada:**
06/08/2017
- **Data de aprovação:**
16/01/2018

Raquel Studart de Farias Lessa/Geovana Ferreira Ventura Alves/Hugo Leonardo de Brito Buarque/
Lisiane Ferreira da Costa/Mayra Rodrigues/Rafael dos Santos Nogueira/Ronaldo Stefanutti/Thalita Moreira Azevedo*

DOI: 10.4322/dae.2019.012

Resumo

Processos adsorptivos são tratamentos promissores para a remoção de corantes azos a partir de efluentes industriais aquosos. O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar métodos espectrofotométricos de absorção molecular, confiáveis e de baixo custo, para quantificação de corantes azos em meio aquoso, oriundos de ensaios adsorptivos. Com esse intuito, varreduras espectrais de soluções dos corantes azos vermelho ácido 17 e azul de hidroxinaftol foram realizadas na presença de diferentes tampões e interferentes, bem como diferentes testes de validação (linearidade, precisão, exatidão etc.) foram conduzidos. A influência do pH das amostras e a seletividade na presença de íons cálcio também foram avaliadas e eliminadas por meio de tampões e sequestrantes de cátions usados como soluções estabilizadoras. As concentrações dos analitos estudados estavam faixa de concentrações de 5 a 60 mg.L⁻¹.

Palavras-chave: Adsorção de corantes. Corantes azos. Análise espectrofotométrica, Validação de método.

Raquel Studart de Farias Lessa – Tecnóloga em Processos Químicos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará. Mestre e doutora em Engenharia Civil (Saneamento Ambiental) pela Universidade Federal do Ceará.

Geovana Ferreira Ventura Alves – Técnica em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará.

Hugo Leonardo de Brito Buarque – Engenheiro Químico pela Universidade Federal do Ceará. Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal do Ceará. Doutor em Física pela Universidade Federal do Ceará. Professor Titular do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará.

Lisiane Ferreira da Costa – Tecnóloga em Processos Químicos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará.

Mayra Rodrigues – Técnica em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará.

Rafael dos Santos Nogueira – Técnico em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará. Graduando no Bacharelado em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará.

Ronaldo Stefanutti – Engenheiro Agrônomo pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Mestre e doutor em Ciências pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. Professor Associado da Universidade Federal do Ceará.

Thalita Moreira Azevedo – Técnica em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará. Graduanda no Bacharelado em Engenharia Química pela Universidade Federal do Ceará.

***Endereço para correspondência:** Av. Treze de Maio, 2081, Benfica, CEP 60.426-086, Fortaleza-CE. E-mail: raquelstudartf@yahoo.com.br.

Abstract

Adsorption processes are promising treatments for the removal of azo dyes from aqueous industrial effluents. The aim of the present study was to develop and validate reliable and low cost molecular absorption spectrophotometry methods for the quantification of azo dyes from adsorption experiments in aqueous phase. Thus, spectral scans of solutions of the azo dyes acid red 17 and hydroxynaphthol blue were performed in the presence of different buffers and interferers as well as different validation tests (linearity, precision, accuracy etc.) were carried out. The influence of the pH of the samples and the selectivity in the presence of calcium ions were also evaluated and eliminated by means of buffers and a cation chelant used as stabilizing solutions. The concentrations of the evaluated analytes were in the concentration range of 5 to 60 mg.L⁻¹.

Keywords: *Azo dyes. Spectrophotometric analysis. Adsorption of dyes.*

1 INTRODUÇÃO

Os efluentes industriais podem conter vários poluentes, entre eles diferentes corantes que são largamente utilizados em diversos setores industriais (KATHERESAN, KANSEDO, LAU, 2018). Assim, o tratamento desses efluentes para a remoção de corantes é um tema de grande importância e tem motivado diversos estudos nos últimos anos (AHMED et al., 2011; ALI, 2010; ANANTHA SINGH, RAMESH, 2013; BATHIA et al., 2017; KATHERESAN, KANSEDO, LAU, 2018; PANIĆ et al., 2013; NOROOZI, SORIAL, 2013; YAGUB et al., 2014). Neste contexto, o tratamento de efluentes coloridos por meio de processos adsorptivos é de particular interesse (KAUSAR et al., 2018; KONICKI et al., 2017; NOROOZI, SORIAL, 2013; SALLEH et al., 2011; SINGH, ARORA, 2011; SINGH, RAMESH, 2013; SUBA, RATHIKA, 2016; WAMBA et al., 2018; WAN NGAH, TEONG, HANAFIAH, 2011; YAGUB et al., 2014).

Na última década, sílica gel modificada com aminosilanos tem sido aplicada com sucesso na remoção de corantes (ANDRZEJEWSKA et al., 2007; CESTARI et al., 2009; CHEN et al., 2015; DONIA et al., 2009; LI et al., 2017; LIMA et al., 2016), particularmente os corantes azos, os mais comumente usados na indústria, constituindo 60% a 70% de todos os corantes e precursores de corantes produzidos. Mencione-se que os corantes azos se destacam por serem bastante diversificados

e economicamente muito importantes (CHUNG, 2016; KATHERESAN, KANSEDO, LAU, 2018; PANIĆ et al., 2013; RAUF, HISAINDEE, SALEH, 2015; SALLEH et al., 2011).

Para os estudos adsorptivos, vê-se a necessidade de métodos validados que quantifiquem com confiabilidade os corantes em meio aquoso. A validação de métodos analíticos comprova por meio de evidências objetivas que requisitos para uma determinada aplicação ou uso específico são atendidos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2017). Ela pode ser definida como um processo que confere validade a um método analítico, instrumento ou equipamento, cujas especificações são aceitas como corretas, conferindo confiabilidade aos resultados obtidos (LEITE, 2008; SILVA, ALVES, 2006).

Nesse processo, o uso de técnicas estatísticas adequadas, tais como a análise de variância (ANOVA), torna as decisões menos subjetivas, fazendo com que a validação de métodos analíticos seja mais objetiva, mais fácil de demonstrar e implantar (BARROS, HIRATA, 2002). Dessa forma, a validação garante a aplicabilidade e o escopo de um método analítico e fornece evidências substanciais de que o método e os sistemas se adequam ao uso desejado (FERRÃO, ABRANTES, 2014; MAGNUSSON; ÖRNEMARK, 2014).

Assim, o objetivo do presente estudo foi desenvolver e validar métodos confiáveis e de baixo custo para quantificação, por espectrofotometria de absorção molecular, de corantes azos, tais como o azul de hidroxinaftol (AHN) e o vermelho ácido 17 (AR17) em meio aquoso, oriundos de células experimentais de adsorção em batelada.

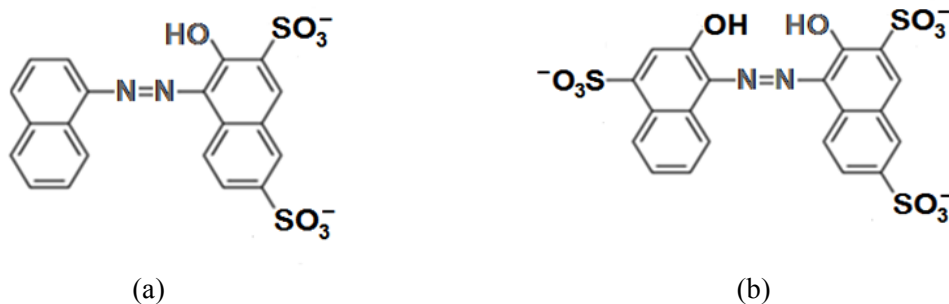


Figura 1: Estruturas moleculares dos corantes: (a) vermelho ácido 17 e (b) azul de hidroxinaftol.

As medições espectrofotométricas dos corantes estudados foram realizadas em espectrofotômetro de feixe duplo da marca Shimadzu, modelo UV-1601PC, utilizando cubeta de vidro de 1,0 cm de caminho óptico. As medidas de pH foram conduzidas em um medidor de pH e íon seletivo da marca Thermo Scientific, modelo Orion Dual Star utilizando um eletrodo combinado de pH modelo Orion 8102BNUWP.

Foram desenvolvidos e validados métodos para quantificação por espectrofotometria de absorção molecular do teor de corantes azos em matrizes aquosas, baseando-se na metodologia utilizada por Lessa et al. (2018). Vale citar que os estudos de validação foram planejados e executados usando documentos de referência nacionais e internacionais (AOAC INTERNATIONAL, 2016; BRASIL, 2017; ICH, 2005; INMETRO, 2018; MAGNUSSON; ÖRNEMARK, 2014). Então, foram consideradas as seguintes figuras de mérito na validação do método: linearidade, precisão e exatidão, limites de detecção e de quantificação, especificidade, sele-

2 MATERIAL E MÉTODOS

Todas as soluções utilizadas neste estudo foram preparadas com reagentes de grau analítico e água destilada e deionizada. O corante vermelho ácido 17 (CAS n° 5858-33-3) utilizado era da marca Acros Organics, e o azul de hidroxinaftol (CAS n° 63451-35-4), da marca Fluka. As estruturas moleculares desses corantes são mostradas na Figura 1.

tividade e robustez. Foi adotado um nível de significância (α) de 5 % em todos os testes estatísticos empregados na validação dos métodos.

É importante mencionar que a matriz líquida oriunda dos ensaios adsorptivos é separada por centrifugação do adsorvente sólido, antes da quantificação dos corantes, resultando em amostras contendo a priori somente o corante e água.

Para identificação dos comprimentos de ondas de máxima absorção e seleção do pH ideal de quantificação dos corantes foram realizadas varreduras espectrais na faixa visível de absorção (400 a 800 nm) em soluções aquosas tamponadas dos mesmos. Para isso tomaram-se soluções de três diferentes tampões (MORITA, ASSUMPÇÃO, 2007): um tampão acético (pH 5,5), um tampão de McIlvaine (pH 7,0) e um tampão de Ringer (pH 12).

O tampão acético foi preparado misturando-se 74,6 g de acetato de sódio anidro com 5,3 mL de ácido acético glacial e, então, diluindo a mistura para 1 L com água destilada. O tampão de McIl-

vaine foi preparado adicionando-se 16,5 mL solução 0,1 mol.L⁻¹ de fosfato dissódico e 3,5 mL de solução 0,1 mol.L⁻¹ de ácido cítrico. Já o tampão de Ringer foi obtido a partir da mistura de 50 mL de solução 0,1 mol.L⁻¹ de fosfato dissódico com 75 mL de solução 0,1 mol.L⁻¹ de hidróxido de sódio. Vale ressaltar que em todas as soluções tampões preparadas continham 2,5 mg.L⁻¹ de ácido etileno-diaminotetraacético (EDTA) objetivando eliminar a possível interferência de metais na absorção espectrofotométrica dos corantes.

No processo de validação, os testes de Shapiro-Wilk, de Grubbs e de Brown-Forsythe foram aplicados para verificação, respectivamente, da normalidade, da existência de valores aberrantes e de homocedasticidade em todas as séries de dados do estudo, inclusive nos resíduos oriundos das regressões lineares realizadas. Tal verificação subsidia os procedimentos e técnicas utilizadas na obtenção e análise das figuras de mérito avaliadas na validação. A aplicação destes testes foi conduzida no Programa R (R CORE TEAM, 2018), utilizando seus pacotes básicos e os pacotes “outliers” (KOMSTA, 2011) e “car” (FOX, WEISBERG, 2011).

A linearidade do método foi avaliada a partir da regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados, de seis curvas analíticas conjuntas, as quais foram obtidas em triplicata para seis níveis de diferentes concentrações dos corantes, em conformidade com a orientação DOQ-CGCRE-008 do Inmetro (2018) e de outras referências já citadas. Para avaliar estatisticamente a qualidade da regressão realizada para cada corante, analisaram-se os coeficientes de correlação obtidos nos ajustes, bem como o teste F na ANOVA da regressão (INMETRO, 2018). A regressão linear e sua avaliação também foram realizadas com o auxílio do Programa R (R CORE TEAM, 2018).

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram estimados a partir das curvas analíticas obtidas para os corantes na avaliação da linearidade

(INMETRO, 2018). Os cálculos para determinar os valores correspondentes de LD e LQ se baseiam no desvio padrão S_b do sinal (absorbâncias) de dez leituras do branco (amostra de ensaio adsorativo sem corante) no comprimento de onda de interesse e sua relação com a inclinação I (coeficiente angular) da reta de regressão ajustada na avaliação da linearidade, de acordo com as equações 1 e 2, respectivamente para o LD e o LQ.

$$LD = 3,3 \cdot \frac{S_b}{I} \quad (1)$$

$$LQ = 10 \cdot \frac{S_b}{I} \quad (2)$$

A precisão foi avaliada por meio da repetibilidade (BRASIL, 2017; ICH, 2005), na qual seis réplicas independentes em uma única corrida analítica, sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação, foram conduzidas em uma mesma concentração de cada corante na faixa linear de trabalho dos métodos. Os coeficientes de variação (CV), razão percentual entre o desvio padrão e a média, das absorbâncias obtidas nos ensaios foram comparados com os valores limites propostos em AOAC International (2016).

A exatidão foi avaliada por meio do cálculo da recuperação aparente (R) do analito em três diferentes concentrações (baixa, média e alta) da faixa linear do método (INMETRO, 2018; MAGNUSSON; ÖRNEMARK, 2014). Nesses ensaios, as amostras foram analisadas e as concentrações foram recalculadas a partir de uma curva de calibração (reta de regressão ajustada nos ensaios de linearidade). O cálculo da exatidão (recuperação aparente) foi realizado por intermédio da Equação 3, conforme preconizado em Brasil (2017). Os valores de recuperação foram também comparados com valores de referência apresentados em AOAC International (2016).

$$R = 100 \cdot \frac{\bar{C}_e}{C_t} \quad (3)$$

em que R é a recuperação aparente; \bar{C}_e é a concentração média experimental do corante, em mg.L⁻¹; e C_t é a concentração teórica (esperada) do corante.

A especificidade e a seletividade foram avaliadas em relação à possível fotodegradação dos corantes, bem como em relação à capacidade dos métodos em determinar a concentração do analito na presença de uma água dura. Para o estudo da fotodegradação foram preparadas em triplicata soluções de concentração conhecida dos dois corantes estudados, as quais foram expostas à luz artificial (fluorescente) por um tempo determinado. Após decorridos os tempos previstos, foram efetuadas as leituras das soluções nos comprimentos de onda de cada corante no espectrofotômetro. ANOVA e testes de comparação de médias emparelhadas foram aplicados na análise dos resultados. A influência da dureza da água na quantificação dos corantes foi previamente avaliada no desenvolvimento dos métodos, adicionando-se cálcio nas amostras em diferentes proporções e EDTA, como descrito anteriormente.

No desenvolvimento dos métodos espectrofotométricos também foram realizados ensaios de robustez somente em relação à influência do pH das amostras, como sugerido em Brasil (2017), haja vista que as demais condições empregadas no método são controladas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As varreduras espectrais obtidas para a seleção do tampão e do correspondente comprimento de onda para quantificação dos analitos estão apresentadas na Figura 2. O tampão ácido (pH 5,5) foi o que apresentou a maior absorbância para a quantificação do corante AR17, o qual será utilizado na

quantificação das amostras adsortivas desse corante no comprimento de onda de 518 nm. Para o azul de hidroxinaftol, o tampão de Ringer (pH 12) foi consideravelmente melhor na quantificação desse corante no comprimento de onda de 650 nm. Esse resultado indica que a influência do pH depende da estrutura química do corante azo e, nesse caso, dos grupos funcionais presentes no composto. Dessa forma, reforça-se o fato de que o desenvolvimento de metodologias deve sempre considerar o pH do meio analítico.

A presença de certos metais (dureza) pode alterar o sinal fotométrico dos corantes azos e, por isso, deve ser considerada no desenvolvimento do método. Assim, varreduras espectrais de soluções corantes contendo até 20 ppm de cálcio foram obtidas para avaliação da eficácia de uma solução estabilizante (tampão 5,5 ou 12 contendo EDTA) para eliminar possíveis interferências da dureza da água durante os ensaios, as quais foram observadas em estudos preliminares, viabilizando a seletividade do método desenvolvido. As varreduras obtidas estão apresentadas na Figura 3.

Observa-se na Figura 3 que as curvas espectrofotométricas dos corantes contendo as soluções estabilizadoras se sobrepõem para diferentes teores de cálcio adicionados, mostrando, assim, que a solução estabilizadora é muito eficaz em seu propósito. Ainda, a análise das varreduras obtidas para as diferentes razões entre volume amostral e volume de solução estabilizante, apresentada na Figura 4, indica que as variações nos picos de absorção se devem exclusivamente às correspondentes variações nas concentrações da mistura final.

Dessa forma, as razões volumétricas entre o volume de amostra e de solução estabilizadora selecionadas para o AHN e para o AR17 foram respectivamente 10:1,5 e 10:2. Essas razões foram escolhidas por apresentarem um maior poder de tamponamento e inibição de interferentes, sem comprometer significativamente a intensidade do sinal analítico.

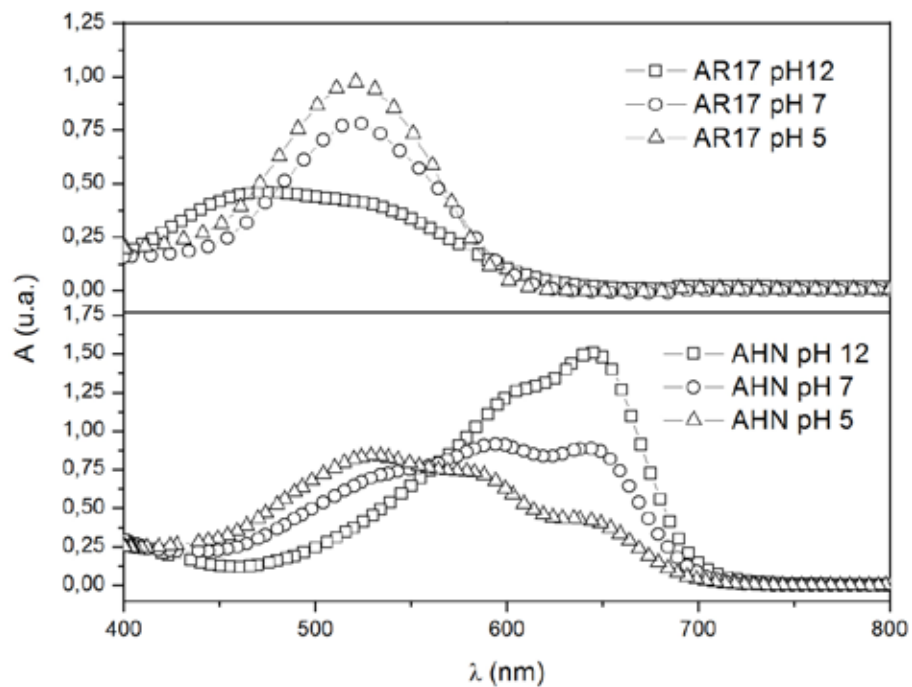


Figura 2: Varreduras espectrofotométricas de 400 a 800 nm de soluções aquosas de 40 mg.L^{-1} dos corantes AHN e AR17 na presença dos tampões acético, de McIlvaine e de Ringer.

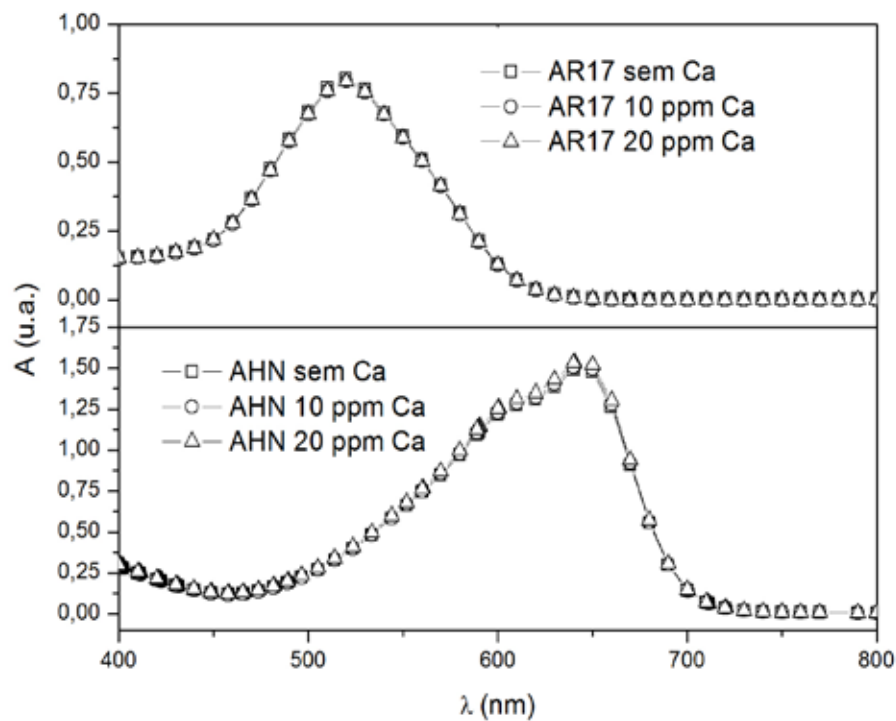


Figura 3: Varreduras espectrofotométricas (400 a 800 nm) de soluções aquosas 40 mg.L^{-1} dos corantes AHN e AR17 contendo até 20 mg.L^{-1} de cálcio após adição da solução estabilizadora.

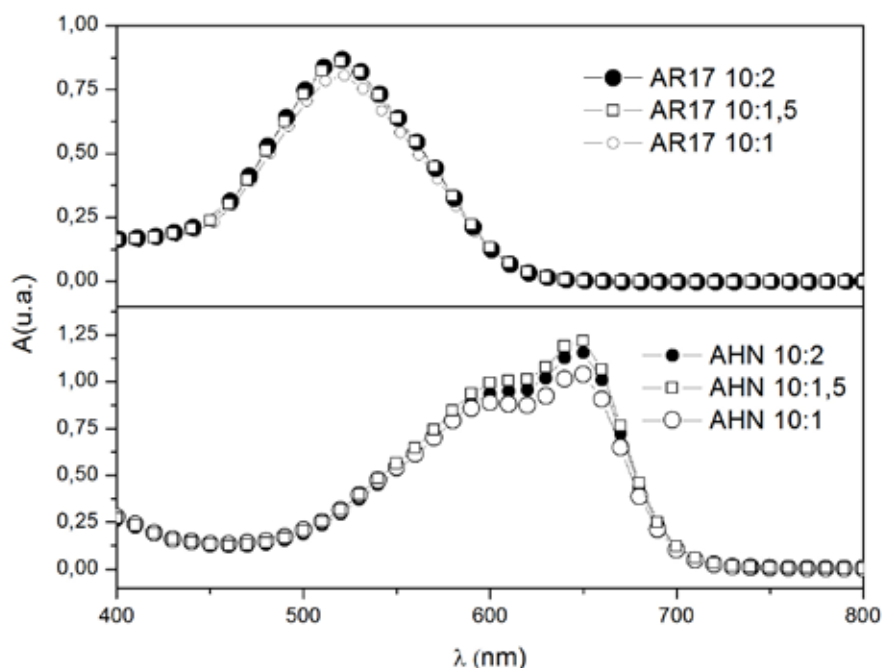


Figura 4: Varreduras espectrofotométricas (400 a 800 nm) das soluções aquosas 40 mg.L⁻¹ dos corantes AR17 e AHN em diferentes razões de volume de amostra e de solução estabilizadora.

Definidos os comprimentos de onda, as correspondentes composições e dosagens das soluções estabilizadoras do método desenvolvido, sua validação foi iniciada com a avaliação da linearidade numa faixa de

concentrações de 5 a 60 mg.L⁻¹. As estatísticas descritivas (médias das concentrações e absorvâncias e respectivos desvios padrões) das seis curvas analíticas determinadas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Valores médios de absorvâncias e concentrações dos analitos nas seis curvas analíticas determinadas no processo de validação do método desenvolvido.

	Concentrações teóricas dos corantes ⁽¹⁾	Valor médio de absorvância ⁽²⁾ (± desvio padrão)	Valor médio de concentração ⁽²⁾ (± desvio padrão)
AHN	5	0,156 ± 0,004	4,82 ± 0,12
	15	0,478 ± 0,007	15,25 ± 0,22
	30	0,939 ± 0,012	30,21 ± 0,40
	40	1,248 ± 0,015	40,25 ± 0,48
	50	1,552 ± 0,025	50,12 ± 0,80
	60	1,844 ± 0,024	59,60 ± 0,79
AR17	5	0,103 ± 0,006	5,14 ± 0,60
	15	0,298 ± 0,008	14,89 ± 0,23
	30	0,628 ± 0,001	31,89 ± 0,15
	40	0,794 ± 0,013	40,59 ± 0,37
	50	0,990 ± 0,009	50,99 ± 0,65
	60	1,192 ± 0,019	59,59 ± 0,34

Notas: ⁽¹⁾ Valores expressos em mg.L⁻¹;

⁽²⁾ Valores expressos em unidades de absorvância (u.a.)

Os valores de absorvância em cada nível de concentração nas curvas analíticas determinadas para os dois corantes provêm provavelmente de uma distribuição normal (nível de confiança de 95%), como sugerem os testes de Shapiro-Wilk realizados, todos com p-valor superior a 0,05. Alguns poucos valores obtidos para ambos os corantes foram considerados aberrantes (p-valor inferior a 5%) no teste de Grubbs e removidos dos testes posteriores, como recomenda o Inmetro (2018). O conjunto de valores de absorvância das curvas analíticas de cada corante apresentou comportamento homocedástico ($p > 0,05$), de acordo com o teste de Brown-Forsythe.

Então, a partir da regressão linear simples das curvas analíticas determinadas, usando o método dos mínimos quadrados ordinários não ponderados, os coeficientes das retas ajustadas para o corante AHN e para o AR17 foram estimados e estão expressos, respectivamente, na Equação (3) e na Equação (4).

$$A_{\text{AHN}} = 0,0308 \cdot C_{\text{AHN}} + 0,0070 \quad (3)$$

$$A_{\text{AR17}} = 0,0198 \cdot C_{\text{AR17}} + 0,0056 \quad (4)$$

em que A é a absorvância molecular, em unidades de absorvância (u.a.), calculada para o correspondente corante no comprimento de onda selecionado (518 nm para o AR17 e 650 nm para o HNB); C é a concentração do corante em mg.L^{-1} ; e os índices AHN e AR17 indicam os respectivos corantes avaliados.

Os coeficientes de correlação dos dados usados nos ajustes lineares nessa etapa da validação e os p-valores obtidos nos testes ANOVA conduzidos para avaliação da qualidade desses ajustes estão

mostrados na Tabela 2. Ressalte-se que a análise dos resíduos da regressão indicou que esses desvios apresentaram comportamento aleatório e homocedástico e que eles são oriundos de uma distribuição normal.

Tabela 2: Coeficientes de correlação e p-valores calculados na avaliação da linearidade.

Corante	Coefficiente de correlação	p-valor do teste ANOVA
AHN	0,9998	< 0,01
AR17	0,9993	< 0,01

A análise estatística dos dados de regressão (coeficientes de correlação, teste ANOVA e análise de resíduos) não evidencia falta de ajuste do modelo, sugerindo que os métodos analíticos desenvolvidos para quantificação dos corantes AHN e AR17, oriundos de ensaios adsorptivos, possuem linearidade, satisfazendo a lei de Lambert-Beer, na faixa de teores ensaiados (5 a 60 mg.L^{-1}).

O desvio padrão obtido calculado para os valores determinados de absorvância nas dez leituras do branco, como também os valores de limite de detecção e de quantificação para ambos os corantes avaliados, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 3: Desvio padrão de leituras do branco e limites de detecção e quantificação estimados.

Corante	S_b (u.a.)	LD (mg.L^{-1})	LQ (mg.L^{-1})
AHN	$5,2 \times 10^{-4}$	0,06	0,18
AR17	$2,5 \times 10^{-4}$	0,04	0,12

Os resultados dos ensaios de precisão dos métodos desenvolvidos para ambos os corantes avaliados neste estudo estão mostrados na Tabela 4. Os testes de repetibilidade resultaram em valores de coeficientes de variação (0,96 a 1,33%) bem inferiores ao valor limite (5,3%) proposto por AOAC International (2016).

Tabela 4: Valores de absorvância e concentração dos analitos avaliados nos testes de precisão.

Corantes	Valores obtidos nas réplicas analisadas							CV (%)
AHN	C (mg L ⁻¹) ^(*)	30,41	29,95	30,38	30,38	29,53	30,64	1,33
	A (u.a.)	0,944	0,929	0,943	0,943	0,917	0,951	1,33
AR17	C (mg L ⁻¹) ^(*)	30,28	30,35	29,98	30,72	30,18	29,9	0,97
	A (u.a.)	0,605	0,606	0,599	0,614	0,603	0,598	0,96

Nota: ^(*) a concentração teórica de 30 mg.L-1 foi utilizada no teste por estar no centro da faixa de trabalho dos métodos.

Os resultados experimentais obtidos nos testes de exatidão (recuperação aparente) estão apresentados na Tabela 4. Os valores observados para a recuperação aparente média dos corantes AHN (96 a 101 %) e AR17 (100 a 102 %) se encontram dentro da faixa recomendada (80 a 110 %) por AOAC Inter-

national (2016). Os resultados do estudo de exatidão demonstram que pequenas variações da concentração da solução podem ser prontamente quantificadas pelo método, portanto o método analítico desenvolvido é suficientemente exato para os dois corantes na faixa de trabalho linear determinada.

Tabela 5: Valores de concentração e respectivas recuperações obtidas nos testes de exatidão.

Corantes	C _i (mg L ⁻¹)	Concentrações experimentais nos ensaios de exatidão						R (%)
AHN	5	4,88	4,86	4,68	4,74	4,74	5,01	96
	40	40,75	40,76	40,40	39,97	39,53	40,09	101
	60	59,92	60,13	59,51	60,39	58,16	59,48	99
AR17	5	4,76	4,96	5,32	5,12	5,07	5,17	101
	40	40,67	40,17	40,67	41,02	40,97	40,72	102
	60	60,06	59,81	60,32	60,01	60,62	60,22	100

As absorvâncias médias determinadas nos testes de fotodegradação para soluções 30 mg L⁻¹ dos corantes estão apresentadas na Tabela 6. Os coeficientes de variação, também mostrados na Tabela 6, sugerem que no período de avaliação somente houve fotodegradação do AHN, já que o CV observado para esse corante foi superior ao valor observado nos testes de precisão. O teste ANOVA aplicado aos dados corrobora o fato de que para o AR17 não houve variação (p-valor > 0,05) na absorvância

média no período de até 48 horas de exposição à luz, mostrando que esse corante é bastante estável nas condições laboratoriais. Em relação ao AHN, foi observada fotodegradação (p-valor < 0,05) somente após 24 horas de exposição, indicando que o método analítico desenvolvido deve ser aplicado em até 24 horas após os ensaios adsortivos. Dessa forma, recomenda-se que os testes espectrofotométricos com ambos os corantes sejam realizados em até 24 horas da obtenção das amostras.

Tabela 6: Valores de absorvância de solução 30 mg.L⁻¹ dos corantes no teste de fotodegradação.

Corantes	Absorvâncias médias (u.a.)					CV (%)
	0	12 h	24 h	36 h	48 h	
AHN	0,937	0,934	0,915	0,833	0,871	5,00
AR17	0,602	0,598	0,601	0,604	0,600	0,37

4 CONCLUSÕES

Foram desenvolvidos e validados métodos espectrofotométricos de absorção molecular para analisar corantes azos (vermelho ácido 17 e azul de hidroxinaftol) oriundos de ensaios adsorptivos em fase aquosa numa faixa linear de concentrações de 5 a 60 mg.L⁻¹. Nos métodos é utilizada cubeta de vidro com caminho ótico de 1 cm e soluções estabilizadores (tampão e inibidor de interferentes metálicos). As soluções estabilizadoras eram constituídas de tampão (pH 5,5 ou pH 12) e 2,5 mg.L⁻¹ de EDTA. A quantificação dos corantes estudados deve ser conduzida em até 24 horas da obtenção das amostras.

No desenvolvimento dos métodos, foram verificadas a influência do pH e da presença de metais no meio, especificamente da dureza da água. Dessa forma, tampões apropriados e uma solução inibidora de interferentes foram selecionados para minimizar essa influência. Ademais, a seletividade na presença de íons cálcio também foi avaliada.

Testes estatísticos foram realizados para comprovar que os métodos seguem a lei de Lambert-Beer. Foram também realizados ensaios de fotodegradação e quantificaram-se os limites de detecção e de quantificação.

Os métodos desenvolvidos apresentaram características interessantes para a determinação de corantes em meio aquoso, além de serem simples e baratos, com baixa produção de resíduos. Este artigo ainda contribui para quantificação em meio aquoso de outros corantes azos que tenham fórmula estrutural e grupos cromóforos semelhantes aos dos avaliados nesse estudo, sejam eles provenientes de ensaios adsorptivos ou não.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Federal do Ceará (IFCE), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação Cea-

rense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo suporte acadêmico fornecido por meio das bolsas do programa institucional de bolsas de iniciação científica concedidas, e especificamente ao IFCE pelo financiamento aportado por meio do Edital 13-2013 PRPI PRÓ-INFRA-IFCE.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, S.; RASUL, M. G.; MARTENS, W. N.; BROWN, R.; HASHIB, M. A. Advances in heterogeneous photocatalytic degradation of phenols and dyes in wastewater: a review. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 215, n. 1-4, p. 3-29, 2011.
- ALI, H. Biodegradation of synthetic dyes – a review. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 213, n. 1-4, p. 251-273, 2010.
- ANANTHA SINGH; S. T.; RAMESH, S. T. New Trends in Electrocoagulation for the Removal of Dyes from Wastewater: A Review. **Environmental Engineering Science**, v. 30, n. 7, p. 333-349, 2013.
- ANDRZEJEWSKA, A.; KRYSZTAFKIEWICZ, A.; JESIONOWSKI, T. Treatment of textile dye wastewater using modified silica. **Dyes and Pigments**, v. 75, n. 1, p. 116-124, 2007.
- AOAC INTERNATIONAL. Guidelines for standard method performance requirements. In: **Official methods of analysis of AOAC International**. 20th ed. Gaithersburg, USA, 2016. Appendix F.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC 17025**: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaios e calibração. Rio de Janeiro, 2017.
- BARROS, C.; HIRATA, Y. **Estimativa da incerteza nas medições laboratoriais**. [Apostila do curso – Rev. 02]. São Paulo: CPTI, 2002.
- BHATIA, D.; SHARMA, N. R.; SINGH, J.; KANWAR, R. S. Biological methods for textile dye removal from wastewater: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 19, p. 1836-1876, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: República Federativa do Brasil, nº141, de 25 jul. 2017. Seção 1, p. 87-89. Brasília: Imprensa Nacional, 2017.
- CESTARI, A. R.; VIEIRA, E. F. S.; VIEIRA, G. S.; DA COSTA, L. P.; TAVARES, A. M. G.; LOH, W.; AIROLDI, C. The removal of reactive dyes from aqueous solutions using chemically modified mesoporous silica in the presence of anionic surfactant – the temperature dependence and a thermodynamic multivariate analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, n. 1, p. 307-316, 2009.
- CHEN, H. Y.; XU, Z. J.; LIN, Z. C.; HUANG, Y.F.; WANG, Q. Removal of Reactive Brilliant Red X-3B and Co(II) Ion with Amino-EDTA Func-

tionalized Silica Gel. In: International Conference on Information Engineering for Mechanics and Materials, 5, 2015, Huhhot, China. Proceedings... Paris: Atlantis Press, 2015. v. 21, p. 512-516.

CHUNG, K.-T. Azo dyes and human health: a review. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 34, n. 4, p. 233-261, 2016.

DONIA, A. M.; ATIA, A. A.; AL-AMRANI, W. A.; EL-NAHAS, A. M. Effect of structural properties of acid dyes on their adsorption behaviour from aqueous solutions by amine modified silica. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, n. 2-3, p. 1544-1550, 2009.

FERRÃO, L. L.; ABRANTES, S. D. M. P. Development and validation of analytical method for determining the artificial dyes in breakfast cereals by means of high performance liquid chromatography. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 7, n. 1, p. 59-66, 2014.

FOX, J.; WEISBERG, S. **An {R} Companion to Applied Regression**. 2ª ed. Thousand Oaks: Sage, 2011. Disponível em: <<http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>>.

ICH. Validation of analytical procedures: text and methodology. In: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for human use, 2005, Genebra, Suíça. **ICH Guideline Q2 (R1)**, Genebra: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, 2005.

INMETRO. **DOQ-CGCRE-008: orientação sobre validação de métodos analíticos**. Revisão 07. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, 2018.

KATHERESAN, V.; KANSEDO, J.; LAU, S. Y. Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 4, p. 4676-4697, 2018.

KAUSAR, A.; IQBAL, M.; JAVED, A.; AFTAB, K.; BHATTI, H. N.; NOUREN, S. Dyes adsorption using clay and modified clay: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 256, p. 395-407, 2018.

KOMSTA, L. **Outliers: Tests for outliers**. R package version 0.14. 2011. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=outliers>>.

KONICKI, W.; ALEKSANDRZAK, M.; MOSZYŃSKI, D.; MIJOWSKA, E. Adsorption of anionic azo-dyes from aqueous solutions onto graphene oxide: equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 496, p. 188-200, 2017.

LEITE, F. **Validação em análise química**. 5ª ed. Campinas: Átomo, 2008.

LESSA, R. S. F.; BUARQUE, H. L. B.; NORBERTO, J. N.; MOTA, P. A. L.; STEFANUTTI, R. Validação de método para determinação de corantes em efluentes. **Revista DAE**, v. 66, n. 210, p. 67-77, 2018.

LI, X. S.; FAN, Y. H.; ZHANG, S. W.; QI, S. H. Enhanced adsorption removal of anionic dyes via a facile preparation of amino-functionalized magnetic silica. **Water Science and Technology**, v. 75, n. 6, p. 1399-1409, 2017.

LIMA, A. V.; MOTA, P. A. L.; SANTOS, A. F.; NOGUEIRA, N. G.; VIANA, A. A.; ARAÚJO, R. S.; LUNA, F. M. T.; BUARQUE, H. L. B. Adsorção em meio aquoso do corante azo Ponceau 4R sobre sílica gel organofuncionalizada com APTES. **Revista Conexões – Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 2, p. 7-16, 2016.

MAGNUSSON, B.; ÖRNEMARK, U. (Eds.) **Eurachem guide: the fitness for purpose of analytical methods – a laboratory guide to method validation and related topics**. 2nd ed. 2014. Disponível em: <www.eurachem.org>.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de Soluções, Reagentes e Solventes**: padronização, preparação, purificação com indicadores de segurança e de descarte de produtos químicos. 2ª ed. São Paulo: Blucher, 2007.

NGAH, W. S. W.; TEONG, L. C.; HANAFIAH, M. A. K. M. Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: A review. **Carbohydrate polymers**, v. 83, n. 4, p. 1446-1456, 2011.

NOROOZI, B.; SORIAL, G. A. Applicable models for multi-component adsorption of dyes: A review. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n. 3, p. 419-429, 2013.

PANIĆ, V. V.; ŠEŠLIJA, S. I.; NEŠIĆ, A. R.; VELIČKOVIĆ, S. J. Adsorption of azo dyes on polymer materials. **Hemijaska industrija**, v. 67, n. 6, p. 881-900, 2013.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2018. Disponível em: <<https://www.R-project.org>>. Acesso em: 01 jan. 2018.

RAUF, M. A.; HISAINDEE, S.; SALEH, N. Spectroscopic studies of keto-enol tautomeric equilibrium of azo dyes. **RSC Advances**, v. 5, n. 23, p. 18097-18110, 2015.

SALLEH, M. A. M.; MAHMOUD, D. K.; KARIM, W. A. W. A.; IDRIS, A. Cationic and anionic dye adsorption by agricultural solid wastes: A comprehensive review. **Desalination**, v. 280, n. 1-3, p. 1-13, 2011.

SILVA, A. P.; ALVES, M. C. C. Como iniciar a validação de métodos analíticos. In: Congresso e Feira da Qualidade em Metrologia (ENQUALAB 2006), 1, 2006, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Rede Metrológica do Estado de São Paulo, 2006. p. 8-15.

SUBA, V.; RATHIKA, G. Novel Adsorbents for the Removal of Dyes and Metals from Aqueous Solution – A Review. **Journal of Advanced Physics**, v. 5, n. 4, p. 277-294, 2016.

WAMBA, A. G.; KOFA, G. P.; KOUNGOU, S. N.; THUE, P. S.; LIMA, E. C.; REIS, G. S.; KAYEM, J. G. Grafting of Amine functional group on silicate based material as adsorbent for water purification: A short review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 2, p. 3192-3203, 2018.

YAGUB, M. T.; SEN, T. K.; AFROZE, S.; ANG, H. M. Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: a review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 209, p. 172-184, 2014.