

VALIDAÇÃO DE MÉTODO ALTERNATIVO PARA DETERMINAÇÃO DE CLORO RESIDUAL LIVRE

Christian Patrik P. Andriola¹
Wilton Silva Lopes²
Railson de Oliveira Ramos³
Mário César Ugulino de Araújo⁴

RESUMO

O cloro residual livre é um dos parâmetros da qualidade de água de abastecimento público, cujo monitoramento contínuo é uma exigência dos órgãos de controle. As preconizações das portarias de potabilidade são que os níveis de cloro livre estejam entre 0,2 mg L⁻¹ e 2 mg L⁻¹. O método padrão e internacionalmente conhecido para determinação deste analito é a titulação iodométrica, que envolve uma série de reagentes e procedimentos laboriosos. Um outro método, aplicado em testes de campo e largamente utilizado por companhias de águas e esgoto, envolve a utilização da orto-toluidina, um reagente de elevado potencial carcinogênico e poluidor. O presente estudo apresenta a validação de um método alternativo, espectrofotométrico, para determinação de cloro residual livre em águas, empregando um reagente indicador colorimétrico não prejudicial à saúde e inserido no conceito da química verde, compreendido pela simples mistura de amido com iodeto de potássio. Foram obtidos como resultados: linearidade $R^2 = 0,998$, limite de detecção 0,0447 mg L⁻¹, limite de quantificação 0,149 mg L⁻¹, faixa linear 0,149 a 3,125 mg L⁻¹, precisão (CV% médio) 1,63 % e exatidão (recuperação) 100,69 %. Todos os parâmetros validados atenderam as preconizações da Resolução nº 899 da ANVISA.

Palavras-chave: Cloro Residual Livre, Reagente Alternativo, Espectroscopia de Absorção Molecular no UV-vis, Validação de Método.

INTRODUÇÃO

De acordo com a Portaria De Consolidação Nº 5, de 28 de setembro de 2017, é obrigatória a manutenção de, no mínimo, 0,2 mg L⁻¹ de cloro residual livre; 2 mg L⁻¹ de cloro residual combinado ou; 0,2 mg L⁻¹ de dióxido de cloro, em toda a extensão dos sistemas de distribuição (reservatório e rede). Esta portaria ainda preconiza que os níveis de cloro residual livre devem estar entre 0,2 mg L⁻¹ e 2 mg L⁻¹.

O método padrão para determinação de cloro residual livre é a titulação iodométrica, adequado apenas para a medição das concentrações de cloro total superior a 1,0 mg/L (SOARES et al., 2016). Este método é baseado na liberação iodo da solução de iodeto de

¹ Aluno de Engenharia Química da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, christian.andriola17@hotmail.com;

² Professor da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, wiltonuepb@gmail.com;

³ Aluno do Doutorado em Química da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, railson_uepb@outlook.com;

⁴ Professor da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, mariougulino@gmail.com.

potássio (KI), através da ação do cloro livre. O iodo liberado é titulado com uma solução padrão de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), empregando com amido como indicador. O pH deve estar entre pH 3 a 4 porque a reação não é estequiométrica em pH neutro, devido à oxidação parcial do tiosulfato ao sulfato. Por envolver preparo de diversas soluções, padronizações da solução de tiosulfato e titulações, este procedimento se torna laborioso e inviável de se realizar rotineiramente (APHA, 2012).

Por este motivo, as análises de campo para determinação do cloro residual livre são realizadas através de kits colorimétricos baseados no reagente orto-toluidina. Este indicador químico é classificado como produto de categoria 1B pela carcinogenicidade e por provocar corrosão a pele (WALLAU et al., 2013).

O presente estudo avaliou a aplicação de um reagente alternativo para determinação colorimétrica de cloro residual livre, objetivando a validação de método. As vantagens deste reagente são: i) a simplicidade de preparo, baseado na mistura de iodeto de potássio com amido; ii) inserido no conceito da química verde, por ser biodegradável e iii) não apresenta risco a saúde humana.

METODOLOGIA

Os reagentes utilizados para desenvolvimento deste trabalho foram: Amido solúvel (Vetec, S. Paulo, BR), Iodeto de Potássio (Vetec, S. Paulo, BR) e Hipoclorito de sódio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Água ultra-pura tipo 1+ ($18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, Master System MS 2000, Gehaka) foi usada no preparo das soluções.

Uma solução estoque de Hipoclorito de sódio a 25 mg L^{-1} foi diluída em balões volumétricos de 10 ml, para obtenção dos padrões da curva analítica ($0,625$; $1,25$; $1,875$; $2,5$ e $3,125 \text{ mg L}^{-1}$). O preparo do reagente indicador alternativo KI/amido envolveu: a) uma primeira etapa em que $12,5 \text{ g}$ de KI foram dissolvidos em 50 ml de água tipo 1+, ao passo que 1 g de amido foi dissolvido em 25 ml água a 90° C e b) uma segunda etapa em que $7,5 \text{ ml}$ da solução de amido foi adicionada aos 50 ml solução de KI.

Seis mililitros de cada padrão foram transferidos para béqueres de 10 ml e, em seguida, receberam 60 uL do reagente indicador KI/amido. O padrão em branco da curva analítica foi preparado pela mistura de 6 ml de água tipo 1+ com 60 uL do reagente indicador. As soluções de padrão com indicador foram analisadas em um espectrofotômetro de varredura UV-Vis 8453E da Agilent Technologies.

Para realização dos cálculos de validação, todos os experimentos para construção da curva analítica foram realizados em triplicatas. Além disso, foram preparadas amostras com concentração 0,625, 1,875 e 3,125 mg L⁻¹ para os testes de precisão e exatidão, utilizando como matriz água de abastecimento público desclorada. Nos cálculos de validação de método foram seguidos os procedimentos da Resolução nº 899 da ANVISA.

DESENVOLVIMENTO

A ANVISA em sua resolução nº 899, de 29 de maio de 2003, bem como o INMETRO no documento DOQCGCRE- 008 de 2006, citam os requisitos mínimos para a validação de um método analítico.

Linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Esta relação pela regressão linear entre os valores de concentração e sinal analítico medido, conforme apresentado pela Equação 1.

$$y = ax + b \quad \text{Equação 1}$$

Em que: y - é a resposta medida, variável dependente; x - concentração do analito, variável independente; a - inclinação da curva de calibração (coeficiente angular); b - intersecção com o eixo y (coeficiente linear).

A linearidade estima-se determinado coeficiente de correlação (R^2), que permite uma estimativa da qualidade da curva. A Resolução nº 899 da ANVISA recomenda que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação deve ser $R^2 = 0,98$.

A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação), de uma série de medidas, conforme a Equação 2.

$$CV(\%) = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Em que: DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada. O valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 20% (ANVISA, 2003; INMETRO, 2006).

Exatidão deve ser verificada a partir de, no mínimo, nove determinações, contemplando o intervalo linear do procedimento, ou seja: três níveis de concentração (baixa, média e alta), com três réplicas cada. A exatidão é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente, conforme a Equação 9:

$$Rec = \frac{\text{Concentração estimada}}{\text{Concentração esperada}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Os limites de detecção e quantificação podem ser calculado com base na relação entre desvio padrão do coeficiente linear e o coeficiente angular da curva de calibração, como apresentado nas Equação 4 e 5.

$$LD = \frac{Dpa}{ca} \times 3 \quad \text{Equação 4}$$

$$LQ = \frac{Dpa}{ca} \times 10 \quad \text{Equação 5}$$

Nas quais: DPa é o desvio padrão do intercepto com o eixo do y de, no mínimo, 3 curvas de calibração e CA é o coeficiente angular da curva de calibração média (ANVISA, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As varreduras Uv-viss da mistura dos padrões de calibração são apresentados na **Figura 1**. Por seleção a priori, as faixas de 190-260 nm e de 770-1100 nm foram eliminadas, por não conter informação útil.

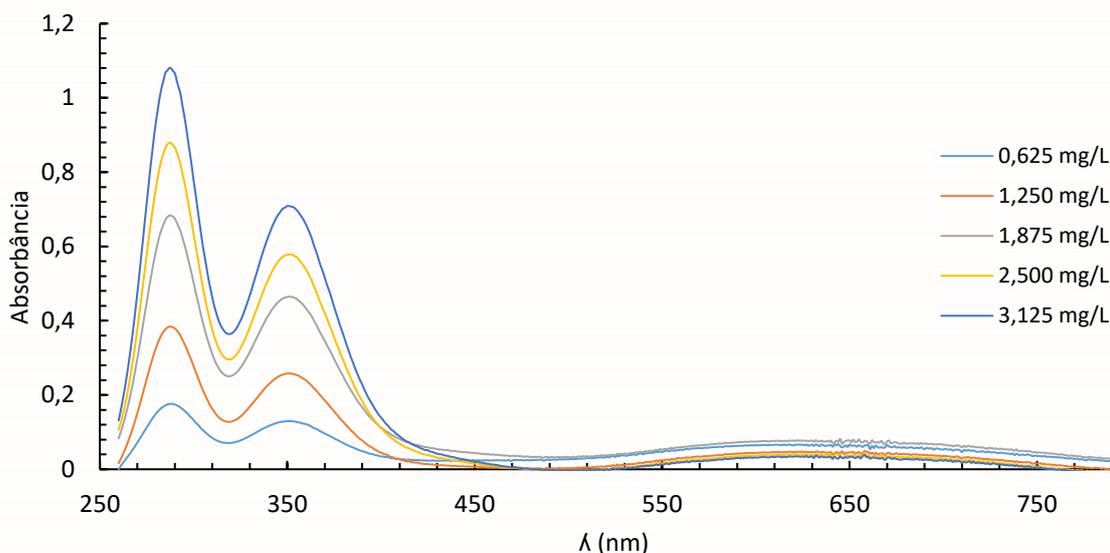


Figura 1 – Curva média de três varreduras Uv-vis das misturas de padrões de calibração com indicador KI/Amido.

Conforme apresentado na figura 1, três bandas de absorção molecular foram formadas: uma mais intensa em 290 nm, outra em 350 nm e, uma de menor intensidade 580 nm. A banda em 290 nm foi selecionada para monitorar o sinal analítico, cuja correlação com os níveis de concentração do analito é mostrado na **Figura 2**.

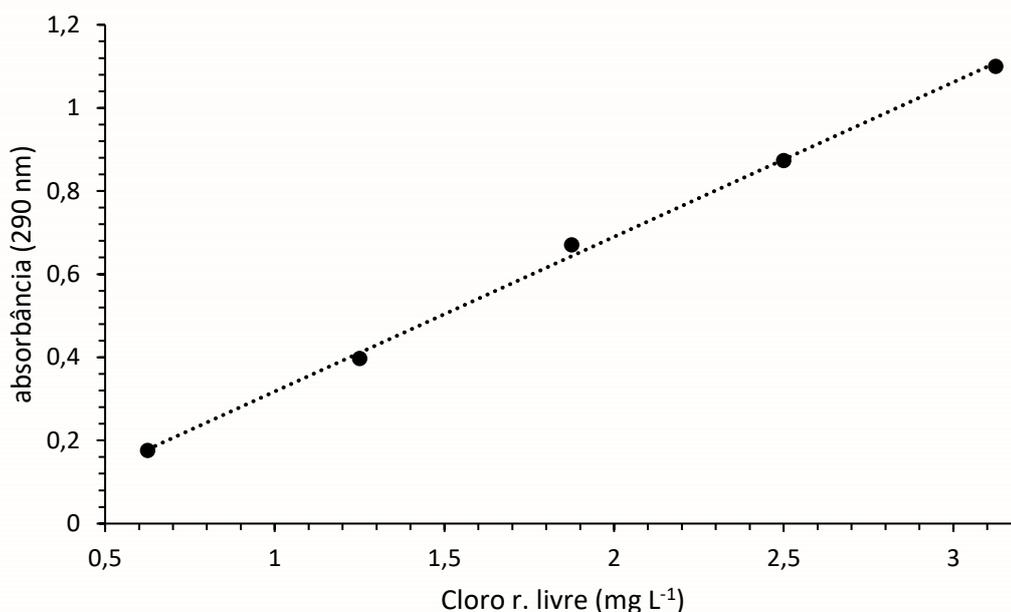


Figura 2- Curva analítica dos valores médios de absorbância vesus concentração para cloro residual livre

Por meio de regressão linear foi obtida a Equação 6 com um $R^2 = 0,9981$. Este valor de coeficiente de correlação está de acordo com a preconização para linearidade da resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA.

$$y = 0,372 x - 0,0542$$

Equação 6

As outras três curvas analíticas construídas para cálculo de LD e LD estão apresentadas na **Figura 3**, com as respectivas equações de regressão e R^2 . O desvio padrão (0,005543) entre os valores dos coeficientes lineares da **Figura 3**, bem como o coeficiente angular da curva da **Figura 2**, foram empregados nas Equações 4 e 5. O LD obtido foi $0,0447 \text{ mg L}^{-1}$ e o LQ $0,149 \text{ mg L}^{-1}$. A faixa de trabalho resultante vai de $0,149 \text{ mg L}^{-1}$ a $3,125 \text{ mg L}^{-1}$, englobando os níveis máximos e mínimos normatizados para águas de abastecimento público ($0,2\text{-}2,0 \text{ mg L}^{-1}$) (Portaria De Consolidação Nº 5, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

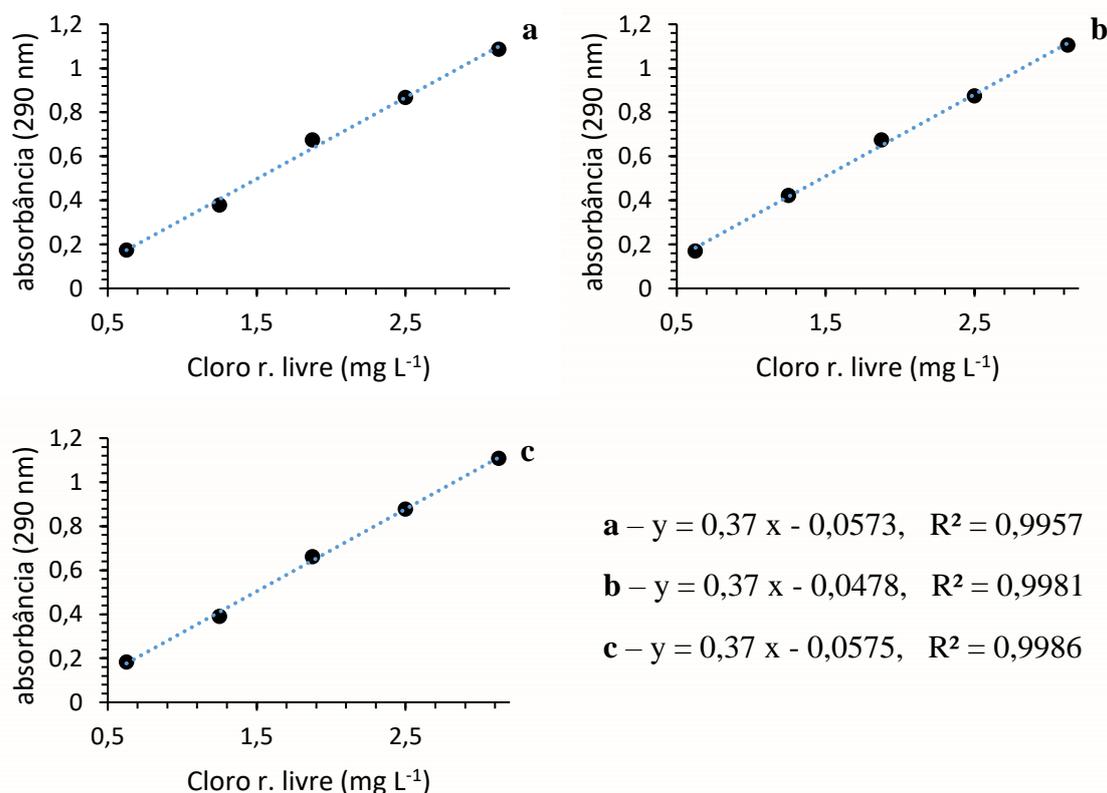


Figura 3 – Replicatas das curvas analíticas, com as respectivas equações de regressão e R^2 , utilizadas na determinação de limite de detecção e quantificação.

Os dados obtidos através dos testes para determinação da precisão e exatidão estão apresentados na **Tabela 1**.

Conc. esperada	0,625	1,875	3,125
Conc. Predita 1	0,614	1,959	3,066
Conc. Predita 2	0,603	1,960	3,117
Conc. Predita 3	0,637	1,924	3,124
Desvio. Conc. Pred.	0,017	0,020	0,031
Conc. Pred. Média	0,618	1,948	3,102
Coef. Variação %	2,803	1,067	1,020
Recuperação %	98,89	103,9	99,29

O coeficiente de variação médio, obtido pelo desvio padrão da concentração predita, em nível de concentração baixo, médio e alto, foi de 1,69 %. O teste de recuperação média, também nestes três níveis, foi 100,69 %. Tanto a exatidão quanto a precisão estão conforme as exigências da resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A validação do método com indicador alternativo (KI/amido) para determinação de cloro residual livre atendeu todas as preconizações da resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA. Além simplicidade no procedimento de análise e preparo deste indicador, a faixa de trabalho obtida neste método é mais adequada para determinação de cloro residual livre que a faixa de trabalho do método de referência. O KI/amido é um indicador colorimétrico biodegradável e sua manipulação não oferece riscos à saúde humana, o que também o torna vantajoso em relação ao método de campo com orto-toluidina.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil., Resolução RE nº 899 de 29/05/2003, Brasília (DF), 2003.

American Public Health Association (APHA); **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 22th ed., New York, 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. Documento orientativo, DOQCGCRE- 008. 35 p, 2011.

PORTARIA DE CONSOLIDAÇÃO Nº 5, DE 28 DE SETEMBRO DE 2017, Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, Ministério da Saúde, Brasília-BR, 2017.

SOARES, S. S., ARRUDA, P. N., LOBÓN, G. S., & SCALIZE, P. S. Avaliação de métodos para determinação de cloro residual livre em águas de abastecimento público. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v37(1), 119-130, 2016.

WALLAU, W. M., ALINE J. R., WOHLMUTH, A. S., Produtos químicos perigosos utilizados em laboratórios de ensino – Proposta e exemplos para indicação de seus perigos no rótulo, **Quim. Nova**, v36(8), 1267-1274, 2013.