



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TIAGO ROCHA NOGUEIRA

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE
UV-VIS PARA ANÁLISE DE DIÓXIDO DE CLORO EM ÁGUA**

FORTALEZA

2023

TIAGO ROCHA NOGUEIRA

VALIDAÇÃO DE MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE
UV-VIS PARA ANÁLISE DE DIÓXIDO DE CLORO EM ÁGUA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N716v Nogueira, Tiago Rocha.
Validação de método espectrofotométrico de UV-Vis para análise de Dióxido de Cloro em água /
Tiago Rocha Nogueira. – 2023.
85 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação
em Química, Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento.

1. Dióxido de Cloro. 2. Espectrofotometria. 3. UV-Vis. 4. Validação de método. I. Título.
CDD 540

TIAGO ROCHA NOGUEIRA

VALIDAÇÃO DE MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE
UV-VIS PARA ANÁLISE DE DIÓXIDO DE CLORO EM ÁGUA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química.

Aprovada em: 30 / 10 / 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

Pesquisador Dr. Guilherme Julião Zocolo
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)

A Deus, meu pai e amigos.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento, pela orientação e todo apoio.

À Caio Nascimento, Davi Leite, Lara Dias, Juliana Sales, Juliene Tomé e Kátia Braz por me apoiarem durante todo o percurso, devolvendo-me aos olhos o foco e motivação para enfrentar e superar todas as dificuldades.

Aos meus colegas dos laboratórios LAT, LANAGUA e LABPOA, em especial às Zillene Franklim e Jéssica Beserra por todo apoio e pelos bons momentos de conversa durante os cafés da tarde e a Pedro Henrique, meu primeiro orientado, que auxiliou na finalização dos experimentos.

Ao Núcleo de Estudos e Pesquisas do Norte e Nordeste, representado pela Profa. Dra. Tecia Vieira Carvalho, por todo apoio a infraestrutura, viabilizando a continuidade dos trabalhos.

Ao Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará (NUTEC), representado pelo Sr Jackson Malveira, pelo acolhimento e aos grandes amigos Crisiana Nobre, Cleidiane Lima, Vitor Paulo, Renata de Oliveira, Denilson Queiroz, Mairlane Silva, Raquel Araújo, Nayara Oliveira, Luiza, Lurdeci, Rubens Carius e Rosali Marques por todo o companheirismo durante a caminhada no NUTEC.

Ao Laboratório de Saneamento Ambiental (LABOSAN), coordenado pelo Prof. Dr. André Bezerra dos Santos, pelo acolhimento e disposição do cromatógrafo de íons e, em especial, aos amigos Amanda Moraes, Amanda Sousa, Ricardo Mendes e Plínio Barbosa pelo acolhimento e aprendizado.

A Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE) e a SABARÁ Químicos Industriais, em especial ao Antônio Ribeiro, Ednard, Mércio e João Batista pela pronta disposição em fornecer materiais que viabilizassem a execução da pesquisa.

Ninguém pode construir em teu lugar as pontes que precisarás passar, para atravessar o rio da vida - ninguém, exceto tu, só tu. Existem, por certo, atalhos sem números, e pontes, e semi-deuses que se oferecerão para levar-te além do rio; mas isso te custaria a tua própria pessoa; tu te hipotecarias e te perderias. Existe no mundo um único caminho por onde só tu podes passar. Onde leva? Não perguntes, segue-o! (NIETZSCHE, 1974. 351 p.)

RESUMO

Nas estações de tratamento de água, a etapa de desinfecção é de fundamental importância para garantir o consumo seguro de água potável, sendo empregados agentes oxidantes com propriedades biocidas. Diversas técnicas têm sido utilizadas na etapa de desinfecção, e entre elas destaca-se o uso de radiação ultravioleta, ozônio, ultrassom/cavitação, processos oxidativos avançados e cloração. O emprego de cloraminas e dióxido de cloro tem sido adotado devido à baixa formação de subprodutos persistentes. O dióxido de cloro, um radical livre com alta capacidade biocida, tem sido amplamente difundido devido ao seu processo de produção simplificado, gerado *in loco*, permitindo o uso concomitante à produção. Sendo um gás de coloração amarela e solúvel em água, diversas técnicas têm sido apresentadas para o monitoramento do dióxido de cloro em água em níveis de traços, de modo a atender aos padrões de potabilidade estabelecidos pelas agências reguladoras. No entanto, o monitoramento dos sistemas de produção do desinfectante tem se apresentado como um grande desafio, visto que altas concentrações do gás em solução implicam em aumento de etapas durante o processo de análise, resultando em maiores incertezas nas medições. Neste estudo, é feita uma abordagem das principais rotas reacionais de produção do dióxido de cloro, bem como das técnicas empregadas na determinação da concentração. Foi desenvolvido e validado um método de determinação direta por espectrofotometria uv-vis que permite a medição em uma célula de volume fixo e de injeção de fluxo. O método foi desenvolvido por meio de ensaios que avaliam o melhor modelo de célula de leitura (cubeta), a interferência de produtos/subprodutos opticamente ativos, a faixa de pH de aplicação e a otimização de parâmetros operacionais (temperatura e vazão) do sistema de fluxo. Em seguida, o método foi validado de acordo com as diretrizes estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) e Ministério de Agronomia, Pecuária e Abastecimento, atingindo padrões de eficiência que possibilitam o uso seguro, confiável e autônomo do método em sistemas de produção do dióxido de cloro em indústrias farmacêuticas, alimentícias e em estações de tratamento de água. Por fim, é apresentado um estudo comparativo entre as técnicas presentes na literatura visando avaliar a performance dos métodos.

Palavras-chave: Dióxido de Cloro; espectrofotometria; uv-vis; validação de método.

ABSTRACT

In water treatment plants, the disinfection stage is of fundamental importance to ensure the safe consumption of drinking water, employing oxidizing agents with biocidal properties. Various techniques have been utilized in the disinfection stage, including the use of ultraviolet radiation, ozone, ultrasound/cavitation, advanced oxidative processes, and chlorination. The use of chloramines and chlorine dioxide has been adopted due to the low formation of persistent by-products. Chlorine dioxide, a yellow-colored and water-soluble gas with high biocidal capacity, has been widely disseminated due to its simplified in-situ production process, allowing concurrent use with production. Several techniques have been presented for monitoring chlorine dioxide in water at trace levels to meet potability standards established by regulatory agencies. However, monitoring disinfectant production systems has posed a significant challenge, as high gas concentrations in solution imply an increase in steps during the analysis process, resulting in greater measurement uncertainties. This study delves into the main reaction pathways for chlorine dioxide production and the techniques used to determine its concentration. A direct determination method using UV-VIS spectrophotometry has been developed and validated, enabling measurement in a fixed-volume cell and flow injection. The method was developed through tests that assess the best cuvette model for reading, the interference of optically active products and by-products, the pH range of application, and the optimization of operational parameters (temperature and flow) for the flow system. Subsequently, the method was validated following guidelines established by the National Health Surveillance Agency (ANVISA), the National Institute of Metrology, Quality, and Technology (INMETRO), and the Ministry of Agronomy, Livestock, and Supply, meeting efficiency standards that facilitate the safe, reliable, and autonomous use of the method in chlorine dioxide production systems in pharmaceutical industries and water treatment plants. Finally, a comparative study among techniques presented in the literature is included to evaluate the performance of the methods.

Keywords: Chlorine dioxide; spectrophotometry; uv-vis; method validation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Processos de oxidação de compostos NO _x e SO _x	12
Figura 2 – Diagrama de orbital molecular do dióxido de cloro.....	13
Figura 3 – Transições entre níveis de energia eletrônicos e diagrama de Jablonski.....	16
Figura 4 – Esquema de operação de um espectrofotômetro de UV-Vis com e filtro monocromador (a) e rede de difração (b).....	20
Figura 5 – Sistema de Fluxo Segmentado (a), Sistema de Injeção de Fluxo (b).....	21
Figura 6 – Análise de nitrato por redução em coluna de cádmio (a) e por redução com hidrazina em sistema de fluxo (b).....	27
Figura 8 – Sistema gerador e purificador de gás.....	30
Figura 9 – Espectrofotômetro, bomba peristáltica e cubetas semi-hermética (a), hermética (b) e injeção de fluxo (c).....	34
Figura 10 – Fluxograma de etapas da validação do método.....	42
Figura 11 – Absorbâncias em 430 nm de solução de dióxido de cloro 400 mg L ⁻¹ em cubeta de fluxo (a), cubeta hermética (b) e cubeta semi-hermética (c).....	44
Figura 12 – Tempo de estabilização de leitura vs fluxo (a) e temperatura (b).....	45
Figura 13 – Espectros de absorção no UV-Vis (a) e absorbâncias em 430 nm (b) das soluções de dióxido de cloro 200 mg L ⁻¹ nos pHs de 2 a 12.....	46
Figura 14 – Espectros de absorção no UV-Vis (a) e absorbâncias em 430 nm (b) das soluções de dióxido de cloro 200 mg L ⁻¹ nos pHs de 2 a 12.....	47
Figura 15 – Diagrama de Pourbaix referente ao cloro em água.....	48
Figura 16 – Espectros de UV-Vis dos padrões de calibração em cubeta hermética (esquerda) e ampliação (direita).....	48
Figura 17 – Espectros de UV-Vis dos padrões de calibração em cubeta de injeção de fluxo (esquerda) e ampliação (direita).....	49
Figura 18 – Fluxograma de seleção do comprimento de onda.....	50
Figura 19 – Matrizes de excitação e emissão do dióxido de cloro em gás e em solução.....	54

Figura 20 – Resíduos das absorvâncias das curvas de calibração em célula estática (a) e em célula de fluxo (b).....	56
Figura 21 – Resultados dos ensaios de precisão para sistema estático (a) e de fluxo (b).....	59
Figura 22 – Espectros de UV-Vis dos padrões de dióxido de cloro no método DPD (direita) e curva de calibração (esquerda).....	60
Figura 23 – Cromatograma das soluções multi-ânions de calibração.....	62
Figura 24 – Gráfico de distribuição de médias das concentrações.....	62
Figura 25 – Estatística F (esquerda) e Estatística t empregando Titulação como método de referência com os demais métodos para amostras coletadas em 30, 60, 90, 120, 150 minutos em sistema de geração de dióxido de cloro empregado em estação de tratamento de água.....	74
Figura 26 – Gráficos de estabilização de leitura nos fluxos 1,0 (a), 2,0 (b), 3,0 (c), 4,0 (d), 5,0 (e) e 1-5 (f) mL min ⁻¹ a 15°C.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Luz visível e cores complementares.....	17
Tabela 2 – ANOVA para teste de Levene.....	35
Tabela 3 – Estatísticas do modelo de regressão logística das curvas de estabilização de leitura para variável fluxo.....	43
Tabela 4 – Estatísticas do modelo de regressão logística das curvas de estabilização de leitura para variável temperatura.....	44
Tabela 5 – Análise ANOVA Fator Único para as absorbâncias das soluções de dióxido de cloro 200 mg L ⁻¹ em faixa de pH de 2-10.....	46
Tabela 6 – Análise dos dados dos conjuntos de calibração.....	51
Tabela 7 – Parâmetros da regressão linear dos modelos de calibração em sistema estático..	52
Tabela 8 – Parâmetros da regressão linear dos modelos de calibração em sistema de fluxo.	53
Tabela 9 – Parâmetros da regressão linear dos modelos de calibração.....	53
Tabela 10 – Resultados dos ensaios de veracidade dos limites de detecção e quantificação...	55
Tabela 11 – Resultados dos ensaios de repetibilidade.....	56
Tabela 12 – Resultados dos ensaios de precisão intermediária.....	57
Tabela 13 – Limites de precisão dos ensaios de repetibilidade e precisão intermediária.....	58
Tabela 14 – Coeficientes de recuperação e testes f e t dos ensaios de recuperação.....	59
Tabela 15 – Parâmetros da curva de calibração do método DPD.....	60
Tabela 16 – Parâmetros das curvas de calibração multi-ânions (Parcial).....	72
Tabela 17 – Análises estatísticas das absorbâncias obtidas em cubeta hermética (n = 5 nm).	72
Tabela 18 – Análises estatísticas das absorbâncias obtidas em cubeta de injeção de fluxo (n = 5 nm).....	73
Tabela 19 – Análises estatísticas das absorbâncias obtidas em cubeta hermética (n = 1 nm)..	73
Tabela 20 – Análises estatísticas das absorbâncias obtidas em cubeta de fluxo (n = 1 nm).....	73
Tabela 21 – Parâmetros das curvas de calibração multi-ânions (parte 1).....	76

Tabela 22 – Parâmetros das curvas de calibração multi-ânions (parte 2).....	76
Tabela 23 – Parâmetros das curvas de calibração multi-ânions (parte 3).....	76
Tabela 24 – Equações de regressão das calibrações multi-ânions.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs	Absorbância
ANVISA	Agência Nacional De Vigilância Sanitária
DPD	Sulfato de N,N Dietil-1,4 Fenilenediamina
gl	Graus de Liberdade
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MEE	Matriz de Excitação e Emissão
MQ	Média dos Quadrados
pH	Potencial Hidrogeniônico
SQ	Soma dos Quadrados
UV-Vis	Ultravioleta e Visível
AIF	Análise de Injeção de Fluxo
AFS	Análise de Fluxo Segmentado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	CLORAÇÃO: PRODUTOS E APLICAÇÃO	9
2.1	Produção de cloro livre e cloramina	9
2.2	Dióxido de cloro	11
3	ESPECTROSCOPIA E ESPECTROFOTOMETRIA	16
3.1	Espectrofotometria de absorção	17
3.2	Instrumentação	19
4	METODOLOGIAS ANALÍTICAS EMPREGADAS NA DETERMINAÇÃO DO DIÓXIDO DE CLORO	23
5	OBJETIVOS	26
5.1	Objetivos gerais	26
5.2	Objetivos específicos	26
6	MATERIAIS E MÉTODOS	27
6.1	Preparo de padrão de dióxido de cloro	27
<i>6.1.1</i>	<i>Padronização de dióxido de cloro em solução aquosa</i>	<i>27</i>
6.2	Preparo de padrão de cloro livre	28
<i>6.2.1</i>	<i>Padronização de cloro total em solução aquosa</i>	<i>28</i>
6.3	Espectrofotometria de uv-vis	29
<i>6.3.1</i>	<i>Determinação direta de dióxido de cloro por espectrofotometria</i>	<i>30</i>
<i>6.3.2</i>	<i>Determinação de cloro total e dióxido de cloro por N, N-dietil-p-fenilenodiamina (DPD)</i>	<i>30</i>
<i>6.3.2.1</i>	<i>Soluções para análise DPD</i>	<i>31</i>
<i>6.3.2.2</i>	<i>Calibração e Validação</i>	<i>31</i>
<i>6.3.2.3</i>	<i>Análise de amostras</i>	<i>31</i>
6.4	Espectroscopia de fluorescência	32
6.5	Cromatografia de íons	32
<i>6.5.1</i>	<i>Determinação indireta de dióxido de cloro por cromatografia de íons</i>	<i>32</i>
<i>6.5.1.1</i>	<i>Análise de amostras</i>	<i>33</i>
6.6	Calibração e validação do modelo de regressão	33
<i>6.6.1</i>	<i>Teste de Grubbs: identificação de pontos aberrantes (outliers)</i>	<i>34</i>
<i>6.6.2</i>	<i>Teste de Levene: homogeneidade das variâncias</i>	<i>35</i>

6.6.3	<i>Análise de resíduos: autocorrelação de Dubin-Watson e normalidade de Anderson-Darling</i>	36
6.6.4	<i>Regressão linear, linearidade e significância dos coeficientes</i>	37
6.6.5	<i>Efeito matriz</i>	38
6.6.6	<i>Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)</i>	39
6.6.7	<i>Precisão</i>	40
6.6.8	<i>Tendência/Recuperação</i>	41
6.6.9	<i>Ensaio comparativo entre métodos</i>	41
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
7.1	Ensaio Preliminares	42
7.1.1	<i>Estabilidade de leitura e seleção de parâmetros de injeção</i>	42
7.1.1.1	<i>Seleção do fluxo de injeção</i>	42
7.1.1.2	<i>Seleção da temperatura da amostra</i>	43
7.1.2	<i>Efeito do pH e presença de cloro livre</i>	45
7.1.3	<i>Seleção do comprimento de onda</i>	47
7.1.4	<i>Análise de interferência por fluorescência</i>	49
7.2	Validação do método de análise uv-vis para dióxido de cloro	51
7.2.1	<i>Determinação do modelo de regressão</i>	51
7.2.2	<i>Efeito Matriz</i>	52
7.2.3	<i>Linearidade, significância e limites de detecção e quantificação</i>	53
7.2.4	<i>Precisão e recuperação (exatidão)</i>	55
7.3	Estudo comparativo entre metodologias de determinação de dióxido de cloro	59
7.3.1	<i>Calibração do método espectrofotométrico DPD e multi-ânions por cromatografia de íons para o dióxido de cloro</i>	59
7.3.2	<i>Ensaio comparativos entre metodologias analíticas</i>	61
8	CONCLUSÃO	64
	REFERÊNCIAS	65
	ANEXO A – TABELAS DOS ENSAIOS DE SELEÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA	72
	ANEXO B – TABELAS DOS ENSAIOS DE FLUXO E TEMPERATURA	74
	ANEXO C – TABELAS DAS CALIBRAÇÕES MULTI-ÂNIONS	76

1 INTRODUÇÃO

Agentes oxidantes são amplamente empregados na remoção de poluentes presentes em resíduos industriais e na etapa de desinfecção de água para consumo, com o intuito de remover bactérias patogênicas, alguns tipos de vírus e fungos. Dentre esses agentes, destaca-se o dióxido de cloro, que tem sido amplamente empregado nas estações de tratamento de água devido à sua baixa capacidade de formação de subprodutos com matéria orgânica (SALES MONTEIRO *et al.*, 2021). De acordo com a legislação brasileira, a ausência de coliformes e os limites máximos de organoclorados na água para consumo humano estão diretamente relacionados ao uso de agentes oxidantes nos processos de tratamento de água.

De acordo com Chen *et al.* (2021), os principais métodos de desinfecção de água incluem o emprego de ozônio, radiação ultravioleta e/ou cloro, sendo a cloração (cloro livre, dióxido de cloro e/ou cloramina) o método ainda dominante, apresentando eficiência até mesmo na redução do vírus SARS-COV.

Os agentes oxidantes empregados na cloração podem ser gerados de diversas formas, por meio de eletrólise ou reações de oxidação-redução. Com os limites de concentração desses agentes na água estabelecidos pela legislação, diversas metodologias de análise têm sido empregadas no monitoramento destas espécies, tais como: cromatografia iônica, titulação amperométrica, eletrodos seletivos e espectrofotometria.

O emprego de técnicas analíticas no monitoramento de agentes desinfetantes é de fundamental importância para a manutenção da qualidade da água para consumo, devido às mudanças que esses agentes causam nas propriedades organolépticas e ao conferir caráter oxidativo à água. O monitoramento dos teores do oxidante também é importante nos sistemas de geração e controle de distribuição, possibilitando a dosagem adequada na água para consumo.

2 CLORAÇÃO: PRODUTOS E APLICAÇÃO

Diversas fontes naturais (superficiais ou subterrâneas) de água, como rios, lagos e poços, podem apresentar agentes causadores de doenças (CDC, 2020), como *Salmonella*, *Campylobacter* e Norovírus. A cloração é o processo de adição de cloro responsável pela redução ou eliminação de micro-organismos até atingir níveis seguros para o consumo humano. A presença de cloro na água promove dano oxidativo às membranas, ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos, paredes celulares e outros lipídios, apresentando atividade antisséptica contra bactérias, vírus, fungos e esporos (CHAURET, 2014).

O hipoclorito e o ácido hipocloroso causam danos às proteínas nativas das enzimas, promovendo mudanças conformacionais por meio da formação de ligações N-Cl ou por reação direta. O ácido hipocloroso, devido à sua alta capacidade oxidativa, pode oxidar enzimas essenciais para os micro-organismos, como a desidrogenase e enzimas necessárias para a respiração celular. O ácido clorídrico, presente por excesso de reagentes ou por formação de subprodutos, também apresenta efeito subletal aos micro-organismos, causando efeitos negativos nos processos de transcrição do RNA e em algumas proteínas celulares, tornando-os mais sensíveis a agentes antimicrobianos (CHESWICK et al., 2020; ERSOY et al., 2019).

No que diz respeito à formação de subprodutos, Hua e Reckhow (2007) relatam que o cloro livre apresenta maior formação de trihalometanos (THM), ácidos haloacéticos (HAAs), cloro orgânico total (TOCl) e halogênios orgânicos totais (TOX), quando comparado com a cloramina e o dióxido de cloro. No entanto, estes últimos apresentam maior formação de halogênios orgânicos totais desconhecidos (UTOX) do que o cloro livre. Ainda de acordo com os autores, a formação de UTOX é reduzida quando é feito o pré-tratamento com ozônio antes da cloração.

De acordo com Ersoy et al. (2019), o cloro livre e o dióxido de cloro apresentaram maior atividade bactericida do que a cloramina. Quando administrados em mesma concentração, o dióxido de cloro apresenta maior eficiência e baixa formação de subprodutos halogenados nocivos à saúde humana.

2.1 Produção de cloro livre e cloramina

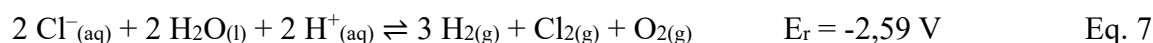
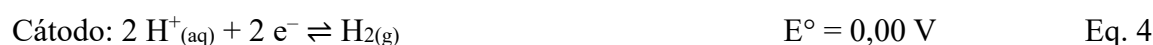
Existem diversos métodos de produção de sanitizantes clorados, sendo os mais comuns por meio de reações de oxidação-redução ou eletrólise. O cloro livre é um gás de cor verde-amarelo que, em meio aquoso, pode formar o ácido hipocloroso (Eq. 1). O método mais

empregado na produção de cloro livre é a eletrólise do cloreto de sódio em solução, formando gás cloro, hidrogênio e oxigênio (Eq. 4-Eq. 6). Quando a eletrólise é feita sem separação das semi-células, ocorre a formação de hipoclorito de sódio devido ao equilíbrio entre o cloro livre e o hidróxido de sódio (Eq. 8) (GUSTIN, 2005; NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1980).

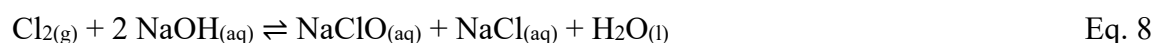
- Reação entre cloro livre e água:



- Reações presentes na eletrólise de salmoura:

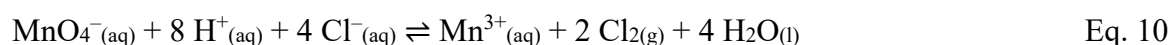
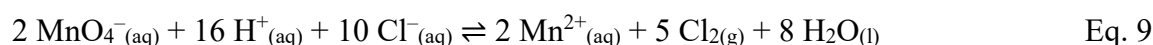


- Reação de formação de hipoclorito em meio básico:



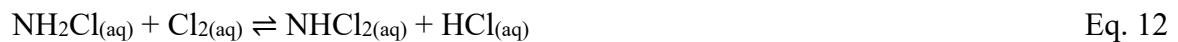
Outro método de produção de cloro livre amplamente empregado em laboratório é a reação de oxidação-redução entre o permanganato de potássio e o ácido clorídrico (Eq. 9 e Eq. 10) (LEVANOV et al., 2006; N. ALYEA, 1969).

- Cloro livre formado a partir de reações de oxidação-redução:

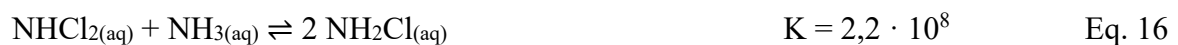


As cloraminas apresentam variação de cor, de incolor a amarelo, dependendo do número de cloros. São produzidas a partir da reação da amônia com o cloro livre (Eq. 11-Eq. 13) ou hipoclorito (Eq. 14-Eq. 17), resultando na formação de mono-, di- ou tricloramina e água (Eq. 14-Eq. 17) ou ácido clorídrico (Eq. 11-Eq. 13). Podem também ser produzidas in situ com a adição de amônia para reagir com cloro residual ou livre. As cloraminas também podem ser produzidas a partir de compostos orgânicos com amina reagindo com hipoclorito (Eq. 18). (COLBOURNE et al., 1978; HUANG et al., 2019; NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1980; VIKESLAND; OZEKIN; VALENTINE, 2001).

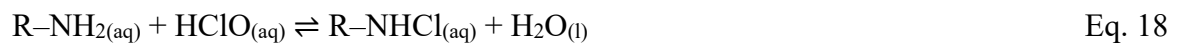
- Cloramina formada a partir de amônia e cloro livre:



- Cloramina formada a partir de amônia e ácido hipocloroso:



- Cloramina formada a partir de amino-compostos e ácido hipocloroso:



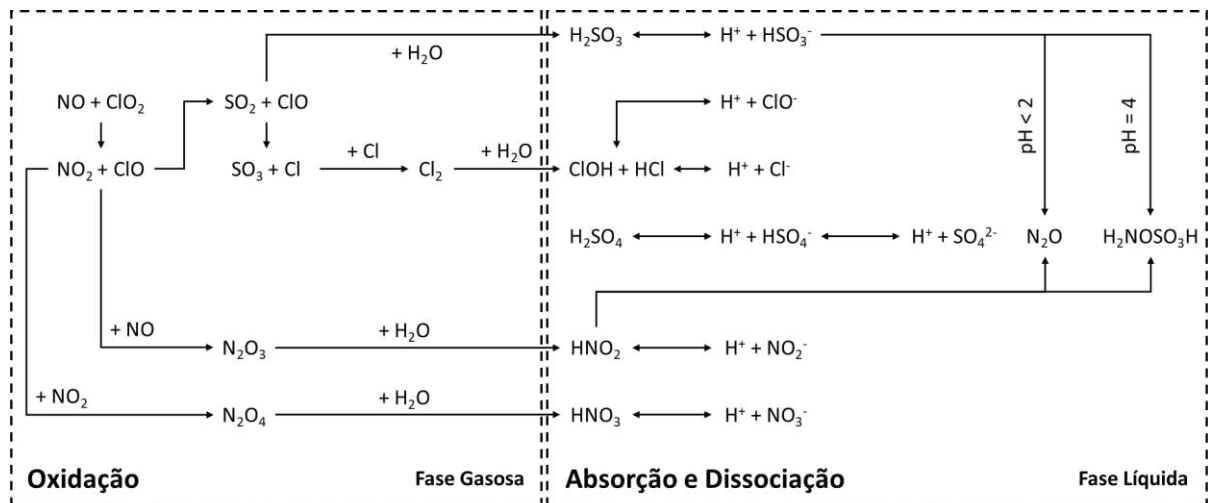
2.2 Dióxido de cloro

O dióxido de cloro (ClO_2) é um radical livre com alta capacidade oxidativa e boas propriedades germicidas, com ação de desinfecção residual e controle de biofilme (PERCIVAL et al., 2013). A atividade biocida do dióxido de cloro se deve ao rompimento da membrana plasmática e à inibição da síntese proteica, apresentando atividade esporicida contra bactérias (CHAURET, 2014). Quando aplicado na etapa de desinfecção em estações de tratamento de água, ele demonstra capacidade de inativar patógenos transmitidos pela água, incluindo

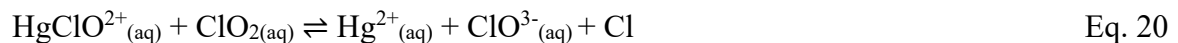
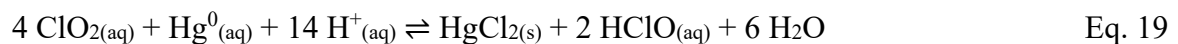
ocistos de *Cryptosporidium parvum*, com eficiência igual ou superior à do cloro livre (BACKER, 2017).

O uso da capacidade oxidativa do dióxido de cloro se estende a processos de remoção de poluentes orgânicos e inorgânicos. Observa-se a eficácia desse gás oxidante na oxidação de compostos como NO_x, SO_x (Figura 1) e mercúrio (Eq. 19 e Eq. 20), convertendo-os em espécies de menor toxicidade. Quando se trata de compostos orgânicos, o dióxido de cloro é capaz de reduzir odores presentes na água, degradando compostos orgânicos voláteis (COV) e removendo substâncias como hexanal e 2-metilbutanal (em pH 3,6-5,1; 23-40°C), aldeídos (a 50-65°C), etanotiol (em pH 5,1), 1,2-etanoditiol (em pH 9) e formaldeído (5-100 mgClO₂ L⁻¹) (CHEN et al., 2020).

Figura 1 – Processos de oxidação de compostos NO_x e SO_x.

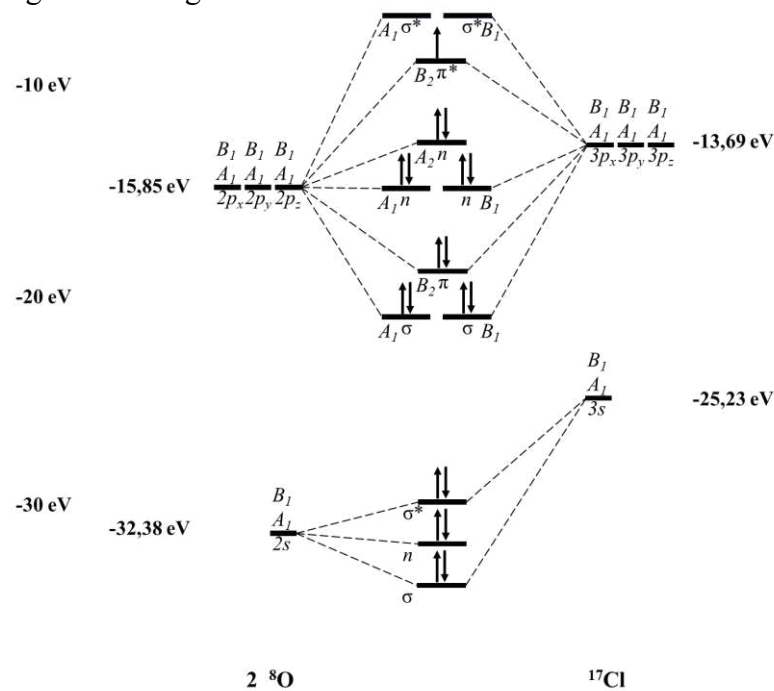


Fonte: CHEN (2020).



Formado a partir de cloro ligado a dois oxigênios (Figura 2), o dióxido de cloro é um gás de cor verde-amarelada, portanto volátil e instável em solução, podendo ser produzido por várias rotas reacionais. Menos instável que o ozônio e não produzindo resíduos persistentes, o dióxido de cloro ocasiona pouca ou nenhuma formação de compostos organoclorados e apresenta eficiência em uma ampla faixa de pH, tendo como subprodutos o clorito (ClO₂⁻) e o clorato (ClO₃⁻) (AUERBACH; DONNER; WEISS, 2008).

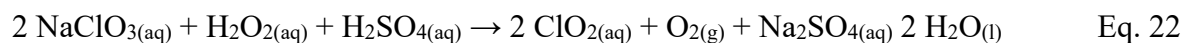
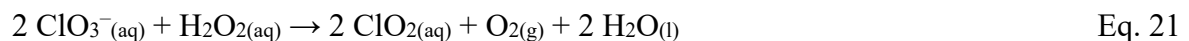
Figura 2 – Diagrama de orbital molecular do dióxido de cloro.



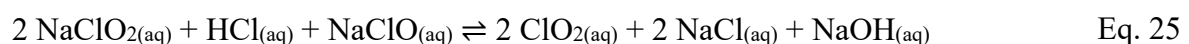
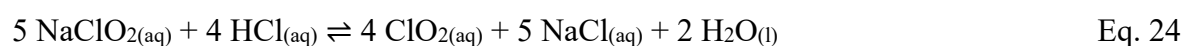
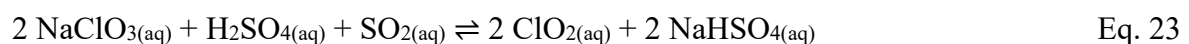
Fonte: SUTTON (2017).

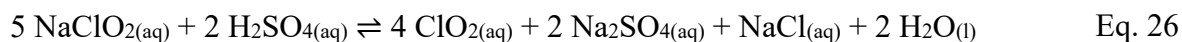
Usando o clorato, pode-se empregar peróxido e radiação UV (Eq. 21), peróxido e ácido sulfúrico (Eq. 22), ácido sulfúrico e dióxido de enxofre (Eq. 23) ou metanol e ácido sulfúrico (Eq. 27 e Eq. 28) na geração de dióxido de cloro. Quando se emprega o clorito, este pode reagir com ácido clorídrico (Eq. 24), ácido clorídrico e hipoclorito de sódio (Eq. 25), cloro livre (Eq. 29), tiosulfato de sódio (Eq. 30) ou ácido sulfúrico (Eq. 26) (DESHWAL; LEE, 2004; NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1980; SALES MONTEIRO et al., 2021; SINGH; SONAL; MISHRA, 2021).

- Dióxido de cloro formado a partir de clorato com peróxido:

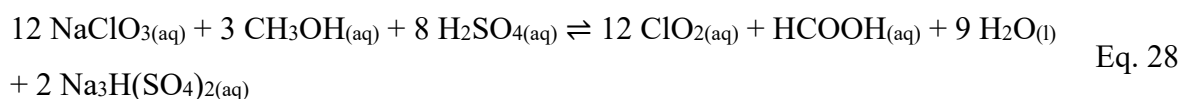
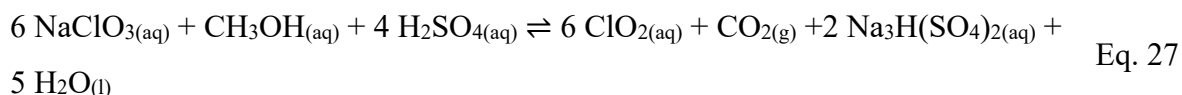


- Dióxido de cloro formado a partir de clorato/clorito com ácido:

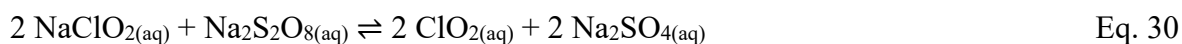
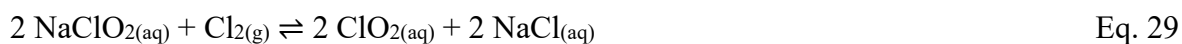




- Dióxido de cloro formado a partir de clorato com ácido e álcool:

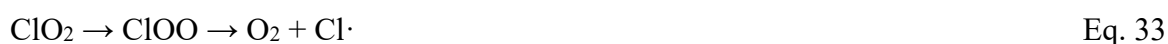


- Dióxido de cloro formado a partir de outras rotas:



Apesar da alta capacidade oxidativa do dióxido de cloro, este é bastante instável, tornando o transporte inviável, sendo normalmente produzido no local para minimizar as perdas por decomposição. Em $\text{pH} > 9$, o dióxido de cloro tende a formar íons clorato e clorito (Eq. 31). Na presença de radiação UV, tende a formar espécies radicalares (Eq. 32 e Eq. 33) (KONG et al., 2021; LV et al., 2021).

- Decomposição do dióxido de cloro:



A escolha da rota reacional para produção em larga escala leva em consideração fatores como a formação de subprodutos não persistentes, altas taxas de produção do dióxido de cloro e menor custo. Algumas rotas reacionais podem resultar na formação de subprodutos indesejáveis, como ácido fórmico (HCOOH) ou hidróxido de sódio (NaOH), que podem alterar os parâmetros organolépticos da água. Além disso, a formação de cloro livre (HClO/ClO⁻/Cl₂) pode originar compostos organoclorados. Portanto, sistemas de produção em grande escala utilizam clorito de sódio (NaClO₂) e ácido clorídrico (HCl) no processo de produção, atingindo

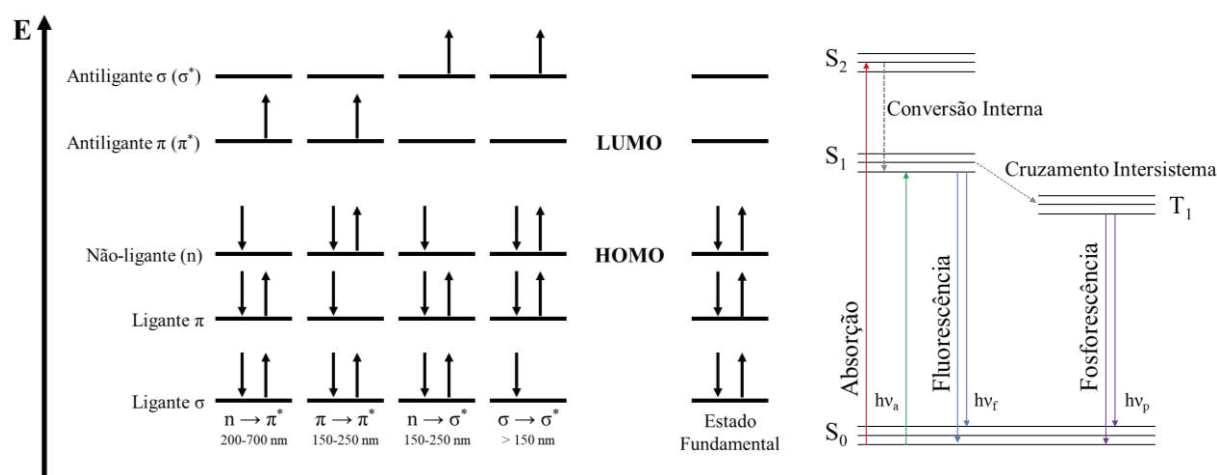
teores de 200-500 mg L⁻¹ de dióxido de cloro. Dessa forma, os métodos de determinação desse gás em solução devem ser confiáveis para altas concentrações do oxidante na água.

3 ESPECTROSCOPIA E ESPECTROFOTOMETRIA

A espectroscopia estuda a interação da radiação com a matéria por meio da emissão, espalhamento e/ou absorção da radiação por moléculas ou átomos. O fenômeno de absorção ocorre quando a energia de um fóton é absorvida, promovendo a excitação de um elétron do seu estado fundamental para o estado excitado. Isso pode resultar em transições eletrônicas, como σ ligantes e σ antiligantes ($\sigma \rightarrow \sigma^*$), não ligantes (n) e σ antiligantes ($n \rightarrow \sigma^*$), não ligantes e π antiligantes ($n \rightarrow \pi^*$), a banda R ($n \rightarrow \pi^*$) característica de grupos cromóforos (insaturado covalente); ou entre π ligantes e π antiligantes ($\pi \rightarrow \pi^*$), a banda K característica de sistemas π conjugados (CHIRAYIL et al., 2017; TOMOVSKA et al., 2014).

Após a absorção da radiação, pode ocorrer o fenômeno de fluorescência, no qual os elétrons são excitados de seus estados fundamentais. Em seguida, ocorre um relaxamento para o nível vibracional fundamental por meio da conversão interna, e, por fim, retornam ao estado fundamental com a emissão de fótons. O tempo de vida do estado excitado define se uma molécula ou átomo é fluorescente ou fosforescente, sendo que a fosforescência apresenta tempos mais longos no estado excitado ($>10^{-4}$ s). Na espectroscopia de absorção e fluorescência, os orbitais moleculares envolvidos são os de mais alta energia ocupados (HOMO) e os orbitais de mais baixa energia desocupados (LUMO), conforme representado na Figura 3.

Figura 3 – Transições entre níveis de energia eletrônicos e diagrama de Jablonski.



Fonte: Valeur (2001) e Lakowicz (2006).

3.1 Espectrofotometria de absorção

De acordo com Germer *et al.* (2014), a espectrofotometria trata da interação entre a matéria e a luz, podendo essa ser espalhada, transmitida ou refletida. É de suma importância no campo da ciência e tecnologia, especialmente na medição quantitativa da interação entre radiação ultravioleta (UV), visível (VIS) e infravermelha (IR) com a matéria. As medições espectrofotométricas podem ser realizadas por meio da reflectância espectral, transmitância, absorbância, emitância, espalhamento ou fluorescência. Ela tem vasta aplicação em medições de absorção óptica e fluorescência para quantificação de princípios ativos e contaminantes nas indústrias químicas e farmacêuticas.

Na espectrofotometria de absorção, a incidência de um feixe de luz na matéria ocasiona a absorção de fótons de determinado comprimento do espectro visível, resultando na observação da cor complementar à cor absorvida (Tabela 1). Alguns materiais apresentam características luminescentes distintas e são capazes de absorver radiação fora do espectro visível e emitir fótons no espectro visível, como é o caso de alguns minerais (como fluoritas, calcitas e piritas) e branqueadores ópticos empregados em papéis e tecidos.

Tabela 1 – Luz visível e cores complementares.

Comprimento de onda (nm)	Cor Absorvida	Cor Observada
< 400	Ultravioleta	-
400 – 450	Violeta	Amarelo
450 – 490	Azul	Laranja
490 – 550	Verde	Vermelho
550 – 580	Amarelo	Violeta
580 – 650	Laranja	Azul
650 -700	Vermelho	Verde
> 700	Infravermelho	-

Fonte: Miessler (2014) modificado.

Por meio da absorção de fótons pela amostra, é possível correlacionar a concentração da espécie com o feixe de luz incidente. Quanto maior for o teor da espécie absorvente no meio, maior será a absorção de luz. A Lei de Beer-Lambert é a representação da relação entre a luz absorvida e a concentração da espécie absorvente (Eq. 34).

$$A = -\log T = \log \frac{i_0}{i} = \epsilon c d \quad \text{Eq. 34}$$

A absorvância (A) é calculada a partir da transmitância (T) e corresponde ao logaritmo da razão da intensidade do feixe de luz na ausência da espécie absorvente (i_0) pela intensidade do feixe de luz na presença da espécie absorvente (i). Portanto, a absorção de luz está diretamente relacionada à concentração da espécie (c) e ao caminho óptico (d), permitindo a determinação da densidade óptica ou absortividade molar (ϵ), que é uma propriedade óptica intrínseca da substância absorvente.

Em alguns casos, concentrações elevadas das espécies em análise podem resultar em desvios da Lei de Lambert-Beer. A absortividade molar pode se tornar uma função da concentração (BARNETT; FRANCIS, 2005), o que pode levar a uma absorção mais alta, espalhamento ou mudanças estruturais, como polimerização, agregação ou reações fotoquímicas.

De acordo com Mäntele & Deniz (2017), para aplicar a Lei de Lambert-Beer na espectrofotometria, algumas condições fundamentais devem ser atendidas: a medição deve ser monocromática, as moléculas na amostra devem estar homoganeamente distribuídas, o feixe de medição deve passar completamente pela amostra, não deve haver espalhamento de luz nem reações fotoquímicas na amostra, e não deve haver reemissão da luz absorvida por fluorescência. A detecção e o processamento ideais dos valores de intensidade i_0 e i também são essenciais.

Com o objetivo de obter feixes monocromáticos, os sistemas de espectrofotometria UV-Vis utilizam separadores de comprimento de onda, como prismas, redes de difração ou filtros de interferência, e empregam selecionadores de comprimento de onda conhecidos como monocromadores ou policromadores. A escolha do comprimento de onda é importante para análises quantitativas, permitindo uma determinação seletiva em relação a outras espécies presentes na amostra.

No entanto, alguns materiais podem apresentar excitação com fótons de determinados comprimentos de onda, emitindo em outras faixas espectrais, como no caso da fluorescência. O efeito da fluorescência pode interferir nas análises quantitativas, uma vez que, ao absorver outros comprimentos de onda, o analito pode emitir no comprimento de onda de interesse da análise, reduzindo a absorvância. No entanto, algumas estratégias são empregadas, como a seleção de feixes monocromáticos cujo comprimento de onda está fora do espectro de emissão do analito.

3.2 Instrumentação

Espectrofotômetros que analisam do espectro UV ao visível têm sido amplamente empregados na análise de soluções, em que, por meio de um feixe de luz, as propriedades de absorvância e transmitância são medidas em análises qualitativas e quantitativas (MYERS, 2019). Lâmpadas de deutério são utilizadas como fontes de radiação ultravioleta, nas quais moléculas de deutério são excitadas por meio de descarga elétrica, promovendo a formação de dois átomos de deutério e a emissão de fótons (Eq. 35).



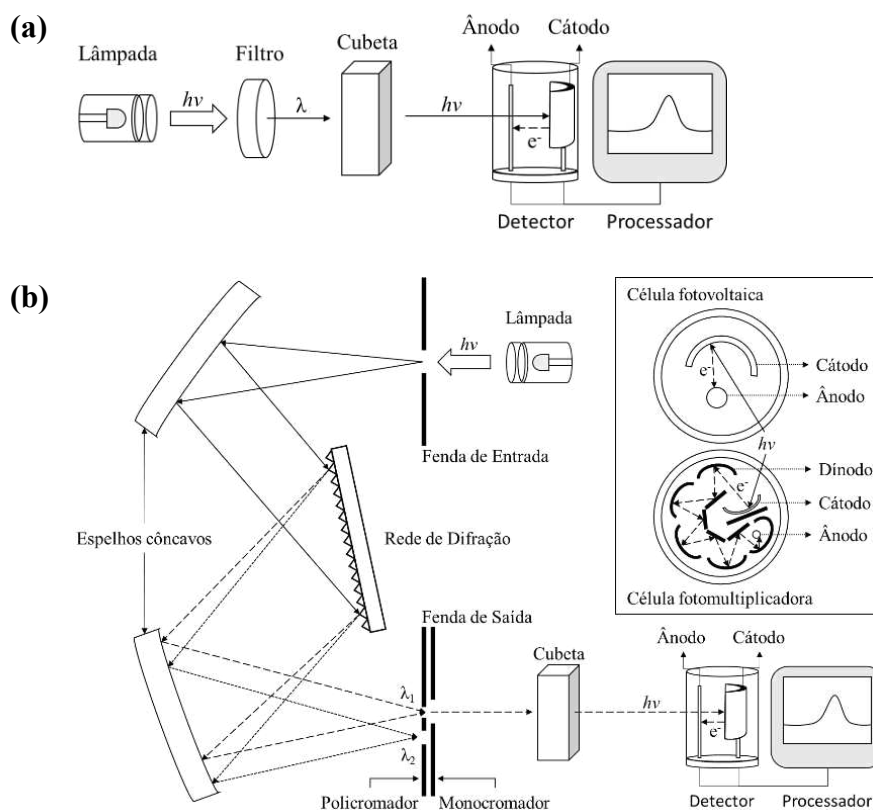
O feixe de fótons é direcionado para a cubeta após passar pelo separador de comprimentos de onda (monocromador, policromador ou filtro), atingindo, por fim, o detector (célula fotovoltaica, fotomultiplicadora ou fotodiodos), gerando um sinal elétrico e analítico. O monocromador consiste em um conjunto de espelhos e rede de difração, no qual a radiação emitida tem os comprimentos de onda separados pela rede de difração e direcionados para a amostra por meio de uma fenda com o auxílio de lentes ou espelhos. Enquanto o policromador apresenta múltiplas fendas, permitindo a leitura simultânea de múltiplos comprimentos de onda. Os filtros podem ser de absorção, que isolam bandas do espectro visível com largura de 30-250 nm, ou de interferência, que isolam bandas do espectro ultravioleta e visível com largura de banda de 5-20 nm.

Quando incidida nas amostras, a radiação pode ser absorvida, apresentar fluorescência ou passar livremente até o detector. O detector consiste em uma célula fotovoltaica, onde a radiação incide no cátodo, liberando elétrons que são captados pelo ânodo, produzindo corrente elétrica. Sistemas mais modernos empregam conjuntos de diodos associados ao cátodo e ânodo, o que resulta na ampliação do sinal elétrico devido à propagação de elétrons em cadeia. O sinal elétrico é processado, estabelecendo a relação entre a radiação incidente e a absorvida, conforme estabelecido pela Lei de Lambert-Beer.

Na literatura, é possível encontrar diversos métodos de inserção de amostra, tais como células (cubetas) retangulares com volumes que variam de 2,5 a 20 mL, amplamente empregadas em análises de composição química. Existem também células semi-micro, micro e super micro com volumes de 0,05 a 1,6 mL, usadas em análises bioquímicas, e células cilíndricas com volumes de 3,8 a 38 mL para análises de grandes volumes de amostras com o intuito de aumentar a sensibilidade da análise. No entanto, vale ressaltar as células de fluxo, nas quais

as amostras são encaminhadas por sistemas de bombas. Essas células permitem a aplicação de etapas de tratamento da amostra, como a adição de ar, reagentes, água para diluição e sistemas termostáticos para controle da temperatura.

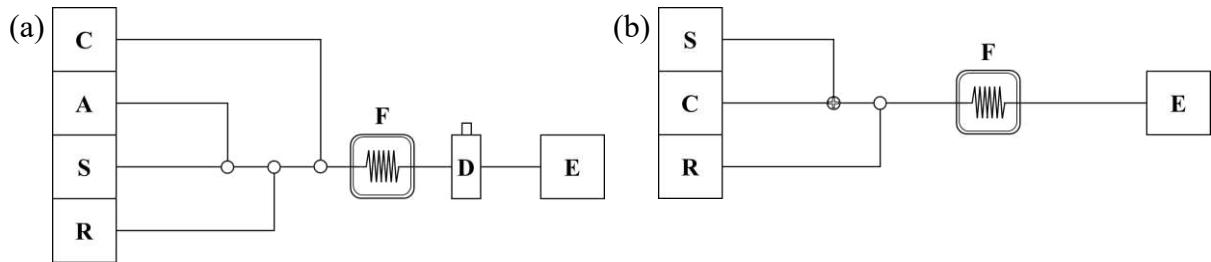
Figura 4 – Esquema de operação de um espectrofotômetro de UV-Vis com e filtro monocromador (a) e rede de difração (b).



Fonte: Autor (2023).

As análises de fluxo, inicialmente concebidas como Análise de Fluxo Segmentado (AFS) por Leonard Skeggs em 1951, foram desenvolvidas com o propósito de dinamizar ensaios químicos devido à crescente demanda. Essas análises integravam temporizadores, bombas hidráulicas e termostatos com o objetivo de executar etapas seriadas de preparo de amostra, sendo, por fim, direcionadas ao detector (ZAGATTO; WORSFOLD, 2004). Não havendo contato entre o analista e a amostra devido ao caminho analítico estar em ambiente fechado, minimizam-se contaminações do ambiente e perdas devido à manipulação, contribuindo para a reprodutibilidade dos métodos analíticos. Em 1975, J. Ruzicka e EH Hansen desenvolveram a Análise de Injeção de Fluxo (AIF), que, diferentemente da AFS, opera com volume constante de amostra em regime laminar, reduzindo a possibilidade de sobrecarga do sistema hidráulico e eliminando a necessidade de segmentação para remoção de bolhas (CERDÀ et al., 2014).

Figura 5 – Sistema de Fluxo Segmentado (a), Sistema de Injeção de Fluxo (b).

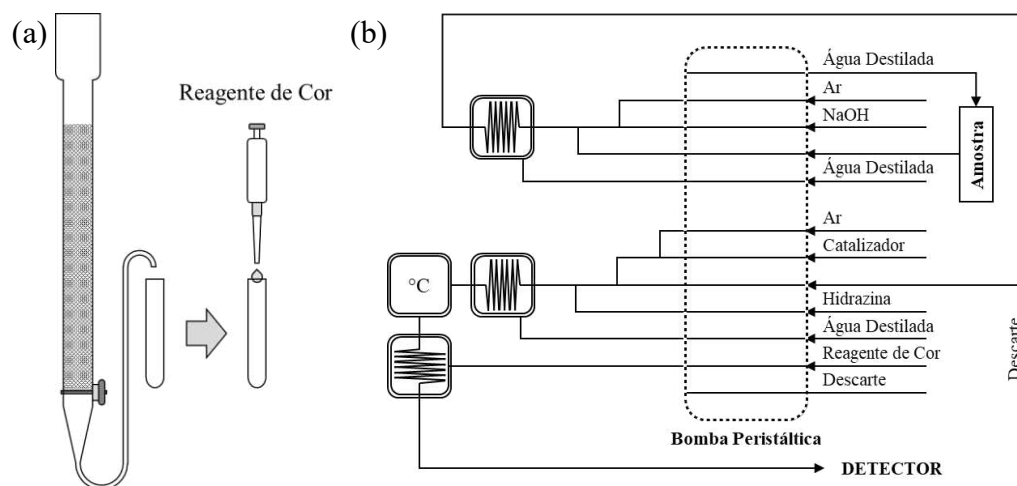


Legenda: Amostra (S), Ar (A), Carreador (C), Reagente (R), Bobina e Termostato (F) e Detector (E).
Fonte: Autor (2023).

A técnica de espectrofotometria de UV-Vis tem sido aplicada na determinação de diversos parâmetros para o monitoramento da qualidade da água. É comumente empregada na análise da série do nitrogênio (total, amoniacal, nitrito e nitrato), fósforo (total e ortofosfato), carbono (Demanda Química de Oxigênio - DQO), entre outros, a maioria dos quais utiliza reagentes colorimétricos para determinar os teores dos analitos.

Entretanto, algumas análises envolvem o uso de reagentes com elevada toxicidade. Nestes casos, a técnica de injeção de fluxo é frequentemente empregada para minimizar o contato do analista com os reagentes e facilitar o descarte, como no método automatizado de determinação do nitrato por redução com hidrazina.

Figura 6 – Análise de nitrato por redução em coluna de cádmio (a) e por redução com hidrazina em sistema de fluxo (b).



Fonte: Autor (2023).

No que diz respeito ao amplo uso da técnica espectrofotométrica na análise de água, o emprego de sistemas de fluxo para a análise de dióxido de cloro mostra-se uma alternativa válida para o controle em linhas de produção em estações de tratamento de água e esgoto. Essa

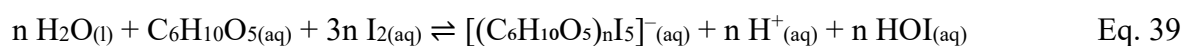
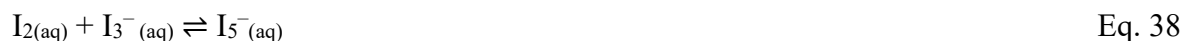
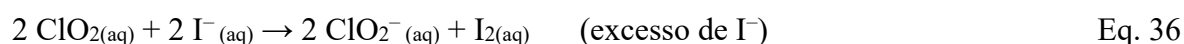
abordagem oferece diversas vantagens, incluindo a possibilidade de automação do processo analítico, permitindo uma análise contínua e em tempo real. O uso de sistemas de fluxo também minimiza a interferência de variáveis externas, proporcionando resultados mais estáveis e confiáveis. Além disso, a eficiência na utilização de reagentes e a redução do tempo de análise são benefícios adicionais associados a essa técnica.

A aplicação de sistemas de fluxo para a análise de dióxido de cloro contribui significativamente para o monitoramento eficaz dos processos de tratamento de água, garantindo a conformidade com os padrões regulatórios estabelecidos. Essa abordagem inovadora não apenas aprimora a eficiência operacional, mas também assegura a qualidade da água tratada, cumprindo assim os requisitos essenciais para a saúde pública e ambiental.

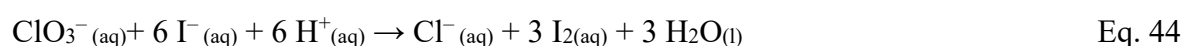
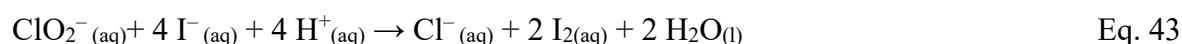
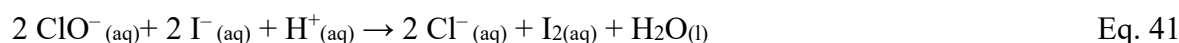
4 METODOLOGIAS ANALÍTICAS EMPREGADAS NA DETERMINAÇÃO DO DIÓXIDO DE CLORO

As diferentes reações para a produção de dióxido de cloro geram a formação de diversos subprodutos, podendo esses subprodutos reduzir o rendimento da reação e promover reações de degradação do dióxido de cloro. Isso ocorre além das degradações que podem ser causadas pela incidência de luz, variações de pH e/ou variações de temperatura. Portanto, é importante o desenvolvimento de técnicas que permitam a quantificação do dióxido de cloro com precisão e exatidão nas linhas de produção, tendo em vista a instabilidade do gás.

A determinação do dióxido de cloro pode ser feita por meio de titulação iodométrica, na qual o dióxido de cloro, em meio ácido, reage com o iodeto de potássio (Eq. 36) em excesso de iodeto (Eq. 37 e Eq. 38), formando o complexo amido-iodo (Eq. 39). Esse complexo pode, então, ser titulado com tiosulfato (Eq. 40) (HAGGSTROM et al., 2019; POST; MOORE, 1959; SKOOG; HOLLER; WEST, 2006; TEITELBAUM; RUBY; MARKS, 1980).



No entanto, a reação do dióxido de cloro com o iodo não é seletiva, pois outras espécies oxidantes de cloro podem reagir com o iodo, como é o caso do cloro livre (Eq. 41), (Eq. 42), clorito (Eq. 43) e clorato (Eq. 44). Portanto, esse método é pouco preciso para a determinação do dióxido na presença de outras espécies oxidantes.



De acordo com Tzanavaras et al. (2007), diversas técnicas têm sido estudadas para a determinação de dióxido de cloro, incluindo métodos fluorimétricos, eletroanalíticos, cromatográficos e espectrofotométricos. Quando empregada a análise de fluorescência utilizando

reagentes como ácido cromotrópico ($C_{10}H_8O_8S_2$) em tampão citrato, fluoresceína ($C_{20}H_{12}O_5$) e rodamina S ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$) em tampão amônia/cloreto de amônio, foram alcançados limites de detecção (LD) de $0,55 \mu\text{g L}^{-1}$, $28 \mu\text{g L}^{-1}$ e $6 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (JIANG; ZHANG; LIANG, 2005; WATANABE; YOSHIMURA; UCHIYAMA, 1992).

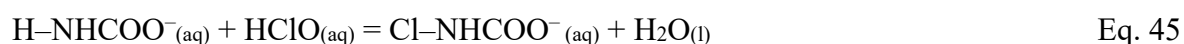
Ainda de acordo com Tzanavaras, técnicas eletroanalíticas, como amperometria (IVASKA; FORSBERG; HEIKKA, 1990), eletrodo de íon-seletivo (TKÁČOVÁ; BOŽÍKOVÁ, 2014), e voltametria por pulso diferencial (MADEC, 1994, 1996), têm sido utilizadas para a determinação do dióxido de cloro, empregando eletrodos de platina e carbono vítreo. O último mostrou melhor desempenho devido à sua maior robustez em relação a variações de pH. As técnicas apresentaram limites de detecção de $2 \mu\text{g L}^{-1}$ para o eletrodo de íon seletivo e $1-2 \mu\text{g L}^{-1}$ para a voltametria. No entanto, foi determinado que o ozônio (O_3) e íons de cobre (Cu^{2+}), alumínio (Al^{3+}) e manganês (Mn^{2+}) apresentam interferência na última técnica.

Em cromatografia, estudos têm sido conduzidos utilizando detectores de UV-conductividade combinados (SULLIVAN; DOUEK, 1998), espectrofotométrico UV-Vis (WATANABE et al., 1998) e espectrometria de massas (SHIN; JUNG, 2006). Observou-se que o método espectrofotométrico apresentou um limite de detecção de $0,20 \text{mg L}^{-1}$, enquanto a espectrometria de massas atingiu 1ng L^{-1} . Além disso, a determinação indireta de dióxido de cloro apresentada por LIN et al. (2022), empregando cromatografia de íons com detector de condutividade, dispensa o uso de detector de UV-Vis. Nesse método, a reação entre uma solução de nitrito e uma amostra contendo dióxido de cloro promove a formação de nitrato, e o teor do analito é determinado com base na concentração de nitrato produzido.

Vários estudos foram realizados empregando espectrofotometria de UV-Vis, na qual corantes são usados como indicadores, como vermelho de clorofenol (SWEETIN; SULLIVAN; GORDON, 1996), amarante (EMMERT et al., 2000), rodamina B (XIN; JINYU, 1995), lissamina verde B (PEPICH et al., 2007) e verde de naftol (KANG; FAN, 2003). Todos os indicadores mencionados requerem condições específicas de pH, tornando necessário o uso de tampão e, portanto, a preparação de amostras.

Entre os métodos espectrofotométricos que usam reagentes de cor (indicadores) em análises indiretas para a determinação de cloro, o método que utiliza o indicador N,N-dietil-p-fenilenodiamina (DPD) é amplamente empregado para análises de cloro livre (MOBERG; KARLBERG, 2000). Algumas variações desse método empregam glicina, que na presença de hipoclorito/ácido hipocloroso (ABDIGHAHROUDI; SCHMIDT; LUTZE, 2020; PRASERT et al., 2023; TRINETTA et al., 2011), formado a partir do cloro livre, reage prontamente formando

cloroglicina (Eq. 45), removendo o interferente e permitindo a determinação do dióxido de cloro. Essa mesma técnica é empregada em métodos bioquímicos que usam peroxidases (enzimas), que na presença de ClO_2 , aceleram o processo de degradação de corantes (PEPICH et al., 2007; TINOCO et al., 1996). Além disso, WATANABE et al. (1997) integram um sistema de injeção de fluxo ao detector de UV-Vis, usando ampirona e fenol e um tampão na formação de cor na região de 503 nm. Em ambos os métodos, a faixa de trabalho para a determinação é inferior a 2 mg L^{-1} , aplicada a valores residuais.



A produção de dióxido de cloro em estações de tratamento de água requer monitoramento em tempo real para controlar a produção e a dosagem em água potável, sendo a espectrofotometria o método mais rápido em comparação com outros métodos, como fluorimetria, amperometria e cromatografia. Além disso, devido à presença de cor nas soluções de dióxido de cloro, a espectrofotometria de uv-vis pode ser considerada uma alternativa viável para o controle da produção e dosagem, sem a necessidade de usar corantes indicadores (GAUW et al., 1999).

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivos gerais

- Validar metodologia de análise espectrofotométrica de uv-vis para determinação de dióxido de cloro em solução aquosa.

5.2 Objetivos específicos

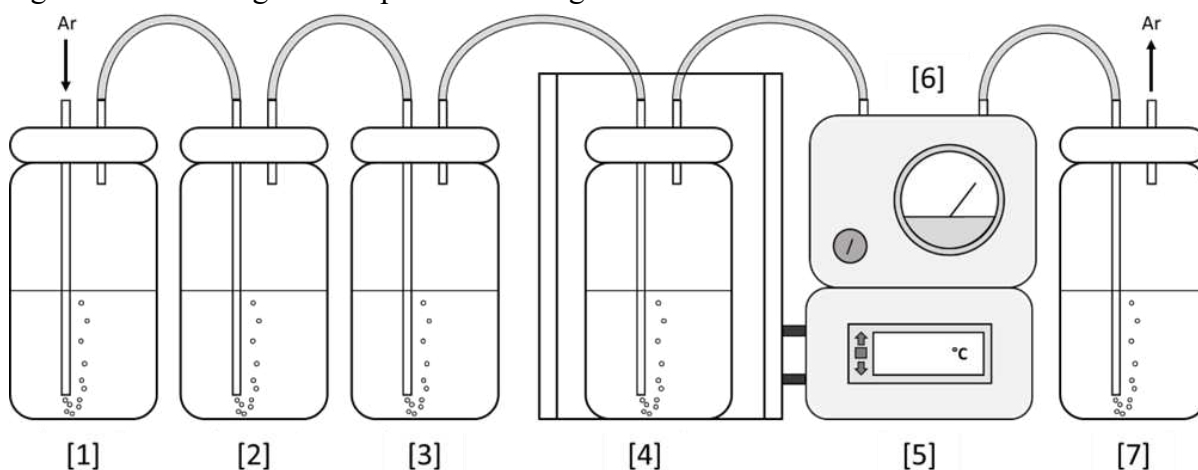
- Avaliar modelo de célula de leitura (cubeta);
- Estudar efeitos de temperatura, pH e interferentes opticamente ativos;
- Selecionar comprimento de onda empregando estatística paramétrica;
- Otimizar condições operacionais de sistema de análise em fluxo;
- Validar metodologia conforme critérios estabelecidos pelas agências regulatórias;
- Realizar estudo comparativo entre a metodologia validada e as demais presentes na literatura.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Preparo de padrão de dióxido de cloro

Seguindo a metodologia proposta por Post and Moore (1959) com modificações no sistema gerador (Figura 7), o procedimento consiste em adicionar 200 mL de água deionizada no frasco de lavagem do ar (1). Em seguida, adiciona-se 0,834 g de clorito de sódio com 80% de pureza em um frasco de reação (2), contendo 100 mL de água deionizada, e acrescenta-se 1,4 mL de ácido sulfúrico a 20%. Além disso, adicione 100 mL de água deionizada em frascos de lavagem do gás (3) e de coleta (4). O frasco de coleta (4) deve ser mantido em um banho termostático para controle da temperatura. Após 1 hora de borbulhamento com o auxílio de uma bomba de vácuo, obtém-se um padrão de dióxido de cloro no frasco (4).

Figura 7 – Sistema gerador e purificador de gás.



*Legenda: [1] frasco de lavagem do ar, [2] frasco de reação (geração de gás), [3] frasco de lavagem de gás, [4] frasco de coleta do gás em solução em banho termostático, [5] controlador do banho termostático, [6] bomba de vácuo e [7] frasco de neutralização do excesso de dióxido de cloro.

Fonte: Autor (2023).

6.1.1 Padronização de dióxido de cloro em solução aquosa

A padronização do dióxido de cloro em solução aquosa foi realizada por meio de uma titulação iodométrica, seguindo o procedimento descrito por Post e Moore (1959), com adaptações. No início, em um erlenmeyer de 50 mL contendo 10 mL de água deionizada, foram adicionados 5 mL de padrão de dióxido de cloro (v1), 5 mL de ácido acético glacial e 1,00 g de iodeto de potássio. A mistura foi deixada em repouso por 5 minutos, no escuro, antes de iniciar a titulação. A amostra foi titulada com uma solução de tiosulfato de sódio 0,01N até que a

intensidade da cor amarelo-escuro tenha reduzido para amarelo-pálido, e então 1 mL de solução de amido $5,0 \text{ g L}^{-1}$ foi adicionado. A titulação continuou até que a cor azul tenha desaparecido. O volume de tiosulfato $0,01\text{N}$ consumido na titulação foi anotado como v_2 .

Para concentrações de 1 a 10 mg L^{-1} , 500 mL de amostra foram utilizados. Na titulação do branco, o mesmo procedimento da amostra foi seguido, mas substituindo a amostra por água deionizada. Antes do início da titulação, 1 mL de solução de amido foi adicionado. Se a solução apresentasse uma coloração azul, foi titulada com solução de tiosulfato $0,01\text{N}$ até que a cor azul desaparecesse. O volume de tiosulfato foi anotado com um sinal negativo (v_3). Se a solução não apresentasse cor azul, a amostra foi titulada com solução de iodo $0,0282\text{N}$ até que a cor amarela aparecesse, e então titulada com solução de tiosulfato $0,01\text{N}$. Os volumes das soluções de iodo e tiosulfato foram anotados, sendo a diferença entre eles representando o volume de tiosulfato consumido, apresentando um valor positivo (v_3). O valor da concentração de dióxido de cloro na solução foi calculado usando a Eq. 46

$$\text{ClO}_2 \text{ mg L}^{-1} = \frac{(v_2 \pm v_3) \times N \times \text{FC} \times 13490}{v_1} \quad (v_1, v_2 \text{ e } v_3 \text{ em mL}) \quad \text{Eq. 46}$$

N = Normalidade do Tiosulfato; FC = Fator de Correção da Concentração de Tiosulfato.

6.2 Preparo de padrão de cloro livre

Empregando a metodologia proposta por Alyea (1969) com modificações no sistema gerador, conforme ilustrado na Figura 7, adiciona-se 200 mL de água deionizada ao frasco de lavagem do ar (1). Em seguida, coloca-se 1,000 g de permanganato de potássio com 99,9% de pureza no frasco de reação (2), contendo 100 mL de água deionizada, e acrescentam-se 2 mL de ácido clorídrico concentrado. Adicionalmente, 100 mL de água deionizada são adicionados aos frascos de lavagem do gás (3) e de coleta (4), sendo este último mantido em um banho termostático para controle da temperatura. Após 1 hora de borbulhamento com uma bomba de vácuo, obtém-se o padrão de cloro livre no frasco (4).

6.2.1 Padronização de cloro total em solução aquosa

A padronização do cloro livre foi realizada por meio de titulação iodométrica, seguindo o procedimento descrito por Post e Moore (1959) com adaptações. Em um erlenmeyer de 50 mL contendo 10 mL de água deionizada, foram adicionados 5 mL de padrão de dióxido

de cloro (v_1), 5 mL de ácido acético glacial e 1,00 g de iodeto de potássio. A mistura foi mantida em repouso por 5 minutos no escuro antes de iniciar a titulação. A titulação foi conduzida com solução de tiosulfato de sódio 0,01N até que a intensidade da cor amarelo-escuro se reduzisse a amarelo-pálido, momento em que foi adicionado 1 mL de solução de amido $5,0 \text{ g L}^{-1}$. A titulação prosseguiu até o desaparecimento da cor azul. O volume de tiosulfato 0,01N consumido na titulação foi anotado como v_2 .

Para concentrações de 1 a 10 mg L^{-1} , utilizou-se um volume de 500 mL de amostra. Na titulação do branco, o mesmo procedimento foi empregado para a amostra, substituindo-a por água deionizada. Antes de iniciar a titulação, adicionou-se 1 mL de solução de amido. Caso tenha ocorrido coloração azul, a titulação foi realizada com solução de tiosulfato 0,01N até o desaparecimento da cor azul, e o volume de tiosulfato consumido foi anotado com sinal negativo (v_3). Se não houve coloração azul, a amostra foi titulada com solução de iodo 0,0282N até o aparecimento da cor amarela. Em seguida, prosseguiu-se a titulação com solução de tiosulfato 0,01N. O volume de solução de iodo e o volume de tiosulfato consumidos foram anotados, sendo a diferença entre eles o volume de tiosulfato consumido, apresentando valor positivo (v_3). O valor do cloro livre em solução foi calculado de acordo com a Eq. 47.

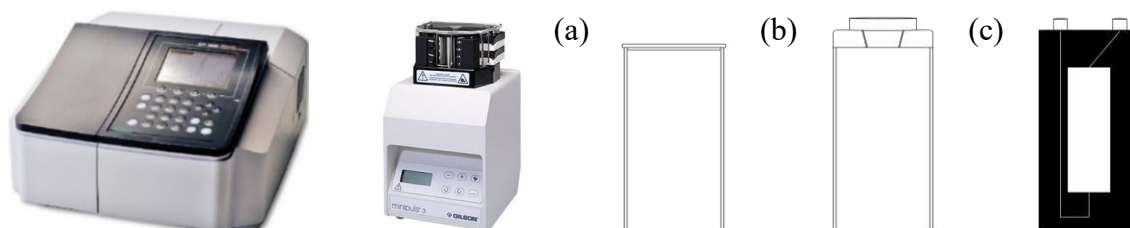
$$\text{Cl}_2 \text{ mg L}^{-1} = \frac{(v_2 \pm v_3) \times N \times \text{FC} \times 35450}{v_1} \quad (v_1, v_2 \text{ e } v_3 \text{ em mL}) \quad \text{Eq. 47}$$

N = Normalidade do Tiosulfato; FC = Fator de Correção da Concentração de Tiosulfato.

6.3 Espectrofotometria de uv-vis

As medidas de absorbância foram realizadas utilizando um espectrofotômetro de UV-Vis Shimadzu UV-1800 e os dados foram processados no software UVProbe 2.43. Foram empregadas cubetas de quartzo polido com um caminho óptico de 10 mm e um volume de 3,5 mL, tanto cubetas semi-herméticas quanto herméticas, bem como células de injeção de fluxo de quartzo polido com um caminho óptico de 10 mm e um volume de 0,8 mL, conforme representado na Figura 8. As varreduras espectrais foram realizadas na faixa de comprimentos de onda de 190 a 800 nm, com uma resolução de 0,1 nm.

Figura 8 – Espectrofotômetro, bomba peristáltica e cubetas semi-hermética (a), hermética (b) e injeção de fluxo (c).



Fonte: Autor (2023).

6.3.1 *Determinação direta de dióxido de cloro por espectrofotometria*

O desenvolvimento da metodologia de leitura da absorbância sem o uso de indicadores foi realizado considerando a natureza do analito (gás em solução). Inicialmente, foram avaliados os modelos de cubeta adequados para leituras estáticas e os parâmetros de controle de fluxo e temperatura para a análise de fluxo. Em seguida, foi determinado o comprimento de onda comum aos modelos de cubetas (estático e fluxo) para medição das absorbâncias que atendessem aos critérios estatísticos necessários para a obtenção do modelo de regressão.

As soluções de calibração de dióxido de cloro foram preparadas com água deionizada em concentrações variando de 65 a 500 mg L⁻¹ e, em seguida, foram analisadas em um espectrofotômetro de UV-Vis, com varredura do espectro na faixa de comprimentos de onda de 190 a 800 nm.

6.3.2 *Determinação de cloro total e dióxido de cloro por N, N-dietil-p-fenilenodiamina (DPD)*

A determinação do dióxido de cloro é realizada por meio do Método Colorimétrico DPD 4500-Cl, com modificações na metodologia que incluem a utilização de um tampão contendo glicina para suprimir as espécies de cloro livre e hipoclorito, convertendo-as em cloroglicina. Essa metodologia foi baseada nas técnicas Abdighahroudi *et al.* (2020) e Prasert *et al.* (2023). As medidas de absorbância foram realizadas com leituras em 515 nm (Abs⁵¹⁵) utilizando uma cubeta semi-hermética.

6.3.2.1 Soluções para análise DPD

A Solução Estoque Indicadora (DPD-SEI) foi preparada dissolvendo 0,165 g de Sulfato DPD anidro e 30 mg de EDTA dissódico em 50 mL de água deionizada. Em seguida, adicionou-se 1,2 mL de ácido sulfúrico 25% à solução. Ela foi então transferida para um balão volumétrico de 100 mL e ajustada até a marcação com água deionizada.

A Solução Tampão Fosfato Concentrado (DPD-TFC) foi preparada combinando 3,60 g de fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4), 6,90 g de fosfato de potássio monobásico anidro (KH_2PO_4), e 120 mg de EDTA dissódico em 50 mL de água deionizada. A solução resultante foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e ajustada até a marcação com água deionizada. Uma gota de tolueno foi adicionada.

A Solução de Glicina 1% (DPD-Gli) foi preparada adicionando 1 g de glicina em um balão volumétrico de 100 mL, que foi então ajustado até a marcação com água deionizada. Também foi adicionada uma gota de tolueno.

6.3.2.2 Calibração e Validação

A calibração foi realizada diluindo o Padrão de Dióxido de Cloro, conforme descrito na seção 6.1 *Preparo de padrão de dióxido de cloro*, para preparar triplicatas dos padrões nas concentrações de 0,2 a 1,8 mg L^{-1} em balões volumétricos de 50 mL.

As soluções de calibração de dióxido de cloro foram transferidas para tubos de ponta cônica de 15 mL até atingirem o volume máximo. Em seguida, foi adicionado 0,1 mL de solução DPD-Gli a cada tubo, agitando levemente a mistura e deixando-a em repouso por 2 minutos. Após esse período, foram adicionados 0,5 mL de solução DPD-SEI e 0,5 mL de solução DPD-TFC a cada tubo. As absorvâncias (Abs^{515}) das soluções foram medidas e utilizadas na determinação do dióxido de cloro.

6.3.2.3 Análise de amostras

As amostras coletadas foram diluídas com água deionizada na razão de 1:150 em seis réplicas, das quais três foram purgadas com gás nitrogênio 4.0 a 15 mL min^{-1} durante 5 minutos. Alíquotas de 15 mL foram transferidas para tubos de ponta cônica, sendo adicionados 0,1 mL da solução DPD-Gli. Após uma leve agitação, as amostras foram deixadas em repouso

por 2 minutos, em seguida, foi adicionado 0,5 mL da solução DPD-SEI e 0,5 mL da solução DPD-TFC.

As concentrações foram determinadas pela diferença entre as absorvâncias (Abs^{515}) obtidas nas triplicatas não purgadas e nas triplicatas purgadas, respectivamente.

6.4 Espectroscopia de fluorescência

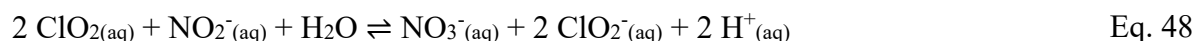
As análises de fluorescência foram realizadas em um fluorímetro RF-6000 da Shimadzu e os resultados foram processados utilizando o software LabSolution RF. Foram utilizadas cubetas de quartzo polido com caminho óptico de 10 mm e volume de 3,5 mL. A matriz de excitação e emissão (MEE) foi obtida com excitação e absorção na faixa de 200-800 nm, com intervalo de 5 nm e uma velocidade de 6000 nm min⁻¹.

6.5 Cromatografia de íons

As análises multi-ânions foram conduzidas no cromatógrafo de íons Thermo ICS-1100 e processadas através do software Chromeleon 7. Utilizou-se a coluna Dionex IonPac AS23 (2 x 250 mm) com um fluxo de 0,25 mL min⁻¹ a uma temperatura de 30°C. O sistema incorporou o módulo Supressor Dionex ASRS 300 2 mm (7 mA) e uma injeção de 25 µL. A fase móvel, empregada de maneira isocrática, consistiu em 0,45 mmol L⁻¹ de Na₂CO₃ e 0,8 mmol L⁻¹ de NaHCO₃. Esses parâmetros foram aplicados para a determinação dos ânions fluoreto, clorito, cloreto, nitrito, clorato, brometo, nitrato, fosfato e sulfato, na faixa de concentração de 1,0 a 33,0 mg L⁻¹.

6.5.1 Determinação indireta de dióxido de cloro por cromatografia de íons

A determinação do dióxido de cloro por cromatografia de íons foi realizada de acordo com a metodologia apresentada por Lin *et al.* (2022). Esse método é baseado em uma abordagem indireta, em que uma solução de nitrito 0,1 mol L⁻¹ é empregada como agente redutor para converter o dióxido de cloro em clorito. A determinação do teor de dióxido de cloro é feita a partir da formação de nitrato na solução.



$$C_{DC} = C_{NO_3} \frac{62}{134,9} \quad \text{Eq. 49}$$

A Solução Redutora Nitrito 0,1 mol L⁻¹ (IC-RN) é preparada dissolvendo 3,5 g de nitrito de sódio em 50 mL de água deionizada, transferindo o conteúdo para um balão volumétrico de 100 mL e aferindo até a marcação, com a adição de uma gota de tolueno.

A Solução Tampão Fosfato (IC-TF) é obtida pela mistura de 1,8 g de fosfato de sódio dibásico anidro (Na₂HPO₄), 3,45 g de fosfato de potássio monobásico anidro (KH₂PO₄) com 50 mL de água deionizada. Após a mistura, ela é transferida para um balão volumétrico de 150 mL e aferida até a marcação, com a adição de uma gota de tolueno.

A Solução Glicina (IC-Gli) é preparada dissolvendo 0,4 g de glicina em 50 mL de água deionizada. Em seguida, transfere-se a solução para um balão volumétrico de 150 mL e aferi-lo até a marcação, adicionando uma gota de tolueno.

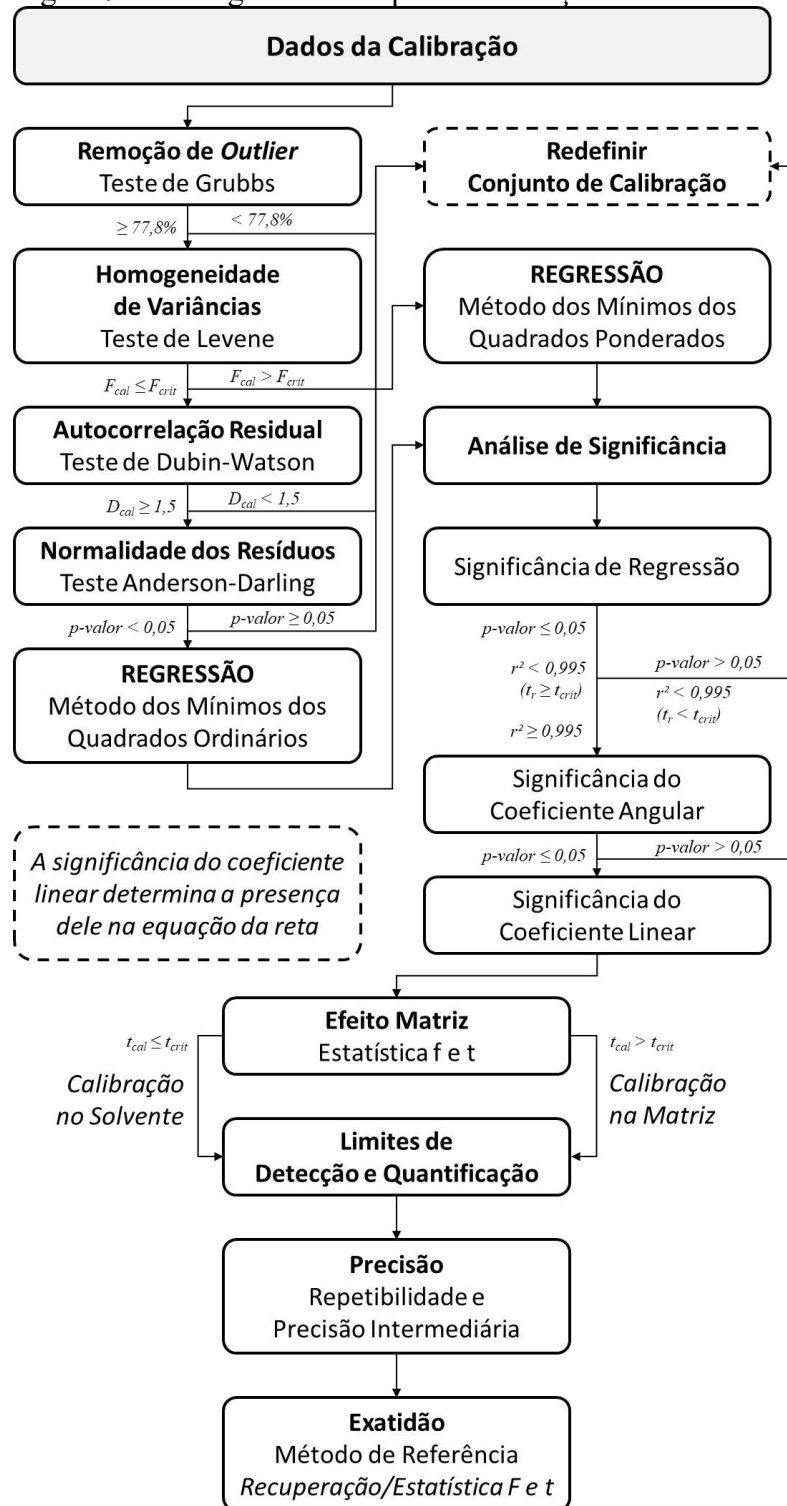
6.5.1.1 *Análise de amostras*

As amostras coletadas foram diluídas com água deionizada na proporção de 1:10 em seis réplicas, das quais três foram purgadas com gás nitrogênio 4.0 a 15 mL min⁻¹ durante 5 minutos. Aliquotas de 15 mL foram transferidas para tubos de ponta cônica, e a cada um deles, foi adicionado 0,1 mL da solução IC-Gli. Após uma leve agitação, as amostras foram mantidas em repouso por 2 minutos. Em seguida, foi adicionado 20 µL da solução IC-RN e 20 uL da solução IC-TF a cada tubo. As concentrações foram determinadas comparando as áreas obtidas nas triplicatas não purgadas com as áreas das triplicatas purgadas.

6.6 **Calibração e validação do modelo de regressão**

As soluções de calibração foram preparadas na faixa de concentração de interesse do método. As absorvâncias foram avaliadas de acordo com as diretrizes estabelecidas pela Resolução RDC N° 166 (ANVISA, 2017), Documento Orientativo DOQ-CGCRE-008 (INMETRO, 2020) e Manual de Garantia de Qualidade Analítica (MAPA, 2011). Foram empregadas figuras de mérito, como: efeito matriz, linearidade, limites de detecção e quantificação, recuperação, precisão e exatidão.

Figura 9 – Fluxograma de etapas da validação do método.



Fonte: Autor (2023).

6.6.1 Teste de Grubbs: identificação de pontos aberrantes (outliers)

A verificação de valores discrepantes nos sinais analíticos é realizada através do teste de Grubbs, que avalia o resíduo máximo normalizado para detectar valores aberrantes

(outliers) em um conjunto univariado dentro de uma população normalmente distribuída (MARIA DE SOUZA SANTOS CHEIBUB *et al.*, 2020). Os valores discrepantes são determinados pela Equação 48, onde y_n é o valor da réplica, $y_{\text{médio}}$ é o valor médio do grupo e s é o desvio padrão amostral das réplicas, e são avaliados por meio de um teste de hipótese no qual:

H₀: $G_{\text{cal}} \leq G_{\text{tab}}$; sinal analítico com resíduo inferior ao limite máximo (aceitar valor).

H₁: $G_{\text{cal}} > G_{\text{tab}}$; sinal analítico com resíduo superior ao limite máximo (rejeitar valor).

$$G_{\text{cal}} = \frac{|y_n - \bar{y}|}{s} \quad \text{Eq. 50}$$

6.6.2 Teste de Levene: homogeneidade das variâncias

O teste de Levene avalia a igualdade entre grupos de variâncias e é aplicado na validação de métodos, como um meio de verificar a igualdade entre as variâncias entre os níveis de concentração dentro do modelo de calibração (GALHARDO *et al.*, 2020). O teste é realizado por meio de uma análise de variância (ANOVA), conforme descrito na Tabela 2, e os valores de F são avaliados sob as seguintes hipóteses:

H₀: $F_{\text{cal}} \leq F_{\text{crit}}$; variâncias homogêneas/iguais (homocedástica).

H₁: $F_{\text{cal}} > F_{\text{crit}}$; variâncias heterogêneas/diferentes (heterocedástica).

Tabela 2 – ANOVA para teste de Levene

Fonte de Variação	SQ	gl	MQ	F
Entre tratamentos	$SQ_{\text{tratamentos}}$	$gl_{\text{Sstratamentos}}$	$MS_{\text{tratamentos}}$	F_{cal}
Erros	SQ_e	gl_{Sserros}	MS_{erros}	
Total	SQ_t	gl_{SSr}		

$SQ_{\text{tratamentos}} = \sum_{i=1}^k n_i (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_{..})^2$	Eq. 51	$MS_{\text{erros}} = \frac{SS_{\text{erros}}}{gl_{\text{Sserros}}}$	Eq. 52
$gl_{\text{Sstratamentos}} = k - 1$	Eq. 53	$SQ_t = \sum_{i=1}^k \sum_{j=i}^{n_i} n_i (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2$	Eq. 54
$MS_{\text{tratamentos}} = \frac{SS_{\text{tratamentos}}}{gl_{\text{Sstratamentos}}}$	Eq. 55	$gl_{\text{SSr}} = N - 1$	Eq. 56
$SQ_e = \sum_{i=1}^k \sum_{j=i}^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_{t.})^2$	Eq. 57	$F_{\text{cal}} = \frac{MS_{\text{tratamentos}}}{MS_{\text{erros}}}$	Eq. 58
$gl_{\text{Sserros}} = N - k$	Eq. 59		

Fonte: Ellison, Barwick e Farrant (2009).

6.6.3 Análise de resíduos: autocorrelação de Durbin-Watson e normalidade de Anderson-Darling

A estatística de Durbin-Watson verifica a presença ou ausência de autocorrelação entre os resíduos, ou seja, se os resíduos apresentam independência dentro de uma distribuição normal. O teste é aplicado para verificar a relação entre os resíduos com base nas seguintes hipóteses:

H₀: $D_{cal} \geq 1,5$ os resíduos são independentes.

H₁: $D_{cal} < 1,5$ os resíduos apresentam autocorrelação.

$$D_{cal} = \frac{\sum_{i=2}^N (e_i - e_{i-1})^2}{\sum_{i=1}^N e_i^2} \quad \text{Eq. 60}$$

A estatística de Anderson-Darling mede o grau de adequação dos dados a uma determinada distribuição (GHOLAMI; KHOSHDAST; HASSANZADEH, 2021), sendo avaliada a adequação dos resíduos dos sinais analíticos à distribuição normal para o uso do Método dos Mínimos Quadrados Ordinários (MMQO) como método de regressão linear. Os resultados são avaliados por meio de testes de hipótese, nos quais:

H₀: p-valor $\leq 0,05$, os resíduos são normais.

H₁: p-valor $> 0,05$, os resíduos não são normais.

$$A^2 = -n - S \quad \text{Eq. 61}$$

$$S = \sum_{i=1}^n \frac{2i-1}{2} [\ln (F(y_i)) + \ln (1 - F(y_{n+1-i}))] \quad \text{Eq. 62}$$

$$Z = A \left(1,0 + \frac{0,75}{n} + \frac{2,25}{n^2} \right) \quad \text{Eq. 63}$$

$$\text{p-valor} = \begin{cases} 1 - \exp[-13,436 + 101,14 Z - 223,73 Z^2] & Z < 0,2 & \text{Eq. 64} \\ 1 - \exp[-8,318 + 42,796 Z - 59,938 Z^2] & 0,2 \leq Z < 0,34 & \text{Eq. 65} \\ \exp[0,9177 - 4,279 Z - 1,38 Z^2] & 0,34 \leq Z < 0,6 & \text{Eq. 66} \\ \exp[1,2937 - 5,709 Z - 0,0186 Z^2] & Z > 0,6 & \text{Eq. 67} \end{cases}$$

6.6.4 Regressão linear, linearidade e significância dos coeficientes

A regressão linear é empregada para estabelecer ou confirmar a relação entre duas variáveis, sendo usada para construir o modelo de calibração correlacionando o sinal analítico e a concentração (ELLISON; BARWICK; FARRANT, 2009). Observada a homogeneidade das variâncias (homocedasticidade), o Método dos Mínimos Quadrados Ordinários (MMQO) é aplicado na obtenção dos coeficientes angular (b) e linear (a), erro padrão (s_{curva} ou μ_{curva}) e coeficientes de correlação (r) e determinação (r^2) pelas equações:

$$Y = a + bx + e \quad \text{Eq. 68} \quad b = \frac{\sum_{i=1}^n [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Eq. 69}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad \text{Eq. 70} \quad e = s_{\text{curva}} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - a - bx_i)^2} \quad \text{Eq. 71}$$

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{[\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2][\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2]} \quad \text{Eq. 72} \quad r^2 = \left(\frac{\sum_{i=1}^n [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{[\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2][\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2]} \right)^2 \quad \text{Eq. 73}$$

A determinação da faixa linear de trabalho pode ser feita por meio de análise ANOVA do modelo de regressão, na qual a significância do modelo de regressão é avaliada pelo valor F_{cal} (Eq. 74), e os coeficientes são avaliados usando a estatística t (ELLISON; BARWICK; FARRANT, 2009; MAPA, 2011). As hipóteses para a significância da regressão são:

$H_0: F_{\text{cal}} \geq F_{\text{crit}}$; o coeficiente angular é diferente de zero (regressão significativa).

$H_1: F_{\text{cal}} < F_{\text{crit}}$; não há relação linear entre as variáveis (regressão não significativa).

$$F_{\text{cal}} = \frac{MQ_{\text{reg}}}{MQ_{\text{res}}} \quad \text{Eq. 74}$$

A aceitação do coeficiente de determinação, quando inferior ao limite estabelecido ($r^2 < 0,995$), foi avaliada por meio da estatística t, com probabilidade de 95% bicaudal e graus de liberdade ($N_x - 2$), sendo avaliada sob as seguintes hipóteses para a aceitação da linearidade:

$H_0: t_r < t_{\text{crit}}$; não há correlação entre as variáveis x e y.

$H_1: t_r \geq t_{\text{crit}}$; linearidade aceitável com confiança de 95%.

$$t_r = |r| \sqrt{\frac{N_x - 2}{1 - r^2}} \quad \text{Eq. 75}$$

Os coeficientes angular e linear do modelo de regressão têm suas significâncias determinadas por meio da estatística t de Student (ELLISON; BARWICK; FARRANT, 2009) com um nível de significância de 95%, bicaudal, e graus de liberdade (n-2), sendo avaliados sob as seguintes hipóteses:

H₀: $t_{\text{cal}} > t_{\text{crit}}$; coeficiente significativo com 95% de confiança.

H₁: $t_{\text{cal}} \leq t_{\text{crit}}$; coeficiente não significativo.

$$t = \frac{\text{Coef}}{s_{\text{coef}}} \quad \text{Eq. 76}$$

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n-2}} \quad \text{Eq. 77}$$

$$s_a = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Eq. 78}$$

$$s_b = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Eq. 79}$$

6.6.5 Efeito matriz

O efeito matriz é avaliado pela aplicação dos testes F e t nos níveis de concentração das curvas de calibração preparadas em solvente e na matriz branca fortificada com o analito em estudo, com um nível de significância de 95% (MAPA, 2011). Os testes são aplicados para cada nível de concentração, nos quais o teste estatístico F é calculado usando a Eq. 80, com $s^2_{i,\text{max}}$ representando a maior variância e $s^2_{i,\text{min}}$ representando a menor variância entre os grupos em avaliação. As hipóteses empregadas são as seguintes:

H₀: $F_{\text{cal}} \leq F_{\text{crit}}$; os níveis apresentam mesmas variâncias.

H₁: $F_{\text{cal}} > F_{\text{crit}}$; os níveis apresentam diferentes variâncias.

$$F_{\text{cal}} = \frac{s^2_{i,\text{max}}}{s^2_{i,\text{min}}} \quad \text{Eq. 80}$$

No caso em que $F_{\text{cal}} \leq F_{\text{crit}}$, isso indica que as curvas analíticas não apresentam diferenças significativas entre as variâncias. Nesse cenário, a análise estatística t é realizada usando a Eq. 83, para calcular a variância global (s^2).

No entanto, se $F_{cal} > F_{crit}$, isso sugere que as curvas analíticas apresentam diferenças significativas nas variâncias. Nessas circunstâncias, a Eq. 84, é empregada para calcular os graus de liberdade ponderados (v_i), conforme definido na Eq. 82. Aqui, $n_{i,1}$ representa o número de réplicas no i -ésimo nível de concentração da curva no solvente, $n_{i,2}$ representa o número de réplicas no i -ésimo nível de concentração da curva na matriz, $\bar{x}_{i,1}$ representa a média do sinal no i -ésimo nível de concentração da curva no solvente, e $\bar{x}_{i,2}$ representa a média do sinal no i -ésimo nível de concentração da curva na matriz.

A avaliação dos resultados é realizada da seguinte forma:

H_0 : $t_{cal} \leq t_{crit}$; matriz não afeta o ensaio no i -nível de concentração (utilizar curva do solvente).

H_1 : $t_{cal} > t_{crit}$; matriz afeta o ensaio no i -nível de concentração (utilizar curva da matriz).

$$s^2 = \frac{(n_{i,1}-1)s_{i,1}^2 + (n_{i,2}-1)s_{i,2}^2}{(n_{i,1} + n_{i,2} - 2)} \quad \text{Eq. 81} \quad v_i = \frac{\left(\frac{s_{i,1}^2}{n_{i,1}} + \frac{s_{i,2}^2}{n_{i,2}}\right)^2}{\frac{\left(\frac{s_{i,1}^2}{n_{i,1}}\right)^2}{1 + n_{i,1}} + \frac{\left(\frac{s_{i,2}^2}{n_{i,2}}\right)^2}{1 + n_{i,2}}} \quad \text{Eq. 82}$$

$$t_{calc,i} = \frac{|\bar{x}_{i,1} - \bar{x}_{i,2}|}{\sqrt{s^2 \left(\frac{1}{n_{i,1}} + \frac{1}{n_{i,2}}\right)}} \quad \text{Eq. 83} \quad t_{calc,i} = \frac{|\bar{x}_{i,1} - \bar{x}_{i,2}|}{\sqrt{\frac{1}{n_{i,1}} + \frac{1}{n_{i,2}}}} \quad \text{Eq. 84}$$

6.6.6 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O limite de detecção (LD) representa a menor quantidade de analito que pode ser detectada pela técnica de análise, enquanto o limite de quantificação (LQ) refere-se à menor quantidade de analito que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis. Esses limites são calculados usando as equações Eq. 85 e Eq. 86, com base no desvio padrão do menor nível de concentração (MAPA, 2011).

Os valores de LD e LQ obtidos são adimensionais e, portanto, precisam ser convertidos para concentração. Isso pode ser feito por meio da equação de calibração, na qual "sm" representa o desvio padrão do sinal no menor nível de concentração. Alternativamente, esse valor pode ser substituído pelo desvio padrão residual $s_{y/x}$ (conforme definido na Eq. 77), obtido a partir da curva de calibração, e "b" representa o coeficiente angular.

$$LD = 3,3 \frac{s_m}{b} \quad \text{Eq. 85} \quad LQ = 10 \frac{s_m}{b} \quad \text{Eq. 86}$$

6.6.7 Precisão

De acordo com o INMETRO (2020), a precisão de um método analítico pode ser avaliada por meio da repetibilidade, precisão intermediária ou reprodutibilidade dentro da faixa de trabalho. A repetibilidade envolve a realização de procedimentos de medição sob as mesmas condições, com o mesmo operador, sistema de medição local e condições de operação, em níveis baixos, médios e altos de concentração, utilizando de 6 a 15 réplicas. A repetibilidade é avaliada através do cálculo do coeficiente de variação (CV), conforme definido pela Eq. 87 (LATIMER JR., 2016).

$$CV (\%) = \frac{\text{Desvio Padrão}}{\text{Média}} \times 100 \quad \text{Eq. 87}$$

A precisão intermediária avalia a variabilidade dos resultados dentro do laboratório, permitindo variações nas condições do procedimento, como operador, equipamento e/ou período, desde que o método e as condições experimentais sejam mantidos constantes. A precisão intermediária, representada como S_{pi} ou μ_{precint} , é avaliada por meio da aplicação da Eq. 88 (INMETRO, 2020). Nessa equação, 't' é o número de amostras no ensaio, 'n' é o número de ensaios, 'j' é o número da amostra, 'k' é o número do ensaio, ' y_{jk} ' é o valor do resultado da réplica 'k' no nível 'j', e ' \bar{y}_j ' é o valor médio do resultado no nível 'j'.

$$S_{pi(j,k)} = \sqrt{\frac{1}{t(n-1)} \sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n (y_{jk} - \bar{y}_j)^2} \quad \text{Eq. 88}$$

O limite de precisão é calculado a partir dos desvios padrão (s_r) obtidos nos ensaios de precisão, usando um intervalo de confiança $(1 - \alpha)$ e n leituras do ensaio para obter 't' em uma distribuição t de Student bicaudal.

$$r = t_{(n-1, 1-\alpha)} \sqrt{2} s_r \quad \text{Eq. 89}$$

A exatidão de um método sob validação é expressa numericamente por meio da tendência (Eq. 90). Esta tendência deve ser corrigida ou demonstrada como insignificante por meio dos testes F, que avaliam se as variâncias são estatisticamente iguais ou diferentes, e do teste estatístico t, que avalia se a média dos resultados do método a ser validado é

estatisticamente igual à do método de referência (INMETRO, 2020), com a adoção de um nível de confiança de 95%. A incerteza associada à exatidão (μ_{exat}) deve ser incluída na incerteza global.

6.6.8 Tendência/Recuperação

A recuperação do analito pode ser estimada pelo método de adição e recuperação, no qual amostras brancas são fortificadas com concentrações conhecidas do analito em pelo menos 3 níveis (baixa, média e alta concentração). Isso é calculado usando a Eq. 90, na qual ' C_{af} ' representa a concentração da amostra fortificada, ' C_{nf} ' representa a concentração da amostra não fortificada e ' C_{aaf} ' representa a concentração do analito adicionado à amostra fortificada (INMETRO, 2020).

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{C_{\text{af}} + C_{\text{nf}}}{C_{\text{aaf}}} \times 100 \quad \text{Eq. 90}$$

6.6.9 Ensaios comparativo entre métodos

A exatidão dos métodos UV-VIS estático e de fluxo, DPD e cromatográfico foi avaliada utilizando o método de referência (titulação iodométrica) na análise de amostras coletadas no sistema de produção industrial de dióxido de cloro.

As amostras foram coletadas nos intervalos de 30, 60, 90, 120 e 150 minutos, sendo recolhido um volume de 1 L em cada ocasião. As alíquotas foram distribuídas em tubos de 15 mL em 6 réplicas. Dessas, 3 foram submetidas a purga com gás nitrogênio 4.0 a 15 mL min⁻¹ por 5 minutos. A concentração de dióxido de cloro foi determinada pela diferença nos resultados entre as réplicas não purgadas e as réplicas purgadas, com o objetivo de reduzir a interferência da matriz na determinação do dióxido de cloro.

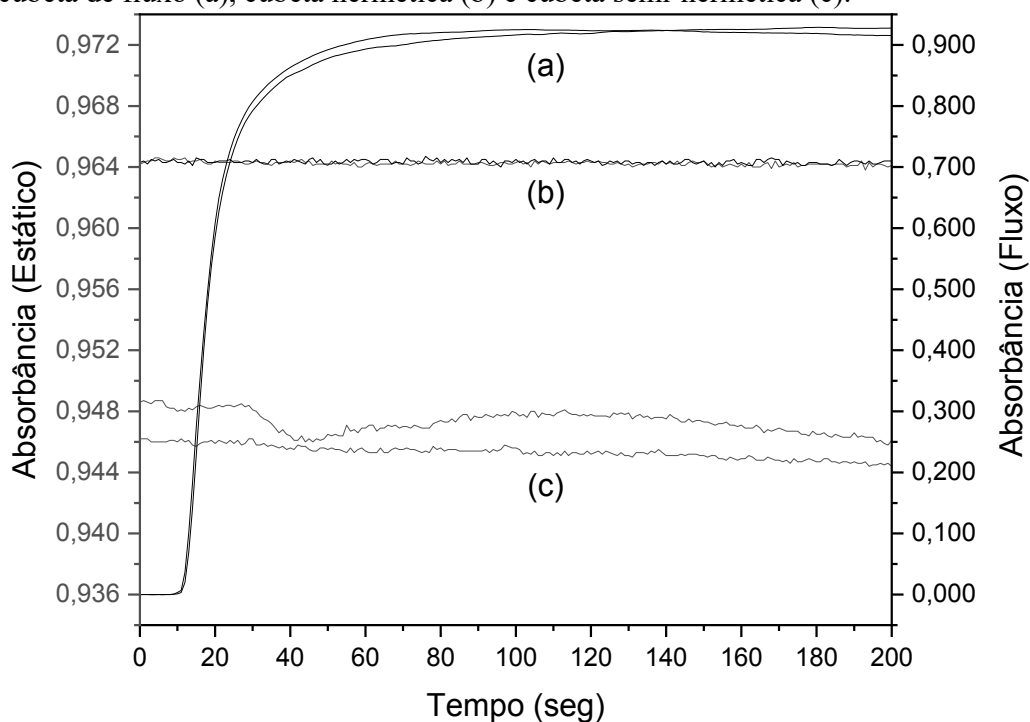
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Ensaio Preliminares

7.1.1 Estabilidade de leitura e seleção de parâmetros de injeção

A estabilidade da leitura foi avaliada medindo a absorbância a 430 nm de uma solução de dióxido de cloro a 400 mg L^{-1} por um período de 200 segundos. O objetivo era observar a influência do tipo de cubeta na estabilização da medição. Foi observado que o uso de uma cubeta semi-hermética (c) resultou em variações maiores na medição de absorbância em comparação com uma cubeta hermética (b), devido à liberação de gás presente na solução. A cubeta de injeção de fluxo (a) requer um tempo de estabilização de leitura antes de determinar a absorbância da solução em análise.

Figura 10 – Absorbâncias em 430 nm de solução de dióxido de cloro 400 mg L^{-1} em cubeta de fluxo (a), cubeta hermética (b) e cubeta semi-hermética (c).



Fonte: Autor (2023).

7.1.1.1 Seleção do fluxo de injeção

O fluxo de injeção foi avaliado por meio da cinética de estabilidade de leitura, utilizando um padrão de 400 mg L^{-1} a 15°C e uma vazão variando de 1 a 5 mL min^{-1} . A leitura de

absorbância a 430 nm foi realizada até o consumo total de 10 mL do padrão. Os dados obtidos foram tratados usando regressão logística, e os resultados mostraram um ajuste de 100% ($r^2 > 0,990$) ao modelo de regressão.

O tempo mínimo de estabilização de leitura (TMEL) foi determinado com base no coeficiente X0 dos modelos de regressão das curvas de estabilização, conforme representado na Figura 7. Esse tempo de estabilização foi obtido da seguinte forma:

$$\text{TMEL} = 2 * X0 \quad \text{Eq. 91}$$

Tabela 3 – Estatísticas do modelo de regressão logística das curvas de estabilização de leitura para variável fluxo.

FLUXO (mL min ⁻¹)	PARÂMETROS DO MODELO DE REGRESSÃO					
	A1	A2	X0	p	Chi ²	r ²
1,0	-0,0328	0,9206	52,0441	3,5636	3,52 10 ⁻⁴	0,9938
	-0,0348	0,9187	51,1684	3,4548	3,96 10 ⁻⁴	0,9929
	-0,0351	0,9153	50,4451	3,2324	3,30 10 ⁻⁴	0,9939
2,0	-0,0317	0,9489	26,5830	4,4089	6,07 10 ⁻⁴	0,9906
	-0,0322	0,9519	25,6119	3,5315	2,88 10 ⁻⁴	0,9952
	-0,0310	0,9408	26,1101	3,5175	2,59 10 ⁻⁴	0,9957
3,0	-0,0239	0,9566	17,5579	3,7801	1,77 10 ⁻⁴	0,9972
	-0,0211	0,9594	17,9058	4,5489	2,91 10 ⁻⁴	0,9956
	-0,0235	0,9611	17,2614	3,6340	1,46 10 ⁻⁴	0,9976
4,0	-0,0240	0,9720	12,5435	3,5463	1,45 10 ⁻⁴	0,9977
	-0,0227	0,9555	13,2076	3,8295	2,01 10 ⁻⁴	0,9968
	-0,0240	0,9720	12,5435	3,5463	1,45 10 ⁻⁴	0,9977
5,0	-0,0185	0,9040	11,4342	4,3413	1,52 10 ⁻⁴	0,9976
	-0,0248	0,9270	9,6391	3,6516	1,61 10 ⁻⁴	0,9971
	-0,0206	0,9379	9,7110	3,7501	1,39 10 ⁻⁴	0,9976

Fonte: Autor (2023).

7.1.1.2 Seleção da temperatura da amostra

A temperatura de trabalho foi avaliada por meio da cinética de estabilidade de leitura, utilizando um padrão de 400 mg L⁻¹. O experimento foi conduzido com uma vazão de 3 mL min⁻¹ a temperaturas variando de 5 a 25°C, e a leitura de absorbância a 430 nm foi realizada por 180 segundos. Os dados obtidos foram processados utilizando regressão logística, com um ajuste de 100% ($r^2 > 0,990$) ao modelo de regressão.

Tabela 4 – Estatísticas do modelo de regressão logística das curvas de estabilização de leitura para variável temperatura.

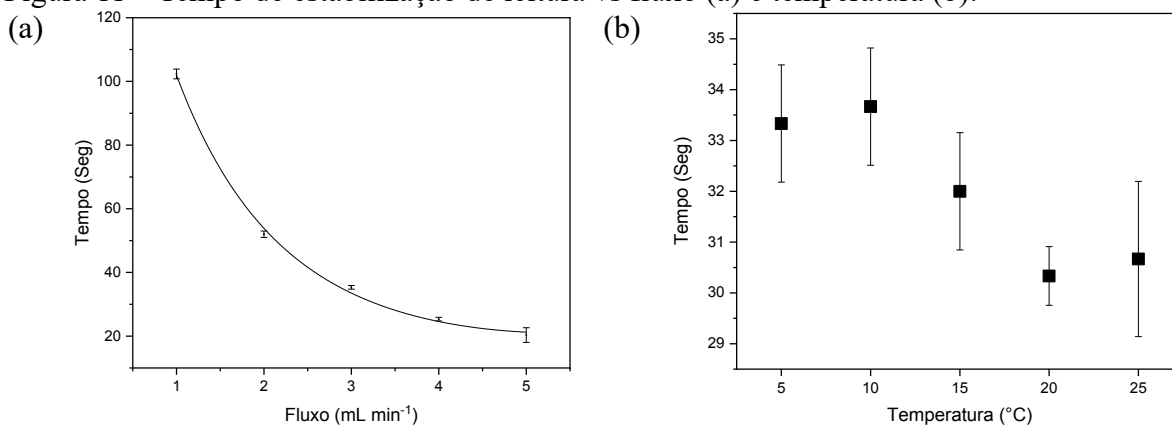
TEMPERATURA (°C)	PARÂMETROS DO MODELO DE REGRESSÃO					
	A1	A2	X0	p	Chi ²	r ²
5	-0,0228	0,9738	17,0977	3,9088	1,49 10 ⁻⁴	0,9977
	-0,0241	0,9826	16,2342	3,6831	1,55 10 ⁻⁴	0,9975
	-0,0255	0,9840	17,0858	3,5814	1,68 10 ⁻⁴	0,9974
10	-0,0285	0,9904	17,6926	3,4611	1,95 10 ⁻⁴	0,9971
	-0,0269	0,9907	16,3690	3,5050	1,62 10 ⁻⁴	0,9975
	-0,0238	0,9911	16,6001	3,9140	1,86 10 ⁻⁴	0,9972
15	-0,0295	0,9857	15,4846	3,4678	1,81 10 ⁻⁴	0,9970
	-0,0266	0,9892	16,2890	3,5601	2,00 10 ⁻⁴	0,9968
	-0,0250	0,9870	16,2880	3,8119	2,11 10 ⁻⁴	0,9967
20	-0,0282	0,9807	14,9528	3,6067	2,18 10 ⁻⁴	0,9963
	-0,0258	0,9791	14,8301	3,5902	1,79 10 ⁻⁴	0,9969
	-0,0247	0,9828	15,6728	3,7769	1,63 10 ⁻⁴	0,9973
25	-0,0351	0,9738	14,4038	3,5034	4,24 10 ⁻⁴	0,9925
	-0,0274	0,9703	16,0311	3,5680	1,95 10 ⁻⁴	0,9968
	-0,0242	0,9666	15,5246	3,6886	1,66 10 ⁻⁴	0,9972

Fonte: Autor (2023).

O tempo mínimo de estabilização de leitura (TMEL) foi calculado com base no coeficiente X0 dos modelos de regressão das curvas de estabilização, conforme mostrado na Tabela 4. O tempo de estabilização foi determinado usando a Eq. 91.

Os tempos de estabilização de leitura em relação ao fluxo e à temperatura, apresentados na Figura 11, revelam um comportamento exponencial para a variável fluxo. No entanto, não foi observada nenhuma tendência significativa na variável temperatura, indicando que ela não exerce uma influência significativa. Portanto, optou-se por utilizar um fluxo de 3 mL min⁻¹, devido à melhor operação da bomba peristáltica para injeção de fluxo, e uma temperatura de 20°C.

Figura 11 – Tempo de estabilização de leitura vs fluxo (a) e temperatura (b).

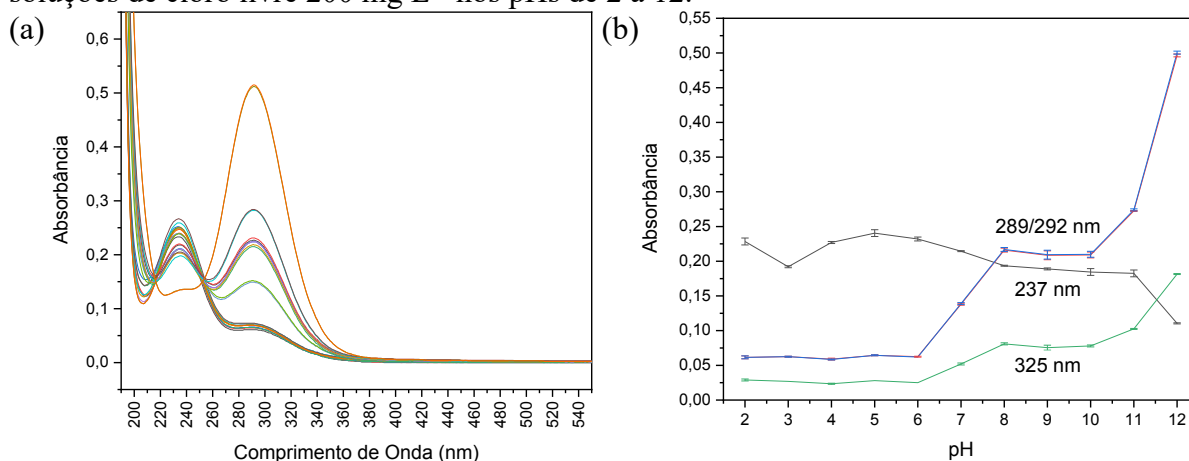


Fonte: Autor (2023).

7.1.2 Efeito do pH e presença de cloro livre

O efeito do pH foi investigado por meio de espectros de varredura usando soluções padrão de dióxido de cloro e cloro livre, ambas a uma concentração de 200 mg L^{-1} . As variações de pH foram testadas na faixa de 2 a 12 a uma temperatura de 20°C . Os espectros das soluções de cloro livre, conforme mostrados na Figura 12, exibiram absorções intensas a 237/289 nm, associadas ao ácido hipocloroso (HClO), a 292 nm, relacionadas ao ânion hipoclorito (ClO^-), e a 325 nm, indicando a presença do gás cloro (Cl_2), conforme já relatado na literatura (KISHIMOTO, 2019; KISHIMOTO; NISHIMURA, 2015; SANT'ANNA *et al.*, 2012).

Figura 12 – Espectros de absorção no UV-Vis (a) e absorbâncias em 230 e 290 nm (b) das soluções de cloro livre 200 mg L^{-1} nos pHs de 2 a 12.



Fonte: Autor (2023).

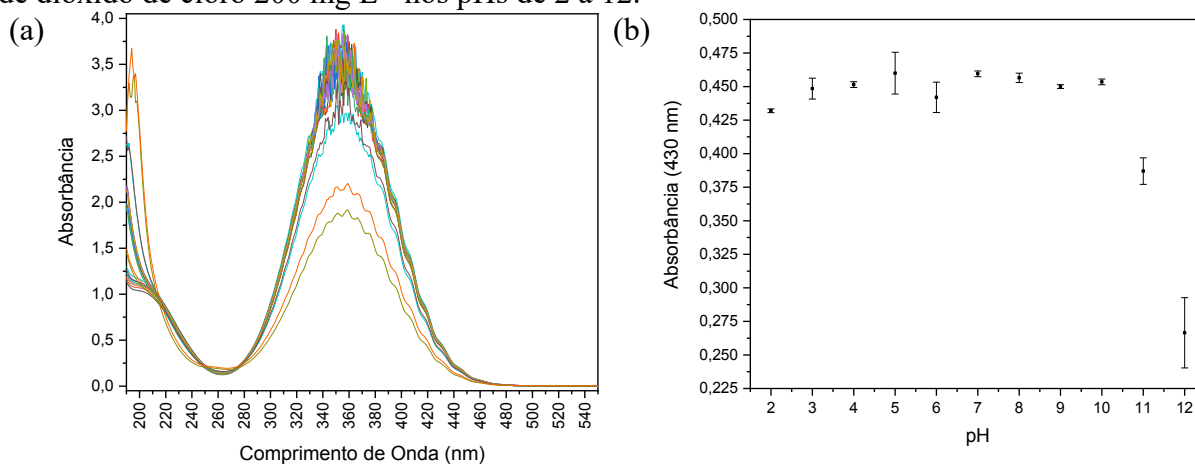
Devido à baixa absorção molar do hipoclorito e do gás cloro em 292 e 325 nm, torna-se difícil distinguir entre os espectros de ambas as espécies. No entanto, é importante notar que, à medida que o pH aumenta, ocorre um aumento na absorbância a 292 nm, o que está relacionado à formação do hipoclorito.



Os espectros das soluções de dióxido de cloro (conforme mostrados na Figura 13) demonstram a estabilidade do dióxido de cloro na faixa de pH de 2 a 10. No entanto, é possível observar uma redução na absorbância nos pHs 11 e 12, sugerindo a decomposição do analito. As absorbâncias obtidas a 430 nm nas soluções de dióxido de cloro com pHs variando de 2 a

10 foram submetidas a uma análise de variância de fator único (como apresentado na Tabela 5), e não foram observadas diferenças significativas ($F_{cal} < F_{crit}$) entre as absorvâncias para essa faixa de pH.

Figura 13 – Espectros de absorção no UV-Vis (a) e absorvâncias em 430 nm (b) das soluções de dióxido de cloro 200 mg L^{-1} nos pHs de 2 a 12.



Fonte: Autor (2023).

Tabela 5 – Análise ANOVA Fator Único para as absorvâncias das soluções de dióxido de cloro 200 mg L^{-1} em faixa de pH de 2-10.

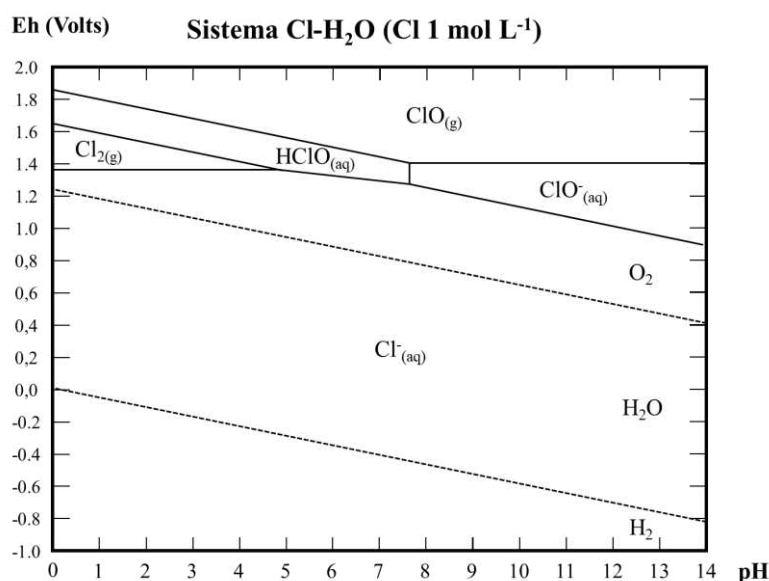
	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média dos Quadrados	F_{cal}	Valor-p	F_{crit}
Entre grupos	0,001272	8	0,000159	3,107	0,056	3,230
Dentro dos grupos	0,000461	9	$5,12 \cdot 10^{-5}$			
Total	0,001732	17				

Fonte: Autor (2023).

Considerando as absorvâncias das espécies de cloro livre e o diagrama de Pourbaix (conforme mostrado na Figura 14) para as espécies de cloro em água, é importante notar que não é viável eliminar as espécies ativas de cloro livre por meio do controle de pH. No entanto, é possível resolver esse problema usando espécies que reagem seletivamente com o cloro livre para eliminar a interferência dessas espécies ou optando por um comprimento de onda no qual essas espécies não apresentem uma absorvância significativa (superior a 400 nm).

No caso da análise de dióxido de cloro com a utilização do comprimento de onda de 430 nm para a obtenção das absorvâncias, é possível observar a estabilidade do analito na faixa de pH de 2 a 10, sem a necessidade de realizar preparo de amostra para a remoção do cloro livre.

Figura 14 – Diagrama de Pourbaix referente ao cloro em água.

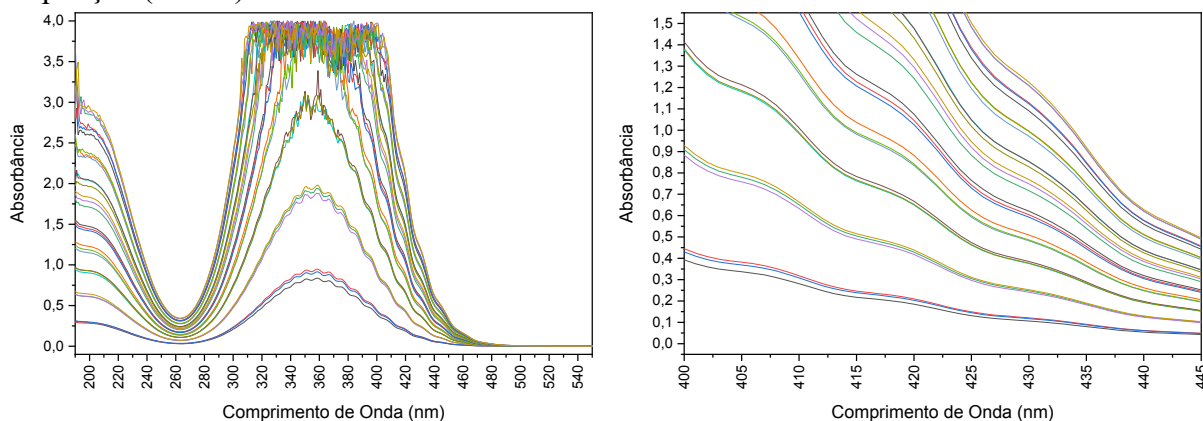


7.1.3 Seleção do comprimento de onda

A seleção do comprimento de onda foi realizada por meio de uma avaliação estatística dos valores de absorvância obtidos nos espectros usando a cubeta hermética (Figura 15) e a cubeta de injeção de fluxo (Figura 16) com referência a soluções padrão de dióxido de cloro na faixa de concentração de 65 a 500 mg L⁻¹.

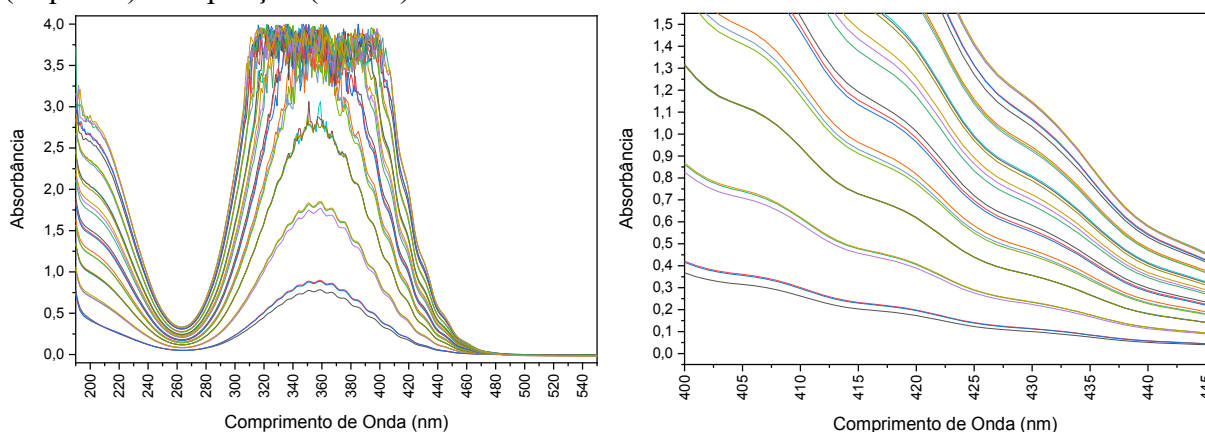
Inicialmente, os valores de absorvância na faixa de 400-445 nm foram avaliados com uma janela de 5 nm ($n = 5$) usando testes estatísticos, incluindo o teste de Grubbs (para identificar outliers) com um limite de remoção de até 22,2% dos dados (MAPA, 2011), ANOVA (para testar a homocedasticidade) com um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), o teste Du-bin-Watson (para verificar a correlação residual) com $DW_{crit} \geq 1,5$, e o teste Anderson-Darling (para verificar a normalidade) com um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Em seguida, os comprimentos de onda foram avaliados na faixa de 421-444 nm com uma janela de 1 nm ($n = 1$).

Figura 15 – Espectros de UV-Vis dos padrões de calibração em cubeta hermética (esquerda) e ampliação (direita).



Fonte: Autor (2023).

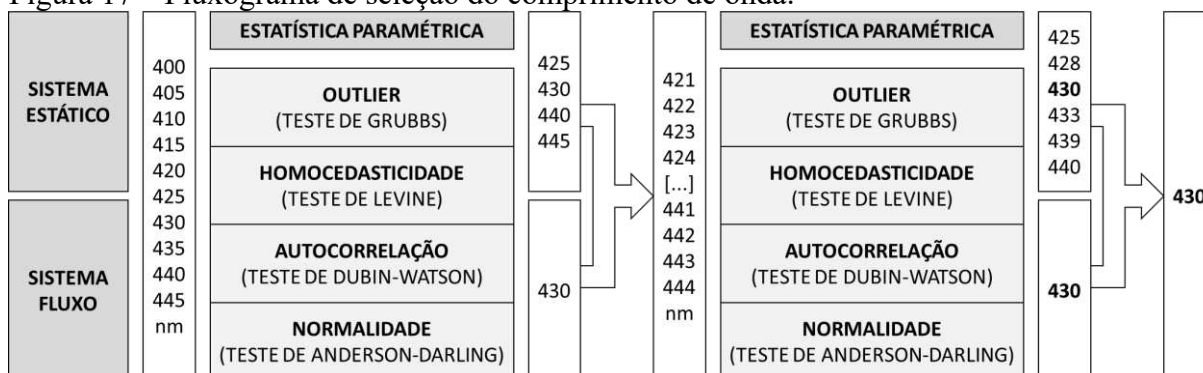
Figura 16 – Espectros de UV-Vis dos padrões de calibração em cubeta de injeção de fluxo (esquerda) e ampliação (direita).



Fonte: Autor (2023).

Os comprimentos de onda selecionados para avaliação das absorvâncias foram de 400-445 nm com variação de 5 nm, sendo observado que o conjunto de absorvâncias das soluções de calibração obtidas nos comprimentos de onda de 425, 430, 440 e 445 nm atenderam os critérios estatísticos para cubeta hermética, entretanto, apenas o comprimento de 430 nm apresentou resultado satisfatório para as absorvâncias obtidas em cubeta de injeção de fluxo. Desta forma, nova análise das absorvâncias foi realizada empregando faixa de 421-444 nm com variação de 1 nm, sendo observado que apenas o conjunto de absorvâncias das soluções de calibração obtido nos comprimentos de onda de 430 nm atende os critérios estatísticos para absorvâncias obtidas tanto em cubeta hermética como de injeção de fluxo. A Figura 17 é apresentada com fluxograma do processo decisório do comprimento de onda sendo os valores obtidos nos testes de Grubbs, Levine, Dubin-Watson e Anderson-Darling dispostos no ANEXO .

Figura 17 – Fluxograma de seleção do comprimento de onda.



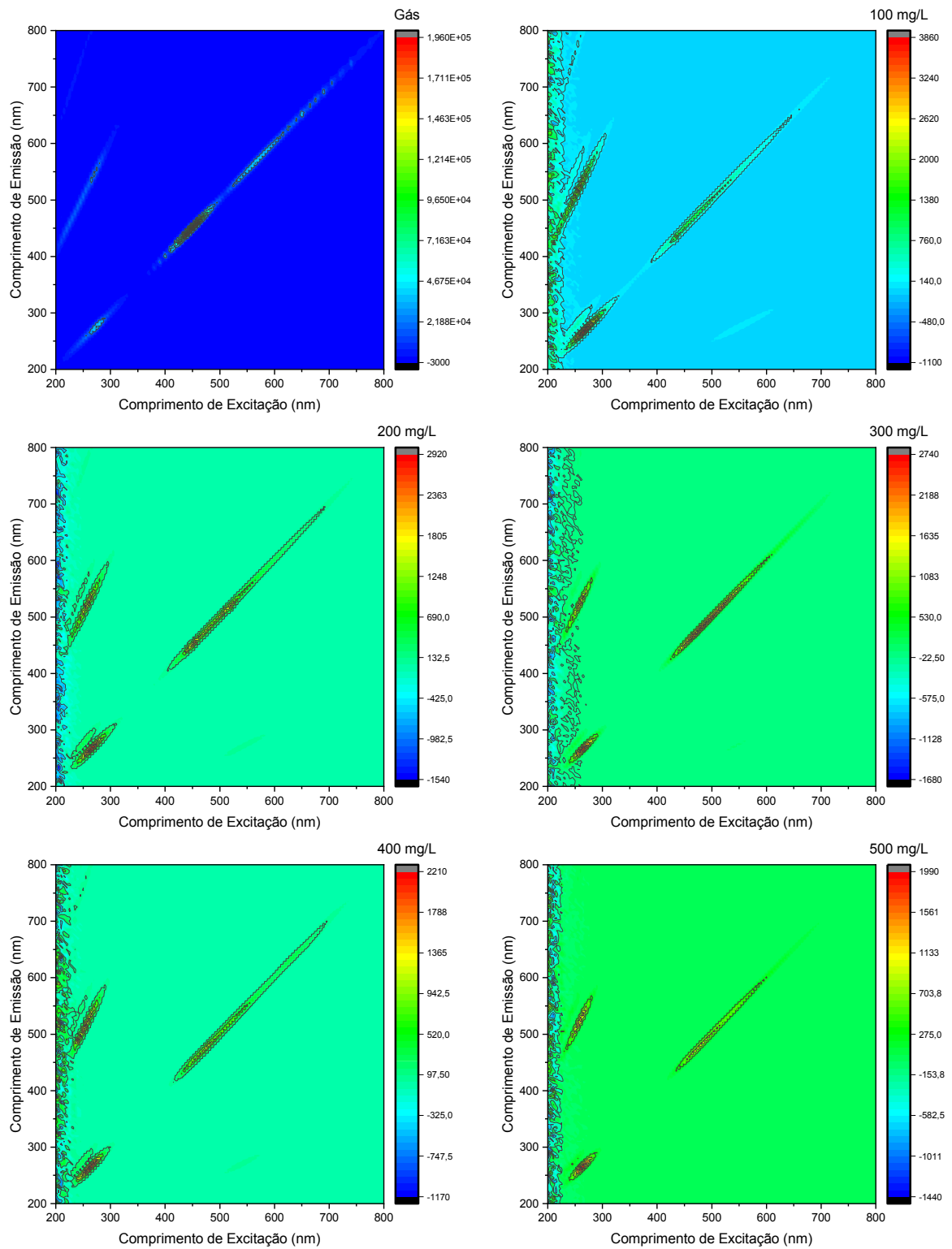
Fonte: Autor (2023).

7.1.4 Análise de interferência por fluorescência

A avaliação da interferência por absorção de energia, relacionada a um comprimento de onda com emissão em outro, foi conduzida em um fluorímetro. O objetivo era investigar a existência de propriedade fluorescente no dióxido de cloro. Em instrumentação que não utiliza monocromador, a presença de fluorescência pode resultar em erros devido à redução da absorbância.

Portanto, foi construída uma matriz de excitação e emissão para avaliar os comprimentos de onda que causam absorção de energia, resultando em emissão no espectro que varia do ultravioleta ao visível (200-800 nm). Na forma gasosa, foi observada uma baixa emissão na faixa de 400-600 nm, devido à absorção na região de 200-300 nm. No entanto, a intensidade do sinal foi baixa em comparação com a radiação de fundo, como indicado pelo sinal de 200-800 nm na diagonal, o que não sugere uma interferência significativa de fluorescência (conforme ilustrado na Figura 18).

Figura 18 – Matrizes de excitação e emissão do dióxido de cloro em gás e em solução.



Fonte: Autor (2023).

7.2 Validação do método de análise uv-vis para dióxido de cloro

7.2.1 Determinação do modelo de regressão

As absorvâncias a 430 nm, obtidas tanto na cubeta hermética quanto na de injeção de fluxo, para soluções padrão de dióxido de cloro com concentrações na faixa de 65-500 mg L⁻¹, foram avaliadas de acordo com os critérios estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2011).

Para essa avaliação, foram verificados a homocedasticidade, independência e normalidade da distribuição dos resíduos por meio de uma série de testes estatísticos, incluindo o teste de Grubbs (para identificar valores aberrantes e manter 77,8% dos dados), a ANOVA de Levine (para testar a homocedasticidade) com um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), o teste de Dubin-Watson (para avaliar a correlação residual) com $DW_{crit} \geq 1,5$, e o teste de Anderson-Darling (para verificar a normalidade) com um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Os resultados desses testes estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Análise dos dados dos conjuntos de calibração.

PARÂMETRO	SISTEMA			RESULTADO
	Estático Valor _{obs}	Fluxo Valor _{obs}	Valor _{crit}	
Teste de Grubbs (Outlier)	80%	83%	$\geq 77,80\%$	Adequado
Teste de Levine (ANOVA)	2,14	1,29	2,22	Homocedástica
Teste de Dubin-Watson (Autocorrelação)	2,51	2,85	$\geq 1,5$	Independentes
Teste de Anderson-Darling (Normalidade)	0,003	0,016	$< 0,05$	Normais

Fonte: Autor (2023).

Atendendo aos critérios estatísticos estabelecidos para a avaliação dos conjuntos de calibração, os dados de absorvância são considerados adequados para a aplicação do modelo de regressão linear pelo Método dos Mínimos Quadrados Ordinários (MMQO), devido à homocedasticidade e independência dos resíduos.

7.2.2 Efeito Matriz

O efeito matriz do método foi avaliado por meio das estatísticas F e t aplicadas aos coeficientes angulares das curvas de calibração obtidas a partir de soluções padrão de dióxido de cloro preparadas com água deionizada (CCAS), água superficial pré-tratada (CCMF1) e água subterrânea filtrada (CCMF2).

Os resultados da calibração no sistema Estático estão dispostos na Tabela 7. Observou-se que, embora nem todos os coeficientes de correlação e determinação atendam ao valor mínimo estabelecido, isso não implica em baixa linearidade. Os resultados foram aceitos, uma vez que a estatística t do coeficiente de determinação apresenta um valor superior ao valor crítico, o que confirma a aceitabilidade da linearidade com um nível de confiança de 95%.

Na Tabela 8, estão apresentados os resultados da calibração no sistema de fluxo. Alguns valores de coeficientes de correlação e determinação estão abaixo do mínimo. No entanto, a linearidade é considerada aceitável com base na estatística t, mantendo um nível de confiança de 95%.

Com base nas estatísticas F e t aplicadas aos coeficientes angulares, pode-se concluir que as diferentes matrizes (tipos de água) não têm um efeito significativo na obtenção dos modelos de regressão.

Tabela 7 – Parâmetros da regressão linear dos modelos de calibração em sistema estático.

PARÂMETRO	SISTEMA ESTÁTICO			Valor _{crit}	RESULTADO
	CCAS Valor _{obs}	CCMF1 Valor _{obs}	CCMF2 Valor _{obs}		
Sig. de Regressão (p-valor)	1,73 10 ⁻¹⁹ 1,01 10 ⁻²⁴	3,83 10 ⁻¹⁴ 4,15 10 ⁻¹⁴	2,95 10 ⁻¹⁷ 1,93 10 ⁻¹⁸	-	Significativo
Coeficiente de Correlação (r)	0,9950 0,9987	0,9804* 0,9802*	0,9912 0,9935	≥ 0,99	
Coeficiente de Determinação (r ²)	0,9901* 0,9974	0,9611* 0,9608*	0,9825* 0,9870*	≥ 0,995	Conforme
- Estatística t (r ² < 0,995)	28,3	14,1 14,0	21,1 24,7	> 2,306	
Coeficientes Angulares	0,00236 0,00244	0,00229 0,00235	0,00236 0,00238	-	
- Estatística f	-	1,778	16,000	161,448	Sem Efeito Matriz
- Estatística t	-	1,600	0,728	2,920	

Fonte: Autor (2023).

Tabela 8 – Parâmetros da regressão linear dos modelos de calibração em sistema de fluxo.

PARÂMETRO	SISTEMA DE FLUXO			Valor _{crit}	RESULTADO
	CCAS Valor _{obs}	CCMF1 Valor _{obs}	CCMF2 Valor _{obs}		
Sig. de Regressão (p-valor)	2,87 10 ⁻¹⁹ 1,65 10 ⁻²²	1,44 10 ⁻¹⁴ 1,32 10 ⁻¹⁴	2,65 10 ⁻¹⁷ 1,21 10 ⁻¹⁸	-	Significativo
Coeficiente de Correlação (r)	0,9947 0,9977	0,9824* 0,9826*	0,9913 0,9938	≥ 0,99	
Coeficiente de Determinação (r ²)	0,9895* 0,9954	0,9651* 0,9655*	0,9827* 0,9877*	≥ 0,995	Conforme
- Estatística t (r ² < 0,995)	27,5	14,9 15,0	21,3 25,3	> 2,306	
Coeficientes Angulares	0,00243 0,00250	0,00233 0,00240	0,00238 0,00240	-	
- Estatística F	-	1,000	12,250	161,448	Sem Efeito Matriz
- Estatística t	-	2,020	2,060	2,920	

Fonte: Autor (2023).

7.2.3 Linearidade, significância e limites de detecção e quantificação

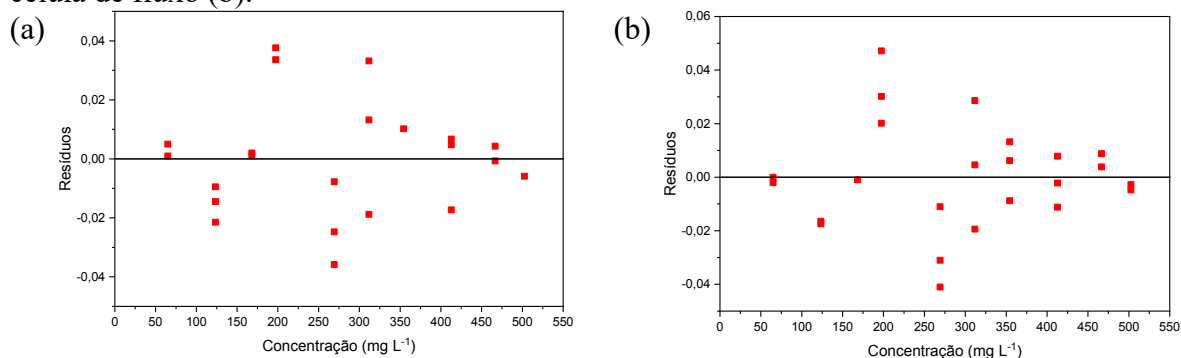
Após a aplicação do Método dos Mínimos Quadrados Ordinários (MMQO) para a obtenção do modelo de regressão linear, as equações obtidas com os conjuntos de absorvâncias a 430 nm foram submetidas à avaliação da significância do modelo de regressão (por meio do teste ANOVA), da significância dos coeficientes angulares e lineares (usando o teste Estatística t-Student) com um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), e do coeficiente de correlação, conforme estabelecido pelo *Manual de Garantia da Qualidade Analítica* (MAPA, 2011) e pelo *Documento de Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos* (INMETRO, 2020). Os resultados dessas análises estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Parâmetros da regressão linear dos modelos de calibração.

PARÂMETRO	SISTEMA		Valor _{crit}	RESULTADO
	Estático Valor _{obs}	Fluxo Valor _{obs}		
Sig. de Regressão (p-valor)	1,03 10 ⁻²⁹	1,66 10 ⁻²⁹	< 0,05	Significativo
Sig. do Coeficiente Angular (p-valor)	2,16 10 ⁻⁵	4,12 10 ⁻⁴	< 0,05	Significativo
Sig do Coeficiente Linear (p-valor)	1,03 10 ⁻²⁹	1,66 10 ⁻²⁹	< 0,05	Significativo
Coeficiente de Correlação (r)	0,9986	0,9982	≥ 0,99	Conforme
Coeficiente de Determinação (r ²)	0,9972	0,9962	≥ 0,995	Conforme

Fonte: Autor (2023).

Figura 19 – Resíduos das absorbâncias das curvas de calibração em célula estática (a) e em célula de fluxo (b).



Fonte: Autor (2023).

Com coeficientes de correlação iguais ou superiores a 0,99 e significância estatística do modelo de regressão, dos coeficientes angulares e lineares, foram obtidas as equações de calibração. As equações Eq. 94 e Eq. 95 correspondem às calibrações obtidas no sistema Estático e no sistema de Fluxo, respectivamente:

$$\text{Absorbância (430 nm)} = 0,0025 * \text{Concentração (mg L}^{-1}\text{)} - 0,0475 \quad \text{Eq. 94}$$

$$\text{Absorbância (430 nm)} = 0,0024 * \text{Concentração (mg L}^{-1}\text{)} - 0,0393 \quad \text{Eq. 95}$$

As absorbâncias associadas aos limites de detecção e quantificação foram estimadas usando as equações Eq. 85 e Eq. 86, nas quais o desvio padrão residual (Eq. 77) desempenha um papel crucial. Essas absorbâncias foram então convertidas em concentrações com base nas equações de regressão linear (Eq. 94 e Eq. 95), com os valores resultantes apresentados na Tabela 10.

Para verificar a veracidade dos limites de detecção, foram realizadas análises de seis réplicas de soluções de dióxido de cloro em concentrações de 24,4 mg L⁻¹ e 67,7 mg L⁻¹, tanto no sistema estático como no de fluxo. Além disso, o limite de quantificação foi avaliado através da análise de seis réplicas, observando o cumprimento dos critérios de Desvio Padrão Residual (DRP) < 5,3 e Coeficiente de Recuperação (CR) entre 80% e 110% para concentração de 67,7 mg L⁻¹ no sistema estático, e um Desvio Padrão Residual (DRP) < 7,3 e Recuperação entre 90% e 107% para concentração de 205,3 mg L⁻¹ no sistema de fluxo.

Tabela 10 – Resultados dos ensaios de veracidade dos limites de detecção e quantificação.

SISTEMA	LIMITE DE DETECÇÃO		LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO				
	mg L ⁻¹	DPR (%)	mg L ⁻¹	DPR (%)	DPR _{crit}	CR (%)	CR _{crit}
Estático	24,4	3,2%	74,0	3,3%	≤ 5,3%	110%	80-110%
Fluxo	67,7	1,2%	205,3	2,2%	≤ 7,3%	90%	90-107%

Fonte: Autor (2023).

7.2.4 Precisão e recuperação (exatidão)

A precisão do método foi avaliada por meio da repetibilidade e da precisão intermediária, enquanto a exatidão foi avaliada usando o método de adição e recuperação. Os níveis de concentração escolhidos foram 92,5, 281,1 e 469,6 mg L⁻¹ para o sistema estático e 228,0, 348,8 e 469,6 mg L⁻¹ para o sistema de fluxo.

A seleção dos valores de concentração teve em consideração critérios específicos. O nível mínimo (C_{\min}) foi estabelecido de forma a garantir que o percentual mínimo de recuperação do menor nível estivesse acima ou igual ao limite de quantificação (C_{\min}). O nível máximo (C_{\max}) foi definido de modo que o percentual máximo de recuperação do maior nível estivesse abaixo ou igual à maior concentração utilizada na calibração (C_{\max}). O nível médio (C_{med}) foi calculado como a média entre o limite de detecção e a maior concentração empregada na calibração (C_{med}).

$$C_{\min} = \frac{LQ}{\text{Recup}^{\min} \%} \quad \text{mg L}^{-1} \quad \text{Eq. 96} \quad C_{\text{med}} = \frac{C_{\min} + C_{\max}}{2} \quad \text{mg L}^{-1} \quad \text{Eq. 97}$$

$$C_{\max} = \frac{SPC_{\max}}{\text{Recup}^{\max} \%} \quad \text{mg L}^{-1} \quad \text{Eq. 98}$$

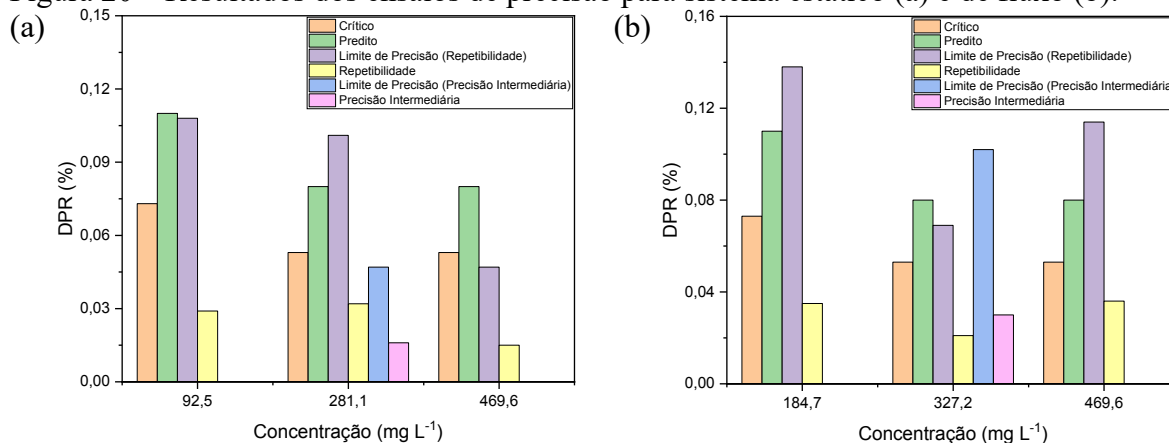
A repetibilidade foi avaliada por meio do desvio padrão relativo (DPR_{cal}) das concentrações obtidas em seis réplicas, enquanto a precisão intermediária foi avaliada por meio dos testes F e t, a fim de verificar a consistência entre as concentrações determinadas por analistas em diferentes dias. O limite de precisão foi determinado com base nos ensaios de repetibilidade e precisão intermediária. Para que os valores dos ensaios de repetibilidade atendessem aos critérios estabelecidos, eles foram avaliados utilizando a Equação de Horwitz, a qual deveria apresentar um valor igual ou inferior a dois, conforme a seguinte equação:

$$\text{HORRAT} = \frac{\text{DPR}_{\text{obs}} \text{ Obtido na precisão}}{\text{PDPR}_r \text{ Previsto pela equação}} \quad \text{Eq. 99} \quad \text{PDPR}_r = 2^{(1 - 0,5 \log C)} \quad \text{Eq. 100}$$

Conforme evidenciado nas Tabela 11 à Tabela 13, onde os resultados dos ensaios de precisão estão apresentados, ambos os métodos, tanto com o uso de cubeta hermética quanto do sistema de fluxo, exibiram desvios padrão residual nos ensaios de repetibilidade dentro dos limites de tolerância, com um índice HORRAT inferior a 2, de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo INMETRO. Os ensaios de precisão intermediária revelaram uma variação mínima entre as mudanças de analista e os dias de análise, sem variações significativas para os diferentes níveis de concentração ($t_{cal} \leq t_{crit}$).

Com base nos desvios padrões relativos (DPR) obtidos nos experimentos de repetibilidade e precisão intermediária, juntamente com os valores críticos de referência, previstos e obtidos por meio do limite de precisão, fica evidente que todos os valores experimentais são menores do que os valores de referência. Isso confirma a precisão e aceitabilidade do método, como ilustrado na (Figura 20).

Figura 20 – Resultados dos ensaios de precisão para sistema estático (a) e de fluxo (b).



Fonte: Autor (2023).

Tabela 11 – Resultados dos ensaios de repetibilidade.

CONCENTRAÇÃO (mg L ⁻¹)	ESTÁTICO			FLUXO			DPR _{crit}	PDPR _r
	S _r	DPR _{Cal}	HORRAT	S _r	DPR _{Cal}	HORRAT		
C _{min}	92,5	2,9	2,9%	0,226			≤ 7,3%	11%
	184,7				7,3	3,5%		
C _{med}	281,1	8,1	3,2%	0,402			≤ 5,3%	8%
	327,2				6,4	2,1%		
C _{max}	469,6	6,3	1,5%	0,194	15,3	3,6%	0,454	

Fonte: Autor (2023).

Tabela 12 – Resultados dos ensaios de precisão intermediária.

CONCENTRAÇÃO (mg L ⁻¹)		ESTÁTICO					FLUXO					F _{crit}	t _{crit}
		Analista		F _{cal}	t _{cal}	S _{pi}	Analista		F _{cal}	t _{cal}	S _{pi}		
		A	B									A	B
C _{min}	92,5	98,1	95,0	0,787	1,431								
	184,7					211,3	203,7	0,360	1,316				
C _{med}	281,1	257,9	247,5	0,820	0,323	4,57				9,91	3,453	2,571	
	327,2						308,4	318,4	0,212	1,598			
C _{max}	469,6	413,4	405,2	0,858	0,244		421,3	428,9	3,218	1,067			

Fonte: Autor (2023).

Tabela 13 – Limites de precisão dos ensaios de repetibilidade e precisão intermediária.

CONCENTRAÇÃO (mg L ⁻¹)		ESTÁTICO			FLUXO	
		mg L ⁻¹		DPR	mg L ⁻¹	
Repetibilidade	C _{min}	92,5	10,0	10,8%		
		184,7			25,5	13,8%
	C _{med}	281,1	28,3	10,1%		
		327,2			22,5	6,9%
C _{max}	469,6	22,1	4,7%	53,4	11,4%	
Precisão Intermediária			13,2	4,7%	33,4	10,2%

Fonte: Autor (2023).

A exatidão do método foi avaliada por meio dos ensaios de recuperação, utilizando os mesmos níveis de concentração estabelecidos nos ensaios de precisão. O método iodométrico foi empregado como método de referência. Os coeficientes de recuperação (CR) foram calculados com base na Eq. 90, e as concentrações entre os métodos foram comparadas por meio dos testes F e t. Os resultados estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Coeficientes de recuperação e testes f e t dos ensaios de recuperação.

		C_{min}		C_{med}		C_{max}
		92,5	184,7	281,1	327,2	469,6
TITULAÇÃO	Conc.	103,2	222,1	284,9	341,0	464,3
ESTÁTICO	Abs	0,204		0,653		1,101
	Conc.	100,2		278,8		457,2
	CR _{cal}	102,9%		102,2%		108,2%
	F _{cal}	72,250		1,022		8,249
	t _{cal}	1,285		1,892		1,737
FLUXO	Abs		0,503		0,775	1,035
	Conc.		230,1		345,7	455,9
	CR _{cal}		96,5%		98,6%	101,8%
	F _{cal}		20,311		2,019	1,308
	t _{cal}		2,021		1,733	1,629
RECUPERAÇÃO	CR _{crit}	80-110%	90-107%			
	F _{crit}				19,0	
	t _{crit}	2,920			2,132	

Fonte: Autor (2023).

7.3 Estudo comparativo entre metodologias de determinação de dióxido de cloro

7.3.1 Calibração do método espectrofotométrico DPD e multi-ânions por cromatografia de íons para o dióxido de cloro

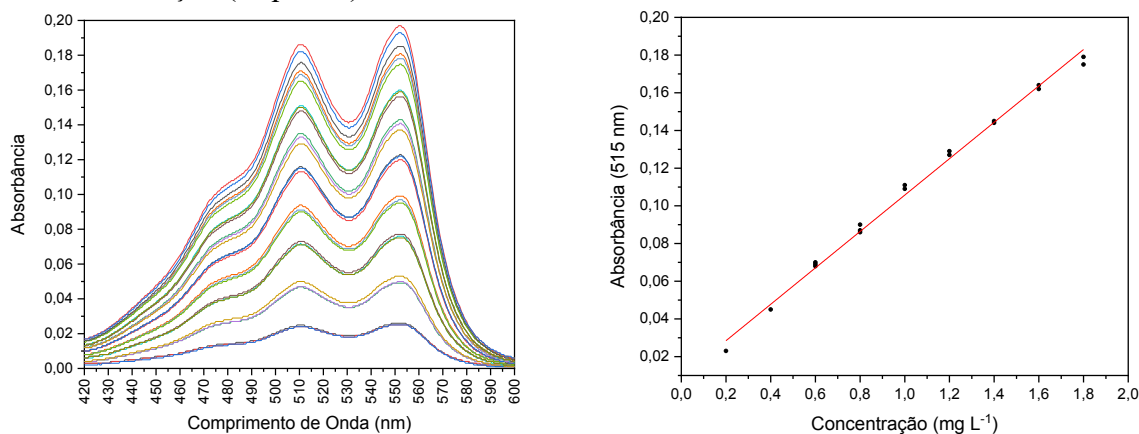
Os padrões de dióxido de cloro, analisados por espectrofotometria UV-Vis de acordo com a metodologia DPD, atenderam aos parâmetros estabelecidos pela Resolução RDC Nº 166 (ANVISA, 2017), pelo Documento Orientativo DOQ-CGCRE-008 (INMETRO, 2020) e pelo Manual de Garantia de Qualidade Analítica (MAPA, 2011). A análise estatística t demonstrou que a linearidade do método foi aceitável, conforme indicado na Tabela 15. Os espectros de absorbância foram registrados na faixa de 420-600 nm, e o gráfico de absorbância em 515 nm em função da concentração é apresentado na Figura 21.

Tabela 15 – Parâmetros da curva de calibração do método DPD.

PARÂMETRO	DPD 515 nm		RESULTADO
	Valor _{obs}	Valor _{crit}	
Teste de Grubbs (Outlier)	81%	≥ 77,80%	Adequado
Teste de Levine (ANOVA)	1,60	2,22	Homocedástica
Teste de Dubin-Watson (Autocorrelação)	2,131	≥ 1,5	Independentes
Teste de Anderson-Darling (Normalidade)	0,001	< 0,05	Normais
Sig. de Regressão (p-valor)	3,67 10 ⁻²²	< 0,05	Significativo
Sig. do Coeficiente Angular (p-valor)	1,28 10 ⁻⁴	< 0,05	Significativo
Sig do Coeficiente Linear (p-valor)	3,67 10 ⁻²²	< 0,05	Significativo
Coeficiente de Correlação (r)	0,9957	≥ 0,99	Conforme
Coeficiente de Determinação (r ²)	0,9914	≥ 0,995	Conforme
- Estatística t (r ² < 0,995)	308,3	> 2,365	
Limite de Detecção (LD)	0,16		
Limite de Quantificação (LQ)	0,49	mg L ⁻¹	-

Fonte: Autor (2023).

Figura 21 – Espectros de UV-Vis dos padrões de dióxido de cloro no método DPD (direita) e curva de calibração (esquerda).



Fonte: Autor (2023).

$$\text{Absorbância (515 nm)} = 0,0946 * \text{Concentração (mg L}^{-1}\text{)} + 0,0105$$

Eq. 101

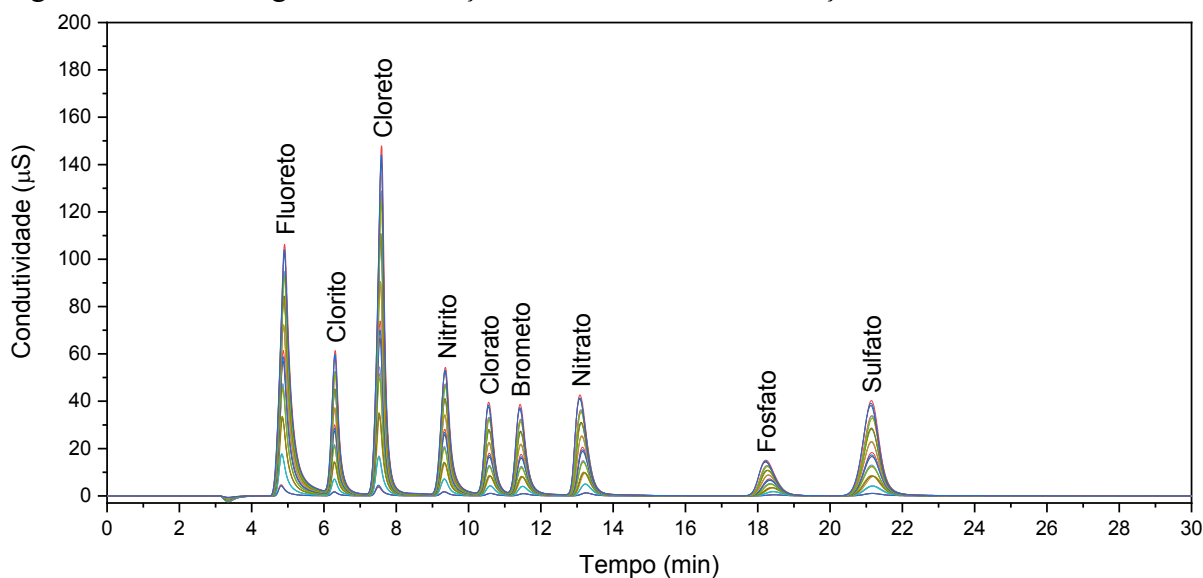
Os padrões multi-ânions, analisados através da cromatografia de íons, atenderam aos rigorosos parâmetros estabelecidos pela ANVISA, INMETRO e MAPA. Contudo, é pertinente observar que, com exceção do coeficiente de determinação, que, de acordo com o MAPA e por meio da análise estatística t, apresentou uma linearidade aceitável, conforme parcialmente indicado na Tabela 16 para os ânions Clorito, Nitrito e Nitrato. Para uma visão abrangente dos resultados dos demais ânions, consulte o ANEXO , enquanto os cromatogramas correspondentes podem ser visualizados na Figura 22.

Tabela 16 – Parâmetros das curvas de calibração multi-ânions (Parcial)

PARÂMETRO	Clorito	Nitrito	Nitrato	Valor _{crit}	RESULTADO
	Valor _{obs}	Valor _{obs}	Valor _{obs}		
Teste de Grubbs (Outlier)	93%	93%	89%	≥ 77,80%	Adequado
Teste de Levine (ANOVA)	1,32	1,26	1,77	2,22	Homocedástica
Teste de Dubin-Watson (Autocorrelação)	2,24	2,31	2,26	≥ 1,5	Independentes
Teste de Anderson-Darling (Normalidade)	0,010	0,028	0,014	< 0,05	Normais
Sig. de Regressão (p-valor)	2,831 10 ⁻²⁸	5,461 10 ⁻³²	3,143 10 ⁻²⁶	< 0,05	Significativo
Sig do Coeficiente Linear (p-valor)	3,809 10 ⁻⁴	2,738 10 ⁻³	1,061 10 ⁻³	< 0,05	Significativo
Sig. do Coeficiente Angular (p-valor)	2,831 10 ⁻²⁸	5,461 10 ⁻³²	3,143 10 ⁻²⁶	< 0,05	Significativo
Coeficiente de Correlação (r)	0,9976	0,9989	0,9972	≥ 0,99	Conforme
Coeficiente de Determinação (r ²)	0,9953	0,9978	0,9944*	≥ 0,995	Conforme
- Estatística t (r ² < 0,995)	-	-	467,2	> 2,365	
Limite de Detecção	2,44	1,68	2,71	mg L ⁻¹	-
Limite de Quantificação	7,39	5,09	8,20		

Fonte: Autor (2023).

Figura 22 – Cromatograma das soluções multi-ânions de calibração



Fonte: Autor (2023).

$$\text{Sinal (Área)} = 0,4871 * \text{Concentração (mg L}^{-1}\text{)} - 0,6004 \quad \text{Eq. 102}$$

A conformidade dos métodos DPD e cromatografia de íons com os critérios de qualidade analítica estabelecidos pelas agências regulatórias abre espaço para uma avaliação comparativa entre as abordagens de análise do dióxido de cloro. Esta comparação abrange a análise direta da absorvância em 430 nm, utilizando cubeta hermética e sistema de fluxo, a análise da absorvância em 515 nm pelo método DPD, e a cromatografia de íons, que emprega a iodometria (titulação) como método de referência.

7.3.2 *Ensaio comparativos entre metodologias analíticas*

Amostras coletadas de um sistema gerador de dióxido de cloro localizado em uma estação de tratamento de água foram analisadas por meio de metodologias espectrofotométricas e cromatográficas, empregando a iodometria como método de referência. Essas amostras foram coletadas em volumes de 1 litro em intervalos de 30, 60, 90, 120 e 150 minutos no ponto de dosagem da estação de tratamento de água.

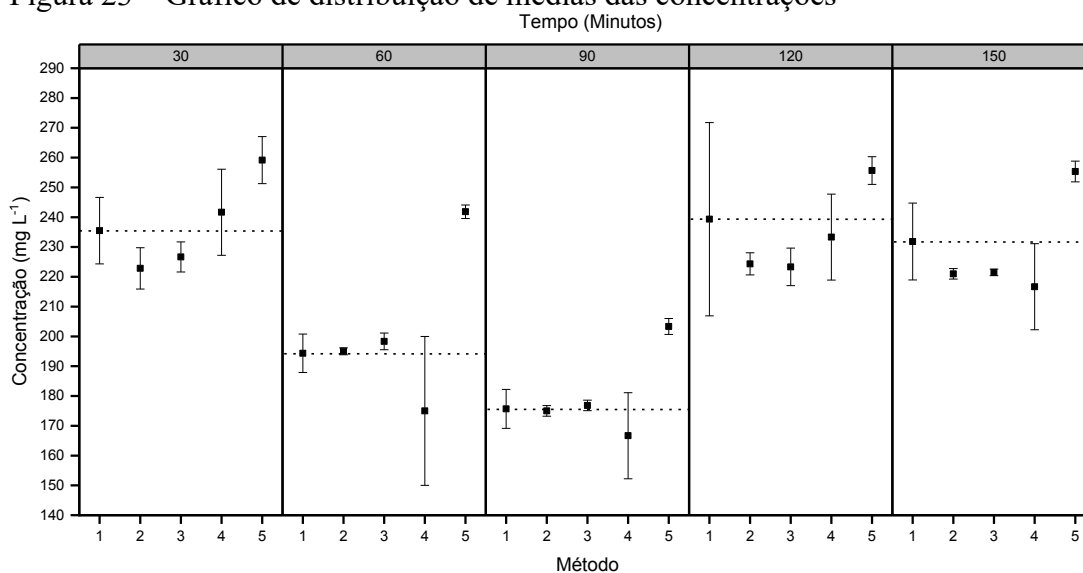
Para as análises de iodometria, de absorvância em 430 nm com o uso de cubeta hermética e sistema de fluxo, não foram necessárias diluições. No entanto, nas análises de absorvância em 515 nm pelo método DPD, foi empregada uma diluição de 1:150, enquanto na análise de cromatografia de íons, uma diluição de 1:10 foi utilizada. Os valores finais foram corrigidos de acordo com o fator de diluição e avaliados por meio de ANOVA Fator Único, Estatística F e Estatística t. Cada amostra foi dividida em seis réplicas, das quais três foram purgadas com nitrogênio para a remoção do analito (dióxido de cloro) e utilizadas como branco nas respectivas amostras.

As concentrações do analito foram determinadas utilizando as equações Eq. 94 e Eq. 95 nas análises de absorvância em 430 nm com cubeta hermética e sistema de fluxo, respectivamente. Para a análise de absorvância em 515 nm pelo método DPD, a Eq. 101 foi empregada, enquanto na análise de cromatografia de íons, a Eq. 102 foi utilizada. Além disso, a Eq. 49 foi empregada para determinar a quantidade de dióxido de cloro consumido em relação ao nitrato formado, e a Eq. 46 foi utilizada na análise pelo método iodométrico.

As concentrações foram avaliadas por meio de ANOVA Fator Único. É possível observar que as médias das concentrações obtidas pelos diferentes métodos de análise apresentaram valores significativamente diferentes ($F_{\text{cal}} > F_{\text{crit}}$) nos grupos de amostras coletadas em 30 ($F_{\text{cal}} 6,622$), 60 ($F_{\text{cal}} 13,360$), 90 ($F_{\text{cal}} 10,977$) e 150 ($F_{\text{cal}} 9,333$) minutos. No entanto,

no grupo de 120 minutos, a diferença observada ($F_{\text{cal}} 1,960$) não foi estatisticamente significativa, com base em um intervalo de confiança de 5% ($F_{\text{crit}} 3,478$). Esses resultados estão representados na Figura 23.

Figura 23 – Gráfico de distribuição de médias das concentrações

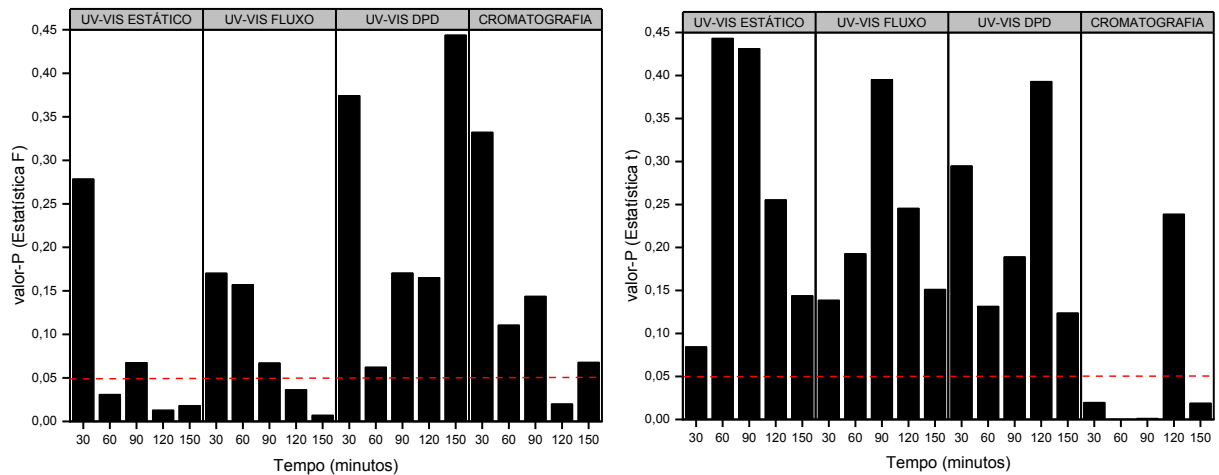


1 – TITULAÇÃO; 2 - UV-VIS ESTÁTICO; 3 - UV-VIS FLUXO; 4 - UV-VIS DPD; 5 – CROMATOGRAFIA.
Fonte: Autor (2023).

Nas situações em que houve diferenças significativas entre as médias de concentração, conforme indicado pelos resultados do ANOVA Fator Único, foram realizadas análises adicionais para avaliar a equivalência entre as médias das concentrações, usando a titulação como método de referência.

Os resultados da análise de Estatística F indicaram que as análises de UV-VIS ESTÁTICO (60, 120 e 150), UV-VIS FLUXO (120 e 150) e CROMATOGRAFIA (120) apresentaram variâncias diferentes em comparação com a TITULAÇÃO ($F_{\text{cal}} > F_{\text{crit}}$). No entanto, a análise de Estatística t demonstrou que todas as análises de UV-VIS ESTÁTICO, FLUXO e DPD (30, 60, 90, 120 e 150) e CROMATOGRAFIA (120) apresentaram médias de concentração equivalentes ao método de referência, pois o valor-P foi superior a 0,05. A única exceção foi a análise de CROMATOGRAFIA nas amostras coletadas em 30, 60, 90 e 150 minutos, onde as médias de concentração não foram consideradas equivalentes à titulação.

Figura 24 – Estatística F (esquerda) e Estatística t empregando Titulação como método de referência com os demais métodos para amostras coletadas em 30, 60, 90, 120, 150 minutos em sistema de geração de dióxido de cloro empregado em estação de tratamento de água.



* *UV-VIS ESTÁTICO* = análise sem preparo de amostras com cubeta hermética; *UV-VIS FLUXO* = análise sem preparo de amostras com cubeta de injeção de fluxo; *UV-VIS DPD* = análise com preparo de amostra, segundo método DPD, com cubeta semi-hermética e; *CROMATOGRAFIA* = análise indireta com preparo de amostra por cromatografia de íons.

Fonte: Autor (2023).

Dessa forma, nota-se uma maior exatidão nos métodos espectrofotométricos em comparação ao cromatográfico. No entanto, é interessante observar que os métodos UV-VIS ESTÁTICO e UV-VIS FLUXO demonstraram uma precisão superior (repetibilidade) quando contrastados com outras abordagens que demandam manipulação direta da amostra. A manipulação de alíquotas e o uso de reagentes, presentes em outros métodos, podem resultar em perdas que comprometem a reprodutibilidade, especialmente considerando a natureza gasosa do analito.

8 CONCLUSÃO

O desenvolvimento do método de análise de dióxido de cloro em água por espectrofotometria de UV-Vis, empregando célula hermética e de injeção de fluxo, com otimização dos parâmetros de operação e validação da metodologia analítica, atingiu êxito com base nos critérios estabelecidos pela ANVISA, INMETRO e MAPA.

O método não apresenta variações significativas frente à variação de temperatura na faixa de 5 a 25°C, presença de cloro livre (Cl_2 , HClO e ClO^-) e variação de pH de 2 a 10. Da mesma forma, as matrizes água superficial pré-tratada e água subterrânea filtrada não demonstraram efeito significativo na análise. Recomenda-se o uso de cubeta hermética para análise estática, pois apresenta menores variações, e um fluxo de 3 mL min⁻¹ a 20°C em um sistema de injeção de fluxo, com leituras realizadas em comprimento de onda de 430 nm.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) apresentaram valores de 24,4 e 67,7 mg L⁻¹ para detecção, e 74,0 e 205,3 mg L⁻¹ para quantificação, respectivamente, em sistemas herméticos e de fluxo. Os ensaios de precisão alcançaram conformidade quanto à repetibilidade e a possíveis mudanças no dia de análise e no analista. Além disso, os ensaios de recuperação, utilizando o método de referência, possibilitaram estimar a exatidão do método, atingindo êxito em todos os critérios estabelecidos pelas agências reguladoras.

O estudo comparativo entre as diferentes metodologias de determinação do dióxido de cloro em água, como titulação, espectrofotometria de UV-Vis e cromatografia, demonstrou a maior confiabilidade do método desenvolvido como método de análise de dióxido de cloro em concentração a nível industrial. Isso possibilita o uso seguro do método em sistemas de produção em larga escala, empregados em estações de tratamento de água, bem como na indústria alimentícia e farmacêutica.

REFERÊNCIAS

- ABDIGHAHROUDI, Mohammad Sajjad; SCHMIDT, Torsten C.; LUTZE, Holger V. Determination of free chlorine based on ion chromatography—application of glycine as a selective scavenger. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 412, n. 28, p. 7713–7722, 2020. DOI: 10.1007/s00216-020-02885-1.
- ANVISA. RESOLUÇÃO RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Brasil, 2017.
- AUERBACH, Paul S.; DONNER, Howard J.; WEISS, Eric A. Field Water Disinfection. **Field Guide to Wilderness Medicine**, [S. l.], p. 535–558, 2008. DOI: 10.1016/b978-1-4160-4698-1.50050-3.
- BACKER, Howard D. Water Disinfection. **The Travel and Tropical Medicine Manual**, [S. l.], p. 91–111, 2017. DOI: 10.1016/B978-0-323-37506-1.00007-6. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323375061000076>. Acesso em: 3 mar. 2022.
- BARNETT, N. W.; FRANCIS, P. S. LUMINESCENCE | Overview. **Encyclopedia of Analytical Science: Second Edition**, [S. l.], p. 305–315, 2005. DOI: 10.1016/B0-12-369397-7/00339-3.
- CERDÀ, Víctor; FERRER, Laura; AVIVAR, Jessica; CERDÀ, Amalia. Evolution and Description of the Principal Flow Techniques. **Flow Analysis**, [S. l.], p. 1–42, 2014. DOI: 10.1016/b978-0-444-59596-6.00001-2.
- CHAURET, C. P. Sanitization. **Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition**, [S. l.], p. 360–364, 2014. DOI: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00407-9.
- CHEN, Chao; GUO, Lihui; YANG, Yu; OGUMA, Kumiko; HOU, Li-an. Comparative effectiveness of membrane technologies and disinfection methods for virus elimination in water: A review. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 801, p. 149678, 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149678. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969721047537>. Acesso em: 23 ago. 2021.
- CHEN, Tse Lun; CHEN, Yi Hung; ZHAO, Yu Lin; CHIANG, Pen Chi. Application of gaseous ClO₂ on disinfection and air pollution control: A mini review. **Aerosol and Air Quality Research**, [S. l.], v. 20, n. 11, p. 2289–2298, 2020. DOI: 10.4209/aaqr.2020.06.0330.
- CHESWICK, Ryan; MOORE, Graeme; NOCKER, Andreas; HASSARD, Francis; JEFFERSON, Bruce; JARVIS, Peter. Chlorine disinfection of drinking water assessed by flow cytometry: New insights. **Environmental Technology and Innovation**, [S. l.], v. 19, p. 101032, 2020. DOI: 10.1016/j.eti.2020.101032.
- CHIRAYIL, Cintil Jose; ABRAHAM, Jiji; MISHRA, Raghvendra Kumar; GEORGE, Soney C.; THOMAS, Sabu. Instrumental Techniques for the Characterization of Nanoparticles. **Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization**, [S. l.], v. 3, p. 1–36, 2017. DOI: 10.1016/B978-0-323-46139-9.00001-3.
- COLBOURNE, D.; FROST, D. C.; MCDOWELL, C. A.; WESTWOOD, N. P. C. The

photoelectron spectra of the chloramines NH_2Cl , NHCl_2 , NCl_3 and the methyl chloramines CH_3NHCl , CH_3NCl_2 , and $(\text{CH}_3)_2\text{NCl}$. **The Journal of Chemical Physics**, [S. l.], v. 69, n. 3, p. 1078, 1978. DOI: 10.1063/1.436682.

DESHWAL, B. R.; LEE, H. K. Kinetics and mechanism of chloride based chlorine dioxide generation process from acidic sodium chlorate. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 173–182, 2004. DOI: 10.1016/J.JHAZMAT.2003.12.006.

ELLISON, Stephen L. R.; BARWICK, Vicki J.; FARRANT, Trevor J. Duguid. **Practical Statistics for the Analytical Scientist**. 2. ed. Cambridge: RSC Publishing, 2009.

EMMERT, Gary L.; COUTANT, David E.; SWEETIN, Deborah L.; GORDON, Gilbert; BUBNIS, Bernard. Studies of selectivity in the amaranth method for chlorine dioxide. **Talanta**, [S. l.], v. 51, n. 5, p. 879–888, 2000. DOI: 10.1016/S0039-9140(00)00285-X.

ERSOY, Zeynep Girgin; DINC, Ozge; CINAR, Buse; GEDIK, Sedef Tunca; DIMOGLO, Anatoli. Comparative evaluation of disinfection mechanism of sodium hypochlorite, chlorine dioxide and electroactivated water on *Enterococcus faecalis*. **LWT**, [S. l.], v. 102, p. 205–213, 2019. DOI: 10.1016/J.LWT.2018.12.041.

GALHARDO, Kelly S.; DADAMOS, Tony R. L.; BETTENCOURT DA SILVA, Ricardo J. N.; MACHADO, Sergio A. S. Development and validation of an advanced electrochemical sensor for the fast and cheap determination of hydrochlorothiazide in urine samples using the Monte-Carlo method for uncertainty evaluation. **Talanta**, [S. l.], v. 215, p. 120883, 2020. DOI: 10.1016/J.TALANTA.2020.120883.

GAUW, R. D.; EMMERT, G. L.; BUBNIS, B.; GORDON, G. High resolution spectrophotometry for identification of chlorine dioxide in concentrated chlorine solutions. **Talanta**, [S. l.], v. 50, n. 5, p. 1073–1078, 1999. DOI: 10.1016/S0039-9140(99)00208-8.

GERMER, Thomas A.; ZWINKELS, Joanne C.; TSAI, Benjamin K. **Spectrophotometry : accurate measurement of optical properties of materials**. [s.l.] : Elsevier Inc., 2014.

GHOLAMI, Alireza; KHOSHDAST, Hamid; HASSANZADEH, Ahmad. Applying hybrid genetic and artificial bee colony algorithms to simulate a bio-treatment of synthetic dye-polluted wastewater using a rhamnolipid biosurfactant. **Journal of Environmental Management**, [S. l.], v. 299, p. 113666, 2021. DOI: 10.1016/J.JENVMAN.2021.113666.

GUSTIN, Jean Louis. Safety of chlorine production and chlorination processes. **Chemical Health and Safety**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 5–16, 2005. DOI: 10.1016/j.chs.2004.08.002.

HAGGSTROM, Kimona; GUNNARSSON, Magnus; BREMERT-JIRHOLM, Katarina; SIMIC, Nina. Method for analysis of ClO_2 and Cl_2 air emissions from pulp mill. **Nordic Pulp and Paper Research Journal**, [S. l.], v. 34, n. 1, p. 19–27, 2019. DOI: 10.1515/npprj-2018-0012.

HUA, Guanghui; RECKHOW, David A. Comparison of disinfection byproduct formation from chlorine and alternative disinfectants. **Water Research**, [S. l.], v. 41, n. 8, p. 1667–1678, 2007. DOI: 10.1016/j.watres.2007.01.032.

HUANG, Kuo Lin; LIU, Chou Ching; LEE, Chia Wei; MA, Chen Yao; LIN, Ting Chun;

TSAI, Jen Hsiung; CHEN, Shui Jen. Release reductions of gaseous ammonia and nitrogen oxides from electrochemical treatment of swine wastewater. **Aerosol and Air Quality Research**, [S. l.], v. 19, n. 11, p. 2490–2501, 2019. DOI: 10.4209/aaqr.2019.09.0486. Disponível em: <https://aaqr.org/articles/aaqr-19-09-0a-0486>. Acesso em: 25 ago. 2021.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos - DOQ-CGCRE-008**. Coordenação Geral de Acreditação, , 2020.

IVASKA, Ari; FORSBERG, Päivi; HEIKKA, Riitta. Application of an amperometric sensor to in-line monitoring of pulp bleaching with chlorine dioxide. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 238, n. C, p. 223–229, 1990. DOI: 10.1016/S0003-2670(00)80540-1.

JIANG, Zhi Liang; ZHANG, Biao Ming; LIANG, Ai Hui. A new sensitive and selective fluorescence method for determination of chlorine dioxide in water using rhodamine S. **Talanta**, [S. l.], v. 66, n. 3, p. 783–788, 2005. DOI: 10.1016/J.TALANTA.2004.12.037.

KANG, Xuejun; FAN, Xinrong. The Use of Naphthol Green for the Determination of Chlorine Dioxide in Water. **Analytical Letters**, [S. l.], v. 36, n. 8, p. 1661–1667, 2003. DOI: 10.1081/AL-120021556. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/AL-120021556>. Acesso em: 26 ago. 2021.

KISHIMOTO, Naoyuki. State of the art of UV/chlorine advanced oxidation processes: Their mechanism, byproducts formation, process variation, and applications. **Journal of Water and Environment Technology**, [S. l.], v. 17, n. 5, p. 302–335, 2019. DOI: 10.2965/jwet.19-021.

KISHIMOTO, Naoyuki; NISHIMURA, Hideya. Effect of pH and molar ratio of pollutant to oxidant on a photochemical advanced oxidation process using hypochlorite. **Environmental Technology (United Kingdom)**, [S. l.], v. 36, n. 19, p. 2436–2442, 2015. DOI: 10.1080/09593330.2015.1034187.

KONG, Qingqing; FAN, Mengge; YIN, Ran; ZHANG, Xinran; LEI, Yu; SHANG, Chii; YANG, Xin. Micropollutant abatement and byproduct formation during the co-exposure of chlorine dioxide (ClO₂) and UVC radiation. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 419, p. 126424, 2021. DOI: 10.1016/J.JHAZMAT.2021.126424.

LAKOWICZ, Joseph R. Principles of fluorescence spectroscopy. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**, [S. l.], p. 1–954, 2006. DOI: 10.1007/978-0-387-46312-4.

LATIMER JR., George W. (ORG.). **OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL**. 20. ed. [s.l.: s.n.].

LEVANOV, A. V.; KUSKOV, I. V.; ANTIPENKO, E. E.; LUNIN, V. V. The kinetics of reaction between permanganate and chlorine ions in acid solutions. **Russian Journal of Physical Chemistry A**, [S. l.], v. 80, n. 5, p. 726–731, 2006. DOI: 10.1134/S0036024406050104.

LIN, Qianwei; LUO, Zisheng; JIANG, Yunhong; LI, Dong; LIN, Xingyu; JIANG, Yunbin; LI, Li. Role of chlorine dioxide and chloroxyanions residue in yellowing alleviation of ready-to-eat broccoli: Insights from transcriptomic evidence. **Postharvest Biology and Technology**, [S. l.], v. 194, 2022. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2022.112103.

LV, Juan; OU, Changyuan; FU, Mengya; XU, Zhiwei. Characteristics and transformation

pathways of venlafaxine degradation during disinfection processes using free chlorine and chlorine dioxide. **Chemosphere**, [S. l.], v. 276, p. 130147, 2021. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130147.

MADEC, F. Quentel; C. Elleouet; C. Electrochemical determination of low levels of residual chlorine dioxide in drinking water. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 295, p. 85–91, 1994.

MADEC, F. Quentel; C. Elleouet; C. L. Determination of trace levels of chlorine dioxide in drinking water by electrochemistry. **Analisis**, [S. l.], v. 24, p. 199–203, 1996.

MÄNTELE, Werner; DENIZ, Erhan. UV–VIS absorption spectroscopy: Lambert-Beer reloaded. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S. l.], v. 173, p. 965–968, 2017. DOI: 10.1016/J.SAA.2016.09.037.

MAPA. **Manual de garantia da qualidade analítica**. 1. ed. Brasília, DF: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 2011.

MARIA DE SOUZA SANTOS CHEIBUB, Ana; SILVA BAHIENSE DE LYRA, Eduardo; JARDIM ALVES, Barbara; ANDRADE DONAGEMMA, Raquel; DUARTE PEREIRA NETTO, Annibal. Development and validation of a multipurpose and multicomponent method for the simultaneous determination of six synthetic dyes in different foodstuffs by HPLC-UV-DAD. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 323, p. 126811, 2020. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2020.126811.

MIESSLER, Gary L.; FISCHER, Paul J.; TARR, Donald A. **Química Inorgânica**. 5. ed. São Paulo: Pearson, 2014.

MOBERG, Ludvig; KARLBERG, Bo. An improved N,N'-diethyl-p-phenylenediamine (DPD) method for the determination of free chlorine based on multiple wavelength detection. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 407, n. 1–2, p. 127–133, 2000. DOI: 10.1016/S0003-2670(99)00780-1.

MYERS, Donna N. Innovations in Monitoring With Water-Quality Sensors With Case Studies on Floods, Hurricanes, and Harmful Algal Blooms. **Separation Science and Technology (New York)**, [S. l.], v. 11, p. 219–283, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-12-815730-5.00010-7.

N. ALYEA, Hubert. Chlorine from KMnO₄ + HCl. **Journal of Chemical Education**, [S. l.], v. 46, n. 3, 1969. DOI: 10.1021/ed046pA218.6.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Drinking Water and Health, Volume 2**. Washington: National Academy Press, 1980. v. 2 DOI: 10.1097/00001648-199203000-00001.

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**, [S. l.], v. 596, n. 1, p. 37–45, 2007. DOI: 10.1016/J.ACA.2007.06.006.

PERCIVAL, Steven L.; YATES, Marylynn V.; WILLIAMS, David W.; CHALMERS, Rachel M.; GRAY, Nicholas F. **Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1016/C2010-0-67101-X.

POST, Mildred A.; MOORE, W. Allan. The Determination of Chlorine Dioxide in Treated Surface Waters. **Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 31, n. 11, p. 1872–1874, 1959. DOI: 10.1021/ac60155a060.

PRASERT, Thirawit; ISHII, Yoshihiro; KURISU, Futoshi; MUSIKAVONG, Charongpun; PHUNGSAI, Phanwatt. Changes in molecular dissolved organic matter during coagulation/sedimentation and chlorine and chlorine dioxide disinfection by non-target (or unknown) screening analysis. **Journal of Water Process Engineering**, [S. l.], v. 52, 2023. DOI: 10.1016/j.jwpe.2023.103528.

PREVENTION, Centers for Disease Control and. **Water Disinfection with Chlorine and Chloramine**. 2020. Disponível em: https://www.cdc.gov/healthywater/drinking/public/water_disinfection.html.

RADEPONT, Marie; COQUINOT, Yvan; JANSSENS, Koen; EZRATI, Jean Jacques; DE NOLF, Wout; COTTE, Marine. Thermodynamic and experimental study of the degradation of the red pigment mercury sulfide. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, [S. l.], v. 30, n. 3, p. 599–612, 2015. DOI: 10.1039/c4ja00372a.

SALES MONTEIRO, Mayra Kerolly; SALES MONTEIRO, Mayara Maria; DE MELO HENRIQUE, André Miller; LLANOS, Javier; SAEZ, Cristina; DOS SANTOS, Elisama Vieira; RODRIGO, Manuel Andrés. **A review on the electrochemical production of chlorine dioxide from chlorates and hydrogen peroxide**. **Current Opinion in Electrochemistry** Elsevier, , 2021. DOI: 10.1016/j.coelec.2020.100685.

SANT'ANNA, Rafaela T. P.; SANTOS, Cristina M. P.; SILVA, Guilherme P.; FERREIRA, Ricardo J. R.; OLIVEIRA, André P.; CÔRTEZ, Carlos E. S.; FARIA, Roberto B. Kinetics and mechanism of chlorate-chloride reaction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 23, n. 8, p. 1543–1550, 2012. DOI: 10.1590/S0103-50532012005000017.

SHIN, Ho Sang; JUNG, Dong Gyun. Determination of chlorine dioxide in water by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1123, n. 1, p. 92–97, 2006. DOI: 10.1016/J.CHROMA.2006.04.089.

SINGH, Hariraj; SONAL, Sonalika; MISHRA, Brijesh Kumar. Understanding the toxicity effect and mineralization efficiency of in-situ electrogenerated chlorine dioxide for the treatment of priority pollutants of coking wastewater. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 211, p. 111907, 2021. DOI: 10.1016/J.ECOENV.2021.111907.

SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; WEST, Donald M. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo: Cengage Learning, 2006.

SULLIVAN, Joseph; DOUEK, Maurice. Determination of inorganic chlorine species in kraft mill bleach effluents by ion chromatography. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 804, n. 1–2, p. 113–121, 1998. DOI: 10.1016/S0021-9673(98)00112-5.

SUTTON, Sarah Courtney. **An Integrative Synthetic, Spectroscopic, and Computational Study of the Free Radical Chlorine Dioxide and its Interactions with Hydrogen Bonded Networks**. 2017. Oxford, [S. l.], 2017. Disponível em: http://laser.chem.olemiss.edu/~hammergroup514/theses/Sutton_Thesis-finaldraft.pdf.

SWEETIN, Deborah L.; SULLIVAN, Elizabeth; GORDON, Gilbert. The use of chlorophenol

red for the selective determination of chlorine dioxide in drinking water. **Talanta**, [S. l.], v. 43, n. 1, p. 103–108, 1996. DOI: 10.1016/0039-9140(95)01721-6.

TEITELBAUM, Robert C.; RUBY, Stanley L.; MARKS, Tobin J. A Resonance Raman/Iodine Mossbauer Investigation of the Starch-Iodine Structure. Aqueous Solution and Iodine Vapor Preparations. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 102, n. 10, p. 3322–3328, 1980.

TINOCO, Raunel; HERNANDEZ-SAAVEDRA, Daniel; OCHOA, Jose L.; VAZQUEZ-DUHALT, Rafael. Biochemical method for chlorine dioxide determination. **Analytical Biochemistry**, [S. l.], v. 241, n. 1, p. 18–22, 1996. DOI: 10.1006/abio.1996.0371.

TKÁČOVÁ, Jana; BOŽÍKOVÁ, Jarmila. Determination of Chlorine Dioxide and Chlorite in Water Supply Systems by Verified Methods. **Slovak Journal of Civil Engineering**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 21–28, 2014. DOI: 10.2478/sjce-2014-0010.

TOMOVSKA, R.; AGIRRE, A.; VELOSO, A.; LEIZA, J. R. Characterization Techniques for Polymeric Materials. **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.10910-2.

TRINETTA, Valentina; VAIDYA, Nirupama; LINTON, Richard; MORGAN, Mark. Evaluation of Chlorine Dioxide Gas Residues on Selected Food Produce. **Journal of Food Science**, [S. l.], v. 76, n. 1, 2011. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01911.x.

TZANAVARAS, Paraskevas D.; THEMELIS, Demetrius G.; KIKA, Fotini S. Review of analytical methods for the determination of chlorine dioxide. **Central European Journal of Chemistry**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–12, 2007. DOI: 10.2478/s11532-006-0054-9.

VALEUR, Bernard. Molecular Fluorescence. **Molecular Fluorescence**, [S. l.], 2001. DOI: 10.1002/3527600248.

VIKESLAND, Peter J.; OZEKIN, Kenan; VALENTINE, Richard L. Monochloramine Decay in Model and Distribution System Waters. **Water Research**, [S. l.], v. 35, n. 7, p. 1766–1776, 2001. DOI: 10.1016/S0043-1354(00)00406-1.

WATANABE, Takaho; IDEHARA, Toshikazu; YOSHIMURA, Yoshihiro; NAKAZAWA, Hiroyuki. Simultaneous determination of chlorine dioxide and hypochlorite in water by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 796, n. 2, p. 397–400, 1998. DOI: 10.1016/S0021-9673(97)01009-1.

WATANABE, Takaho; ISHII, Toshikazu; YOSHIMURA, Yoshihiro; NAKAZAWA, Hiroyuki. Determination of chlorine dioxide using 4-aminoantipyrine and phenol by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 341, n. 2–3, p. 257–262, 1997. DOI: 10.1016/S0003-2670(96)00575-2.

WATANABE, Takaho; YOSHIMURA, Yoshihiro; UCHIYAMA, Katsumi. Fluorophotometric Determination of Chlorine Dioxide with Chromotropic Acid. **Analytical Sciences**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 207–211, 1992. DOI: 10.2116/analsci.8.207.

XIN, Zhang; JINYU, Zhao. Highly selective spectrophotometric determination of chlorine dioxide in water using rhodamine B. **The Analyst**, [S. l.], v. 120, n. 4, p. 1199–1200, 1995.

DOI: 10.1039/an9952001199.

ZAGATTO, E. A. G.; WORSFOLD, P. J. Flow Analysis - Overview. **Encyclopedia of Analytical Science: Second Edition**, [S. l.], p. 24–31, 2004. DOI: 10.1016/B0-12-369397-7/00154-0.

ANEXO A – TABELAS DOS ENSAIOS DE SELEÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA

Tabela 17 – Análises estatísticas das absorvâncias obtidas em cubeta hermética (n = 5 nm).

λ nm	Outlier		Análise de Variância		Correlação Residual		Normalidade	
	Teste de Grubbs		Teste ANOVA de Levene		Teste de Durbin-Watson		Teste de Anderson-Darling	
	Valor _{obs}	\geq 77,80% Resultado	Valor-p	$>$ 0,05 Resultado	DW	\geq 1,5 Resultado	Valor-p	$<$ 0,05 Resultado
400	100,0%	Remoção Adequada	0,351	Homocedástica	2,85	Independentes	0,5226	Não Normal
405	100,0%	Remoção Adequada	0,054	Homocedástica	2,72	Independentes	0,1688	Não Normal
410	96,7%	Remoção Adequada	0,268	Homocedástica	2,89	Independentes	0,6950	Não Normal
415	96,7%	Remoção Adequada	0,305	Homocedástica	2,74	Independentes	0,8511	Não Normal
420	90,0%	Remoção Adequada	0,149	Homocedástica	2,56	Independentes	0,1757	Não Normal
425	83,3%	Remoção Adequada	0,168	Homocedástica	2,72	Independentes	0,0076	Normal
430	80,0%	Remoção Adequada	0,135	Homocedástica	2,51	Independentes	0,0027	Normal
435	90,0%	Remoção Adequada	0,353	Homocedástica	2,84	Independentes	0,2234	Não Normal
440	86,7%	Remoção Adequada	0,098	Homocedástica	2,55	Independentes	0,0301	Normal
445	76,7%	Remoção Excessiva	0,127	Homocedástica	2,48	Independentes	0,0004	Normal

Fonte: Autor (2023).

Tabela 18 – Análises estatísticas das absorvâncias obtidas em cubeta de injeção de fluxo (n = 5 nm).

λ nm	Outlier		Análise de Variância		Correlação Residual		Normalidade	
	Teste de Grubbs		Teste ANOVA de Levene		Teste de Durbin-Watson		Teste de Anderson-Darling	
	Valor _{obs}	\geq 77,80% Resultado	Valor _{obs}	$>$ 0,05 Resultado	Valor _{obs}	\geq 1,5 Resultado	Valor _{obs}	$<$ 0,05 Resultado
400	90,0%	Remoção Adequada	0,127	Homocedástica	1,72	Independentes	0,1028	Não Normal
405	93,3%	Remoção Adequada	0,461	Homocedástica	2,80	Independentes	0,5988	Não Normal
410	93,3%	Remoção Adequada	0,225	Homocedástica	2,72	Independentes	0,1170	Não Normal
415	93,3%	Remoção Adequada	0,296	Homocedástica	2,75	Independentes	0,3198	Não Normal
420	93,3%	Remoção Adequada	0,398	Homocedástica	2,75	Independentes	0,1057	Não Normal
425	86,7%	Remoção Adequada	0,357	Homocedástica	2,83	Independentes	0,0594	Não Normal
430	83,3%	Remoção Adequada	0,410	Homocedástica	2,85	Independentes	0,0164	Normal
435	90,0%	Remoção Adequada	0,466	Homocedástica	2,69	Independentes	0,3495	Não Normal
440	83,3%	Remoção Adequada	0,400	Homocedástica	2,76	Independentes	0,0531	Não Normal
445	83,3%	Remoção Adequada	0,206	Homocedástica	2,79	Independentes	0,3163	Não Normal

Fonte: Autor (2023).

Tabela 19 – Análises estatísticas das absorvâncias obtidas em cubeta hermética (n = 1 nm).

λ nm	Outlier Teste de Grubbs		Análise de Variância Teste ANOVA de Levene		Correlação Residual Teste de Durbin-Watson		Normalidade Teste de Anderson-Darling	
	Valor _{obs}	$\geq 77,80\%$ Resultado	Valor _{obs}	$> 0,05$ Resultado	Valor _{obs}	$\geq 1,5$ Resultado	Valor _{obs}	$< 0,05$ Resultado
421	100,0%	Remoção Adequada	0,569	Homocedástica	2,87	Independentes	0,7426	Não Normal
422	90,0%	Remoção Adequada	0,134	Homocedástica	2,59	Independentes	0,0940	Não Normal
423	93,3%	Remoção Adequada	0,296	Homocedástica	2,87	Independentes	0,7470	Não Normal
424	93,3%	Remoção Adequada	0,302	Homocedástica	2,65	Independentes	0,7361	Não Normal
425	83,3%	Remoção Adequada	0,190	Homocedástica	2,72	Independentes	0,0076	Normal
426	86,7%	Remoção Adequada	0,205	Homocedástica	2,59	Independentes	0,0588	Não Normal
427	96,7%	Remoção Adequada	0,545	Homocedástica	2,93	Independentes	0,8907	Não Normal
428	86,7%	Remoção Adequada	0,257	Homocedástica	2,91	Independentes	0,0476	Normal
429	90,0%	Remoção Adequada	0,223	Homocedástica	2,97	Independentes	0,4269	Não Normal
430	80,0%	Remoção Adequada	0,135	Homocedástica	2,51	Independentes	0,0027	Normal
431	93,3%	Remoção Adequada	0,222	Homocedástica	2,69	Independentes	0,6418	Não Normal
432	90,0%	Remoção Adequada	0,158	Homocedástica	2,54	Independentes	0,1398	Não Normal
433	83,3%	Remoção Adequada	0,127	Homocedástica	2,53	Independentes	0,0216	Normal
434	90,0%	Remoção Adequada	0,293	Homocedástica	2,70	Independentes	0,1572	Não Normal
435	90,0%	Remoção Adequada	0,353	Homocedástica	2,84	Independentes	0,2234	Não Normal
436	86,7%	Remoção Adequada	0,193	Homocedástica	2,58	Independentes	0,1697	Não Normal
437	90,0%	Remoção Adequada	0,277	Homocedástica	2,90	Independentes	0,1222	Não Normal
438	90,0%	Remoção Adequada	0,136	Homocedástica	2,59	Independentes	0,0945	Não Normal
439	86,7%	Remoção Adequada	0,124	Homocedástica	2,46	Independentes	0,0151	Normal
440	86,7%	Remoção Adequada	0,098	Homocedástica	2,55	Independentes	0,0301	Normal
441	90,0%	Remoção Adequada	0,235	Homocedástica	2,64	Independentes	0,7039	Não Normal
442	90,0%	Remoção Adequada	0,306	Homocedástica	2,59	Independentes	0,5069	Não Normal
443	93,3%	Remoção Adequada	0,379	Homocedástica	2,88	Independentes	0,7367	Não Normal
444	83,3%	Remoção Adequada	0,204	Homocedástica	2,95	Independentes	0,1273	Não Normal

Fonte: Autor (2023).

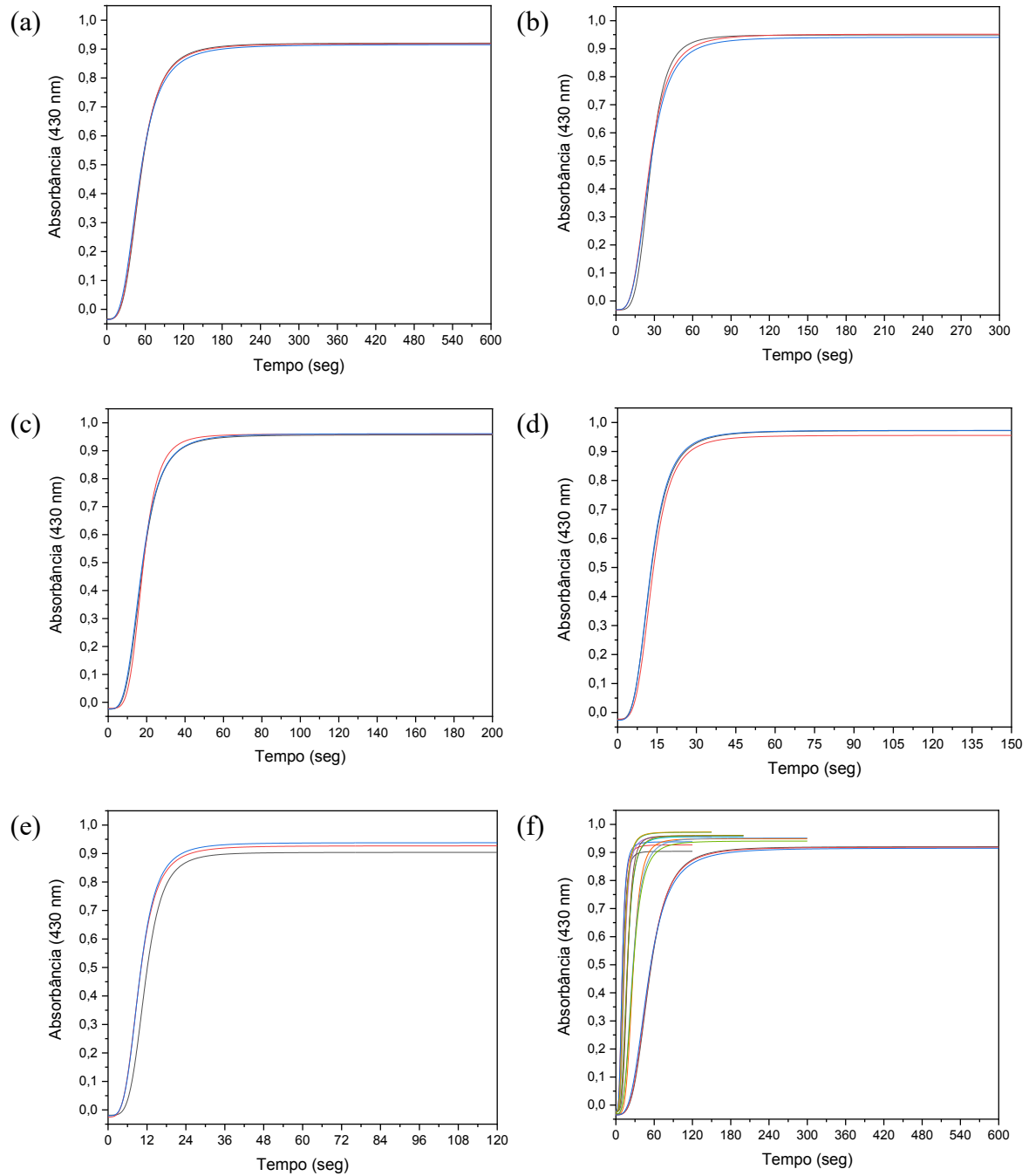
Tabela 20 – Análises estatísticas das absorvâncias obtidas em cubeta de fluxo (n = 1 nm).

λ nm	Outlier Teste de Grubbs		Análise de Variância Teste ANOVA de Levene		Correlação Residual Teste de Durbin-Watson		Normalidade Teste de Anderson-Darling	
	Valor _{obs}	$\geq 77,80\%$ Resultado	Valor _{obs}	$> 0,05$ Resultado	Valor _{obs}	$\geq 1,5$ Resultado	Valor _{obs}	$< 0,05$ Resultado
421	96,7%	Remoção Adequada	0,432	Homocedástica	2,82	Independentes	0,5104	Não Normal
422	93,3%	Remoção Adequada	0,339	Homocedástica	2,80	Independentes	0,1666	Não Normal
423	96,7%	Remoção Adequada	0,371	Homocedástica	2,80	Independentes	0,4838	Não Normal
424	90,0%	Remoção Adequada	0,475	Homocedástica	2,89	Independentes	0,3196	Não Normal
425	86,7%	Remoção Adequada	0,357	Homocedástica	2,83	Independentes	0,0594	Não Normal
426	93,3%	Remoção Adequada	0,297	Homocedástica	2,80	Independentes	0,1761	Não Normal
427	93,3%	Remoção Adequada	0,473	Homocedástica	2,85	Independentes	0,3253	Não Normal
428	100,0%	Remoção Adequada	0,523	Homocedástica	2,86	Independentes	0,6993	Não Normal
429	93,3%	Remoção Adequada	0,471	Homocedástica	2,87	Independentes	0,8382	Não Normal
430	83,3%	Remoção Adequada	0,410	Homocedástica	2,85	Independentes	0,0164	Normal
431	90,0%	Remoção Adequada	0,449	Homocedástica	2,80	Independentes	0,8525	Não Normal
432	83,3%	Remoção Adequada	0,300	Homocedástica	2,69	Independentes	0,0607	Não Normal
433	90,0%	Remoção Adequada	0,380	Homocedástica	2,70	Independentes	0,4113	Não Normal
434	83,3%	Remoção Adequada	0,360	Homocedástica	2,68	Independentes	0,0687	Não Normal
435	90,0%	Remoção Adequada	0,466	Homocedástica	2,69	Independentes	0,3495	Não Normal
436	93,3%	Remoção Adequada	0,614	Homocedástica	2,80	Independentes	0,7906	Não Normal
437	86,7%	Remoção Adequada	0,407	Homocedástica	2,78	Independentes	0,0762	Não Normal
438	86,7%	Remoção Adequada	0,447	Homocedástica	2,81	Independentes	0,0601	Não Normal
439	90,0%	Remoção Adequada	0,416	Homocedástica	2,80	Independentes	0,0528	Não Normal
440	83,3%	Remoção Adequada	0,400	Homocedástica	2,76	Independentes	0,0531	Não Normal
441	83,3%	Remoção Adequada	0,441	Homocedástica	2,75	Independentes	0,0914	Não Normal
442	83,3%	Remoção Adequada	0,466	Homocedástica	2,78	Independentes	0,0812	Não Normal
443	80,0%	Remoção Adequada	0,175	Homocedástica	2,77	Independentes	0,1821	Não Normal
444	80,0%	Remoção Adequada	0,239	Homocedástica	2,93	Independentes	0,1999	Não Normal

Fonte: Autor (2023).

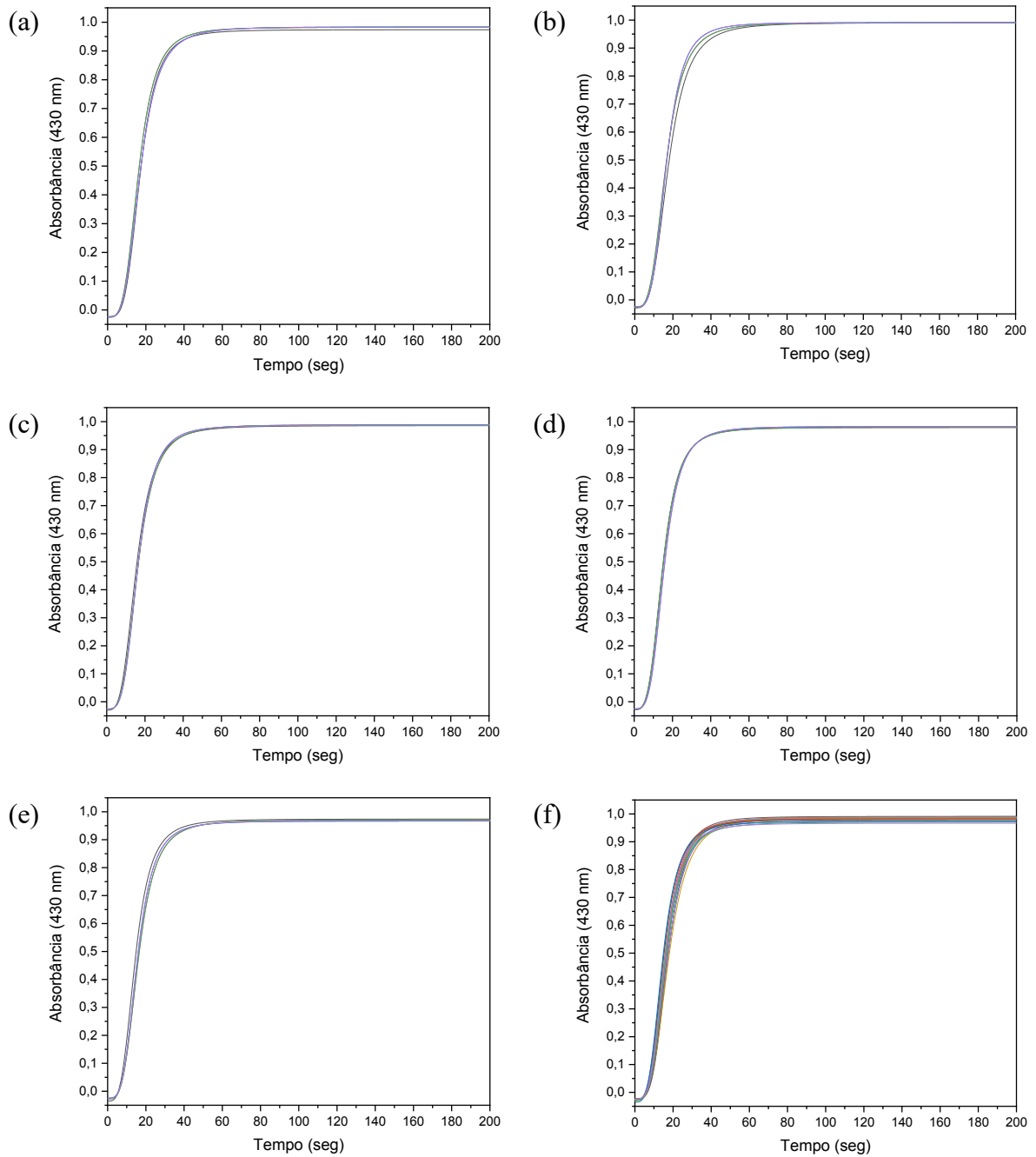
ANEXO B – TABELAS DOS ENSAIOS DE FLUXO E TEMPERATURA

Figura 25 – Gráficos de estabilização de leitura nos fluxos 1,0 (a), 2,0 (b), 3,0 (c), 4,0 (d), 5,0 (e) e 1-5 (f) mL min⁻¹ a 15°C.



Fonte: Autor (2023).

Figura 26 – Gráficos de estabilização de leitura nas temperaturas de 5,0 (a), 10,0 (b), 15,0 (c), 20,0 (d), 25,0 (e) e 5-25 °C (f) em fluxo de 3,0 mL min⁻¹.



Fonte: Autor (2023).

ANEXO C – TABELAS DAS CALIBRAÇÕES MULTI-ÂNIONS

Tabela 21 – Parâmetros das curvas de calibração multi-ânions (parte 1)

Parâmetros	Fluoreto	Clorito	Cloreto	Valor _{crit}	Resultado
	Valor _{obs}	Valor _{obs}	Valor _{obs}		
Teste de Grubbs (Outlier)	88,9%	92,6%	92,6%	≥ 77,80%	Adequado
Teste de Levine (ANOVA)	1,307	1,321	1,324	< 2,36	Homocedástica
Teste de Dubin-Watson (Autocorrelação)	2,251	2,239	2,342	≥ 1,5	Independentes
Teste de Anderson-Darling (Normalidade)	0,001	0,010	0,016	< 0,05	Normais
Sig. de Regressão (p-valor)	4,69 10 ⁻³³	2,83 10 ⁻²⁸	1,25 10 ⁻²⁸	< 0,05	Significativo
Sig do Coeficiente Linear (p-valor)	8,88 10 ⁻¹	3,81 10 ⁻⁴	9,48 10 ⁻⁴	< 0,05	Significativo*
Sig. do Coeficiente Angular (p-valor)	4,69 10 ⁻³³	2,83 10 ⁻²⁸	1,25 10 ⁻²⁸	< 0,05	Significativo
Coeficiente de Correlação (r)	0,9993	0,9976	0,9978	≥ 0,99	Conforme
Coeficiente de Determinação (r ²)	0,9986	0,9953	0,9956	≥ 0,995	Conforme
Limite de Detecção	1,32	2,44	2,35		
Limite de Quantificação	4,01	7,39	7,13	mg L ⁻¹	-

(*) Exceto para Fluoreto

Fonte: Autor (2023).

Tabela 22 – Parâmetros das curvas de calibração multi-ânions (parte 2)

Parâmetros	Nitrito	Clorato	Brometo	Valor _{crit}	Resultado
	Valor _{obs}	Valor _{obs}	Valor _{obs}		
Teste de Grubbs (Outlier)	92,6%	92,6%	92,6%	≥ 77,80%	Adequado
Teste de Levine (ANOVA)	1,258	1,456	1,594	< 2,36	Homocedástica
Teste de Dubin-Watson (Autocorrelação)	2,312	2,227	2,190	≥ 1,5	Independentes
Teste de Anderson-Darling (Normalidade)	0,028	0,024	0,024	< 0,05	Normais
Sig. de Regressão (p-valor)	5,46 10 ⁻³²	4,60 10 ⁻²⁷	2,57 10 ⁻²⁷	< 0,05	Significativo
Sig do Coeficiente Linear (p-valor)	2,74 10 ⁻³	8,95 10 ⁻⁴	9,12 10 ⁻⁴	< 0,05	Significativo
Sig. do Coeficiente Angular (p-valor)	5,46 10 ⁻³²	4,60 10 ⁻²⁷	2,57 10 ⁻²⁷	< 0,05	Significativo
Coeficiente de Correlação (r)	0,9989	0,9970	0,9971	≥ 0,99	Conforme
Coeficiente de Determinação (r ²)	0,9978	0,9940*	0,9943*	≥ 0,995	Conforme
- Estatística t (r ² < 0,995)	-	440,0	462,8	> 2,365	
Limite de Detecção	1,68	2,75	2,69		
Limite de Quantificação	5,09	8,35	8,14	mg L ⁻¹	-

Fonte: Autor (2023).

Tabela 23 – Parâmetros das curvas de calibração multi-ânions (parte 3)

Parâmetros	Nitrato	Fosfato	Sulfato	Valor _{crit}	Resultado
	Valor _{obs}	Valor _{obs}	Valor _{obs}		
Teste de Grubbs (Outlier)	88,9%	92,6%	88,9%	≥ 77,80%	Adequado
Teste de Levine (ANOVA)	1,770	1,271	1,282	< 2,36	Homocedástica
Teste de Dubin-Watson (Autocorrelação)	2,261	2,265	2,248	≥ 1,5	Independentes
Teste de Anderson-Darling (Normalidade)	0,014	0,043	0,051	< 0,05	Normais*
Sig. de Regressão (p-valor)	3,14 10 ⁻²⁶	1,26 10 ⁻²⁸	8,70 10 ⁻²⁷	< 0,05	Significativo
Sig do Coeficiente Linear (p-valor)	1,06 10 ⁻³	3,72 10 ⁻³	4,55 10 ⁻⁴	< 0,05	Significativo
Sig. do Coeficiente Angular (p-valor)	3,14 10 ⁻²⁶	1,26 10 ⁻²⁸	8,70 10 ⁻²⁷	< 0,05	Significativo
Coeficiente de Correlação (r)	0,9972	0,9978	0,9975	≥ 0,99	Conforme
Coeficiente de Determinação (r ²)	0,9944*	0,9956	0,9950*	≥ 0,995	Conforme
- Estatística t (r ² < 0,995)	467,2	-	525,5	> 2,365	
Limite de Detecção	2,70	2,35	2,43		
Limite de Quantificação	8,20	7,14	7,36	mg L ⁻¹	-

(*) Exceto para Sulfato

Fonte: Autor (2023).

Tabela 24 – Equações de regressão das calibrações multi-ânions

Fluoreto Área = 1,0810 * Conc.	Clorito Área = 0,4177 * Conc. - 0,5120	Cloreto Área = 1,0653 * Conc. - 1,1488
Nitrito Área = 0,4943 * Conc. -0,3368	Clorato Área = 0,3293 Conc. -0,4182	Brometo Área = 0,3554 * Conc. -0,4392
Nitrato Área = 0,4871 * Conc. -0,6004	Fosfato Área = 0,2373* Conc. -0,2180	Sulfato Área = 0,6673 * Conc. -0,8735

Fonte: Autor (2023).