

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

NÍVEA MARIA MAR CAMPOS

**PADRÃO ALTERNATIVO DE DICROMATO DE POTÁSSIO PARA
DETERMINAÇÃO DE COR DA ÁGUA**

Manaus – AM

2015

NÍVEA MARIA MAR CAMPOS

**PADRÃO ALTERNATIVO DE DICROMATO DE POTÁSSIO PARA
DETERMINAÇÃO DE COR DA ÁGUA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós -
Graduação em Química, da Universidade Federal do
Amazonas, como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Química, Área de concentração:
Química Analítica.

Orientador: Dr. Ézio Sargentini Jr.

Manaus – AM

2015

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C198p Campos, Nívea Maria Mar
Padrão alternativo de dicromato de potássio para determinação
de cor da água / Nívea Maria Mar Campos . 2015
128 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Ézio Sargentini Júnior
Dissertação (Mestrado em Química de Prod. Naturais) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Escala Hazen. 2. Cor da água. 3. Dicromato de potássio. 4.
método alternativo. I. Sargentini Júnior, Ézio. II. Universidade
Federal do Amazonas III. Título

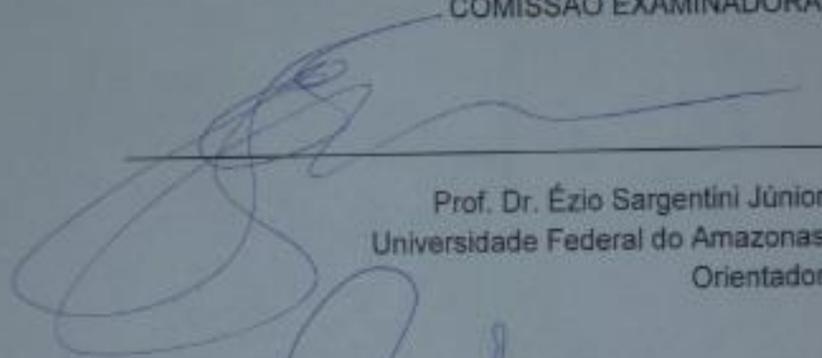
**"DETERMINAÇÃO DE COR DA ÁGUA UTILIZANDO
DICROMATO DE POTÁSSIO COMO REAGENTE
PADRÃO ALTERNATIVO"**

Nívea Maria Mar Campos

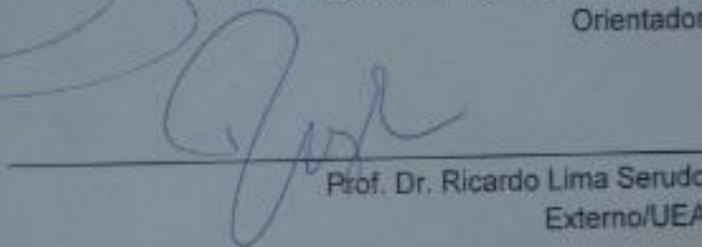
Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovada em 03 de dezembro de 2015

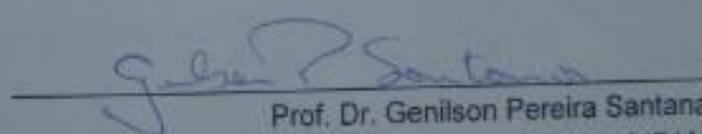
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Ézio Sargentini Júnior
Universidade Federal do Amazonas
Orientador



Prof. Dr. Ricardo Lima Serudo
Externo/UEA



Prof. Dr. Genilson Pereira Santana
Membro/UFAM

Universidade Federal do Amazonas
Manaus, 03 de dezembro de 2015.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por ser o meu refúgio e fortaleza. Pois a alegria de minh'alma é o meu Deus em quem eu confio.

À Universidade Federal do Amazonas, ao Programa de Pós-Graduação em Química que possibilitaram a realização deste estudo; e a CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao professor Dr. Ézio Sargentini Junior pela orientação, pelo auxílio precioso e pela oportunidade concedida.

Agradeço a toda a Família LQAA – Laboratório de Química Analítica Ambiental do INPA – na pessoa do Msc. Marcos Bolson, por todo apoio na travessia do mar do conhecimento, nesses dois anos de convivência, pelos momentos contributivos de descontração e partilha “intelectual/cultural” regados de cafeína, glicose e bom humor. Sem o apoio de vocês eu não teria conseguido. Este agradecimento também se estende aos que foram adotados pela família LQAA: o Msc. Otávio Peleja e a Msc. Marilize Damasceno.

Ao queridíssimo professor Msc. Pedro Campelo Júnior pela amizade, apoio incondicional, por ter acreditado em mim e em especial pelo amor dedicado a profissão que emana no seu jeito de ser educador, sempre disponível a nos auxiliar, afinal “quando um sábio ensina o justo seu conhecimento aumenta” e “quem encontrou um amigo encontrou um tesouro”.

Agradeço aos meus companheiros de trincheiras, Msc. Henrique Alves da Silva, Nayandra Kellen, Cássio Augusto e Mauro Melo Costa pelas sugestões e auxílio nos ensaios laboratoriais e pela valiosa amizade. Dias melhores virão, afinal guerreiro que é guerreiro nunca para de lutar e grandes conquistas exigem grandes esforços.

A Central Analítica pelas análises concedidas na pessoa do Erickson, José e Karen que sempre foram muito receptivos e compreensivos todas as vezes que foi preciso repetir as análises.

Ao Laboratório de Físico-química da UFAM na pessoa da Isadora Ribeiro pelas análises concedidas.

Ao Laboratório de ecossistema aquático, do INPA, na pessoa do Ms. Otávio Peleja pelas análises concedidas e principalmente pelo apoio e amizade.

Ao Laboratório de Recursos Hídricos, do INPA, pelas análises concedidas.

Agradeço a minha Família pelo apoio e incentivo, e principalmente por compreender a minha ausência em diversos momentos. Por vocês vale a pena continuar lutando, em virtude de serem o caís onde a âncora do meu “ser” encontra repouso seguro.

A todos vocês minha eterna gratidão!

Deus os abençoe!

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido um método alternativo de quantificação de Cor da água, utilizando dicromato de potássio, como reagente padrão, e Espectrofotômetro UV/VIS para mensurar a Cor da solução, visando à praticidade e baixo custo, visto que, o reagente padrão de Platina-Cobalto, indicado pelas normas nacionais e internacionais, possui um custo elevado e a estabilidade da solução é de apenas seis meses. Para certificar-se que se tratava de uma solução estável, foi feito sucessivas medições das soluções de dicromato de potássio nas concentrações de 1,0 a 10,0 mg L⁻¹ em ácido sulfúrico a 0,005M, em equipamentos de Espectrofotômetro UV/VIS, no comprimento de onda de 450,0 nm. A partir dos resultados das mensurações foi determinado um fator de conversão da cor em dicromato de potássio para platina-cobalto. Esse fator foi estabelecido fazendo correlação das cores obtidas em dicromato de potássio com as cores apresentadas pelas soluções do padrão platina-cobalto, nas concentrações de 5,0 a 50,0 mg L⁻¹, obtendo um fator de conversão de 5,2. Em razão das águas do rio Negro apresentarem cores de valores elevados, foi feito novas calibrações nas concentrações de 10,0 a 50,0 mg L⁻¹ de dicromato de potássio e de 50,0 a 250,0 mg L⁻¹ de platina-cobalto, resultando o mesmo valor do fator de conversão das concentrações mais baixas. Os valores de cor obtidos utilizando o fator de conversão foram equivalentes ao padrão platina-cobalto, apresentando erro sistemático semelhante, com uma sensibilidade de 0,0067 para o método dicromato de potássio e 0,0013 para o platina-cobalto. A repetitividade (n=10) e reprodutibilidade (n=6) do método foram verificadas por meio dos coeficientes de variação das medidas das amostras analisadas no mesmo dia (< 10,0%) e em dias diferentes (< 10,0%) mostrando conformidade com os valores indicados pela IUPAC. As etapas de validação confirmaram a intercambialidade entre os métodos Pt/Co e K₂Cr₂O₇, mostrando que o método alternativo pode ser utilizado com uma tolerância de 10% no valor final da Cor, sendo que na prática é aceitável uma tolerância de até 20%, conforme indicado pelos Métodos Padrão para o Exame de Água e Esgoto (APHA, AWWA and WEF, 1999; 2012). Por esta razão, o método foi aplicado em amostras de água bruta, de rios de água preta, comprovando a eficiência do método alternativo na determinação da Cor usando cubetas de 10, 20 e 50 mm.

Palavras-chave: Escala Hazen, Cor da água, Dicromato de potássio.

ABSTRACT

In this work was developed an alternative method for quantifying water color, using potassium dichromate as standard reagent and UV-Visible spectrophotometer to measure color, with a view to practicality and low cost, since the standard reagent, platinum-cobalt, indicated by national and international standards, it has a high cost and this solution has stability of only six months. And to make sure that it was a stable solution was made successive measurements of potassium dichromate solutions in 1.0 to 10.0 mg L⁻¹ in 0.005 M sulfuric acid, and using the spectrophotometer UV / VIS a wavelength of 450.0 nm. And from the results of the measurements was determined a color conversion factor of potassium dichromate for the platinum-cobalt. This factor was established by doing a correlation of colors obtained in potassium dichromate to the colors displayed in the solutions of the platinum-cobalt standard at concentrations of 5.0 to 50.0 mg L⁻¹. Because the waters color of the black river produce high values the study was also done with the concentrations to 10.0 to 50.0 mg L⁻¹ of the potassium dichromate and from 50.0 to 250.0 mg L⁻¹ of the platinum-cobalt, and the conversion factor of the color to highest concentrations was similar to that of the lower concentrations, a value equal to 5.2. The color values obtained by applying the conversion factor was equal to the values given by the standard method platinum-cobalt, with similar systematic error the potassium dichromate method, which showed a sensitivity (0.0067) higher than the standard method platinum-cobalt (0.0013). The repeatability (n = 10) and reproducibility (n = 6) of the method were verified by the variation coefficient of the measured samples and analyzed on the same day (<10.0%) and on different days (<10.0%) showing compliance with the values indicated by IUPAC. The validation steps confirmed the interchangeability between the Pt / Co and K₂Cr₂O₇ methods, showing that the alternative method may be used with a tolerance of 10% at the end value of the Color, and in practice a tolerance of 20% is acceptable as indicated by the Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, AWWA and WEF, 1999; 2012). For this reason, the method was using applied with the raw water samples of black water rivers, with that was proved the efficiency of the alternative method to determine the water color using cuvettes of 10, 20 and 50 mm of the fused quartz.

Keywords: Hazen scale, water color, potassium dichromate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Encontro das águas barrentas do Rio Solimões com as águas escuras do Rio Negro.....	21
Figura 2 - Processo de absorção de um feixe de radiação monocromática.....	34
Figura 3 - Esquema do funcionamento interno de um espectrofotômetro.....	35
Figura 4 - Espectrofotômetro de absorção molecular UV/VIS da Thermo Scientific, modelo AquaMate Plus.....	46
Figura 5 - Correlação dos pesos de calibração com as leituras da balança.....	61
Figura 6 - Espectros das soluções de $K_2Cr_2O_7$ a $20,0 \text{ mg L}^{-1}$ para estudo de ácidos.....	64
Figura 7 - Varredura espectral das soluções de $K_2Cr_2O_7$ a 60 mg L^{-1} para calibração do comprimento de onda em 350 nm	66
Figura 8 - Calibração da escala de comprimento de onda de todos os espectrofotômetros.....	67
Figura 9 - Calibração da escala fotométrica.....	68
Figura 10 - Curva de calibração realizada com as soluções de $K_2Cr_2O_7$	69
Figura 11 - Curva de calibração realizada com as soluções de Pt/Co.....	70
Figura 12 - Correlação linear das concentrações de Pt/Co com $K_2Cr_2O_7$	71
Figura 13 - Espectros das soluções de Pt/Co a 100 mg L^{-1} e $K_2Cr_2O_7$ a 20 mg L^{-1} na faixa espectral de $445,0$ a $455,0 \text{ nm}$	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação entre Cor observada e Cor transmitida.....	29
Tabela 2 – Dados da calibração da balança analítica.....	60
Tabela 3 – Correlação dos erros relativos obtidos na calibração de pipetas.....	62 e 63
Tabela 4 – Resultado da calibração dos balões volumétricos de 25 mL.....	63
Tabela 5 – Determinação de Cor das águas de igarapés aplicando o método $K_2Cr_2O_7$	72
Tabela 6 – Cores convertidas de $K_2Cr_2O_7$ para Pt/Co na faixa de 445,0 a 455,0 nm usando cubetas de 10 e 50 mm.....	73 – 77
Tabela 7 – Dados da análise de sensibilidade do método usando cubetas de 10, 20 e 50 mm.....	78
Tabela 8 – Resultados da precisão intracorrida usando cubeta de 50 mm.....	79 e 80
Tabela 9 – Resultados da precisão intracorrida usando cubeta de 20 mm.....	80 e 81
Tabela 10 – Resultados da precisão intracorrida usando cubeta de 10 mm.....	81 e 82
Tabela 11 – Resultados da precisão intermediária usando cubeta de 50 mm.....	84
Tabela 12 – Resultados da precisão intermediária usando cubeta de 20 mm.....	85
Tabela 13 – Resultados da precisão intermediária usando cubeta de 10 mm.....	86
Tabela 14 – Dados da análise de reprodutibilidade usando cubeta de 50 mm.....	87 e 88
Tabela 15 – Dados da análise de reprodutibilidade usando cubeta de 20 mm.....	88
Tabela 16 – Dados da análise de reprodutibilidade usando cubeta de 10 mm.....	90
Tabela 17 – Análise da robustez do método em função do pH da solução na faixa de 2 a 5 (n=3).....	92

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	American Public Health Association (Associação Americana de Saúde Pública).
ASTM	American Society for Testing and Materials (Sociedade Americana para Testes e Materiais).
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CGCRE	Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro
CMD	Concentração Média Determinada
CV	Coefficiente de Variância
DOQ	Documento Orientativo da Qualidade
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
IC	Inclinação da Curva
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (União Internacional de Química Pura e Aplicada).
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de Quantificação
MRC	Material de Referência Certificado
NIST	National Institute of Standards and Technology, USA (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia).
Pt-Co	Platina-Cobalto
R	Coefficiente de correlação
SABESP	Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
SRM	Standard Reference Material (Material Padrão de Referência).
UV/VIS	Ultravioleta/Visível

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
1.1 COR DA ÁGUA E OS TONS DA AMAZÔNIA	19
1.2 IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DA ÁGUA	21
1.3 ESCALA DE COR DA ÁGUA.....	24
1.4 DICROMATO DE POTÁSSIO.....	25
1.5 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DE COR DA ÁGUA	28
1.5.1 Relação entre cor observada e cor absorvida	29
1.5.2 Colorimetria visual	30
1.5.2.1 Método Platina-cobalto.....	31
1.5.3 Colorimetria fotoelétrica	32
1.5.4 O processo de absorção e a Lei de Beer-Lambert	33
1.5.4.1 Transmitância	36
1.5.4.2 Absorbância	36
1.5.5 Espectrofotometria no UV/VIS	37
1.5.6 Calibração do espectrofotômetro	38
1.5.6.1 Comprimento de onda	39
1.5.6.2 Escala Fotométrica	40
1.5.7 Padrão de Calibração	40
1.6 PAPEL DA VALIDAÇÃO	41
1.6.1 Linearidade	41
1.6.2 Faixa de trabalho e faixa linear	42
1.6.3 Limite de quantificação e detecção	42
1.6.4 Sensibilidade	43
1.6.5 Precisão	43
1.6.5.1 Repetibilidade	43

1.6.5.2 Precisão intermediária	43
1.6.5.3 Reprodutibilidade	44
1.6.6 Exatidão	44
1.6.7 Robustez	44
2 OBJETIVO	45
3 PARTE EXPERIMENTAL	46
3.1 INSTRUMENTAÇÃO	46
3.2 DESCONTAMINAÇÃO DE MATERIAIS	47
3.3 CALIBRAÇÃO DE VIDRARIAS E MATERIAIS	47
3.3.1 Calibração da balança analítica	47
3.3.2 Calibração de pipetas	47
3.3.3 Calibração de balão volumétrico	48
3.4 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	48
3.4.1 Ácidos	48
3.4.1.1 Ácido Clorídrico	48
3.4.1.2 Ácido Nítrico	48
3.4.1.3 Ácido Perclórico	48
3.4.1.4 Ácido Sulfúrico	49
3.4.2 Solução Padrão Pt/Co	49
3.4.3 Dicromato de Potássio/Purificação do sal	49
3.4.4 Solução Padrão de Dicromato de Potássio	50
3.5 ESTUDO DE ÁCIDOS	50
3.6 CALIBRAÇÃO DO ESPECTROFOTÔMETRO UV/VIS	50
3.6.1 Calibração do comprimento de onda	51
3.6.2 Verificação da escala fotométrica	51
3.7 FATOR DE CONVERSÃO	52
3.8 CALIBRAÇÃO DO MÉTODO	52
3.9 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA	53
3.9.1 Linearidade	53

3.9.2 Faixa de trabalho e faixa linear	53
3.9.3 Limite de detecção e quantificação	54
3.9.4 Sensibilidade	54
3.9.5 Precisão	55
3.9.5.1 Repetibilidade	55
3.9.5.2 Precisão intermediária	56
3.9.5.3 Reprodutibilidade	57
3.9.6 Exatidão	58
3.9.7 Robustez	58
3.9.8 Análise estatística	59
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1 CALIBRAÇÃO DE VIDRARIAS E MATERIAIS	60
4.1.1 Calibração da balança analítica	60
4.1.2 Calibração de pipetas	62
4.1.3 Calibração de balão volumétrico	63
4.2 ESTUDO DE ÁCIDOS	64
4.3 CALIBRAÇÃO DO ESPECTROFOTÔMETRO UV/VIS	65
4.3.1 Calibração do comprimento de onda	66
4.3.2 Calibração da escala fotométrica	67
4.4 FATOR DE CONVERSÃO	69
4.5 CALIBRAÇÃO DO MÉTODO	72
4.6 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA	77
4.6.1 Linearidade e Faixa de trabalho	78
4.6.2 Limite de quantificação e detecção	78
4.6.3 Sensibilidade	78
4.6.4 Precisão	79
4.6.4.1 Repetibilidade	79

4.6.4.2 Precisão intermediária	83
4.6.4.3 Reprodutibilidade	87
4.6.5 Exatidão.....	91
4.6.6 Robustez	91
4.6.7 Avaliação da intercambialidade do método	93
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	94
REFERÊNCIAS	96
ANEXO A – Absorbâncias das soluções de $K_2Cr_2O_7$ com H_2SO_4 a 0,005M	110
ANEXO 1A – Absorbâncias das soluções de $K_2Cr_2O_7$ com $HClO_4$ a 0,001M	111
ANEXO B – Valores de absorbâncias das soluções de Pt/Co e $K_2Cr_2O_7$.....	112
ANEXO 1B – Gráficos de Correlação das Cores em Pt/Co e $K_2Cr_2O_7$.....	113
ANEXO 2B – Análise de precisão intracorrida	114
ANEXO C – Quantificação da Cor de água bruta usando Pt/Co e $K_2Cr_2O_7$.....	117
ANEXO D – Avaliação da estabilidade das soluções de $K_2Cr_2O_7$	118
ANEXO E – Metodologia de preparo da solução de $K_2Cr_2O_7$.....	124

INTRODUÇÃO

A água que é utilizada para o consumo humano e para as atividades socioeconômicas por ser retirada de rios, lagos, represas e aquíferos, tem influência direta sobre a saúde, à qualidade de vida e o desenvolvimento das populações (SOUZA, 2000).

A Organização Mundial da Saúde define como água potável aquela com aspecto límpido e transparente e que não apresenta cheiro ou gosto refutável, além de não conter nenhum tipo de micro-organismo ou substância que possa causar prejuízos à saúde (BRASIL, 2011; SCURACCHIO, 2010).

No início da civilização a qualidade da água para consumo humano não era considerada um fator importante, os efeitos dos lançamentos de dejetos e a origem da captação de água eram desprezíveis, embora os aspectos estéticos (aparência, sabor, odor) influenciassem na escolha da fonte. Com o aumento da população fixada e agrupada em assentamentos, que hoje são grandes centros urbanos, acentuou-se a contaminação das águas superficiais e subterrâneas (ANTUNES; CASTRO; GUARDA, 2004; RICHTER; AZEVEDO NETTO, 1998).

Historicamente, até o século XVIII, água pura era classificada apenas como limpa, clara, de bom sabor e sem odor. As pessoas não relacionavam a impureza da água às doenças e por não terem acesso a uma tecnologia adequada para determinar os contaminantes presentes na água baseavam-se apenas na estética, apesar deste critério não dar garantia da ausência de microrganismos nocivos à saúde (PÁDUA, 2009). Acreditava-se que quanto maior a turbidez e Cor apresentada pelo corpo hídrico, maior seria a perspectiva de transmissão de moléstias.

Porém, no século XIX, após ocorrerem inúmeras mortes devido à cólera, é que se estabeleceu correlação entre a água consumida e a transmissão de doenças (ANTUNES; CASTRO; GUARDA, 2004). Contudo, embora a Cor não seja um parâmetro de análise biológica ela pode fornecer indicações preliminares importantes para caracterização da qualidade físico-química da água e, atualmente, é um dos principais parâmetros utilizados pela resolução 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA para caracterizar os corpos hídricos do Brasil (BRASIL, 2005).

A Cor da água está associada ao grau de redução que a intensidade da luz sofre ao atravessá-la, isso acontece em virtude da absorção de parte dessa radiação, devido à presença de sólidos dissolvidos, principalmente material em estado coloidal orgânico e inorgânico (SCURACCHIO, 2010). Dentre os coloides orgânicos, que influenciam na

Cor dos ambientes aquáticos, podem-se mencionar os ácidos húmico e fúlvico, que são substâncias naturais que resultam de mistura complexa da degradação química e biológica de resíduos, vegetais e animais, e da atividade de síntese dos microrganismos que são levados para os rios, mares, lagos e oceanos por lixiviação ou erosão dos solos e transportadas pelas águas das chuvas (ROCHA; ROSA, 2003; SARGENTINI JR, 1999; ZEIDEMANN, 2001). Há também compostos inorgânicos capazes de possuir as propriedades e provocar os efeitos de matéria em estado coloidal. Os principais são os óxidos de ferro e manganês, que são abundantes em diversos tipos de solo. Sendo que, o pH também pode influenciar na Cor da água dos rios (MACEDO, 2004).

A combinação de fatores naturais e antrópicos interferem nas características e propriedades das águas superficiais e subterrâneas, atribuindo um caráter específico de acordo com as interações ambientais de cada lugar. Essas interferências modificam as propriedades físico-químicas e biológicas da água, influenciam na Cor, que é um parâmetro físico visível, e comprometem a potabilidade, quando se trata de água destinada ao abastecimento público e outras utilidades nobres (LUÍZ; PINTO; DE OLIVEIRA SCHEFFER, 2012). Portanto, com o desígnio de melhor atender e orientar a população, o CONAMA na Resolução 357/2005 classifica as águas doces conforme a qualidade e destino. Com isso, é determinado que a Cor da água superficial destinada ao abastecimento público seja de 75 mg Pt-Co/L e para consumo humano de 15 mg Pt-Co/L (BRASIL, 2005, 2010, 2011). Porém, as águas superficiais dos rios Amazônicos possuem valores mais elevados de Cor que não se enquadram neste critério da legislação (SILVA *et al.*, 2013). Devido as diferentes tonalidades de Cor apresentada pelos rios amazônicos eles são classificados como: rios de águas brancas, rios de águas pretas e rios de águas claras (SIOLI, 1985).

A análise de Cor da água se tornou um fator peremptório no processo de tratamento, não só por causar questionamentos, por parte dos consumidores quanto à potabilidade, mas em certas indústrias esse fator pode causar problemas na qualidade dos produtos fabricados, como produtos farmacêuticos (BRASIL, 2010; PEIXOTO, 2007). Em efeito da problemática apresentada têm sido desenvolvidas várias metodologias de tratamento da água para remoção de Cor e que precisam realizar a quantificação deste parâmetro para estar em concordância com a legislação em vigor (SARGENTINI, E. C. P. ; RODRIGUES, E. S.; SARGENTINI JUNIOR, 2009). O procedimento mais utilizado para determinação da Cor de água é o método Hazen, no qual se usa, como padrão, uma solução de platina-cobalto que é um reagente de custo elevado e que possui um prazo de

validade de apenas seis meses. Diante da restrição de recursos apresentada nos laboratórios acadêmicos, observa-se a importância de obter um padrão alternativo que seja de baixo custo, estável a longo prazo e de fácil acesso.

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 COR DA ÁGUA E OS TONS DA AMAZÔNIA

A Cor é uma característica da água devido à existência de substâncias no meio aquático que derivam de compostos orgânicos, íons como ferro e manganês, produtos industriais, vegetação e diversos outros materiais que podem influenciar na intensificação da Cor (LIMA, 2007; MACÊDO, 2001). Portanto, muitos são os fatores que influenciam na dinâmica e na caracterização dos ecossistemas aquáticos. As cores apresentadas por cada corpo de água derivam das interações naturais do próprio ambiente e da influência antrópica (UMETSU *et al.*, 2007).

Os rios que compõem a Bacia Amazônica apresentam cores distintas que são reflexos da diversidade do ecossistema desta região que influenciam na composição química das águas, causando mudança na Cor de origem (QUEIROZ *et al.*, 2009). A presença de substâncias dissolvidas ou em suspensão modifica a coloração da água, dependendo da quantidade e da natureza do material presente no corpo hídrico (RICHTER; AZEVEDO NETTO, 2002).

A Cor característica de cada rio Amazônico é resultante das interações biogeoquímica e da diversidade fisiográfica de cada local, como a inundação das várzeas no período da cheia dos rios (um processo ecológico sazonal que ocasiona a transformação periódica dos ambientes terrestres em aquáticos) onde é liberada uma grande concentração de matéria orgânica para os rios (AFFONSO *et al.*, 2011). Outro fator contributivo são os detritos lixiviados das florestas e dos centros urbanos no período chuvoso que fornecem coloração as águas dos rios (FERREIRA; ALMEIDA, 2005; LIMA, 2007).

Os rios Amazônicos possuem três denominações básicas, de acordo com a tonalidade observada em cada sistema aquático: rios de águas brancas ou barrentas (como os rios Solimões, Amazonas, Purus, Juruá e o Madeira), rios de águas pretas (rio Negro e Urubu) e rios de águas claras (verde-azuladas) como os rios Tapajós e Xingu (FORSBERG, 2009; IBAMA, 2006).

Os rios de águas brancas têm visibilidade de 0,1 m a 0,5 m de profundidade e possuem pH próximo do neutro, variando de 6,0 a 7,2. O aspecto barrento, apresentado por este tipo de água, tem proveniência da quantidade de matéria orgânica erodida e

elevada concentração de nutrientes e eletrólitos (QUEIROZ *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2011).

Os rios de águas pretas, cujo maior representante é o rio Negro por ser considerado o mais extenso rio de água preta do mundo, possui visibilidade com mais de 4 m de profundidade, pH ácido, variando entre 3,5 a 5,0, e a coloração de aspecto marrom-oliva, é resultado da influência da decomposição da vegetação que representam a grande quantidade de matéria orgânica dissolvida no rio, tornando-o mais ácido e escuro (PINHEIRO; BORGES, 2013; SIOLI, 1985).

Os rios de águas claras, ou verde-azuladas, têm visibilidade de 1,50 a 2,50 m de profundidade e pH ácido, na faixa de 4,0 a 7,0. Apresentam pouca matéria orgânica em suspensão e a Cor esverdeada da água provém da presença de algas, que proliferam devido à grande incidência de luz. Os rios de tonalidades azuladas possuem essa Cor devido aos efeitos ópticos comuns em grandes quantidades de água e de ar (JUNK, 1986).

A região Amazônica é repleta de encontros entre rios de cores diferentes e cada tonalidade de água pode definir as espécies de peixes e de plantas que vivem em cada lugar dessa imensa região tão admirada pela sua beleza natural e diversidade da fauna e da flora (FORSBERG, 2009). Um dos locais que mais encanta os turistas que visitam a Amazônia é o local onde ocorre o encontro das águas barrentas do Rio Solimões com as águas escuras do rio Negro, localizado a poucos quilômetros da cidade de Manaus. Devido ao grande porte dos rios tem-se a impressão que dois mares de cores distintas se encontram sem se misturarem: um de tinta branca e outro de tinta negra, como exposto na Figura 1.



Figura 1: Encontro das águas barrentas do Rio Solimões com as águas escuras do Rio Negro (Fonte: noamazonaseassim.com).

A Cor é um fator importante por ser um indicativo da presença de substâncias dissolvidas na água, um parâmetro de aspecto estético de aceitação ou rejeição do produto (RICHTER, 2009; SABESP, 2015). Porém, as águas superficiais, dos rios Amazônicos, são impróprias para o consumo humano imediato devido a elevada concentração de substâncias dissolvidas que aumentam significativamente a Cor das águas dos rios, com isso, necessita-se de um tratamento prévio adequado antes de ser consumida (LIMA, 2007; SARGENTINI, E. C. P. ; RODRIGUES, E. S.; SARGENTINI JUNIOR, 2009; SILVA *et al.*, 2013).

1.2 IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DE COR DA ÁGUA

A Resolução nº 357/2005 do Conselho Nacional de Meio Ambiente - CONAMA, que dispõe sobre os níveis de qualidade das águas naturais do território brasileiro, inclui a Cor como parâmetro de classificação dos corpos hídricos. Esta determinação é importante, pois nas águas destinadas ao abastecimento público, a Cor torna-se um problema estético, e está associada às dificuldades na penetração da luz e à presença de compostos recalcitrantes (não biodegradáveis, isto é, com taxas de decomposição muito baixas) que em geral são tóxicos aos seres humanos (SABESP, 2015). Embora existam técnicas mais específicas para a identificação de substâncias

tóxicas na água, a Cor apresentada por ela pode ser indicadora dessa possibilidade (PIVELI, 2006).

A água destinada ao consumo humano deve obedecer a critérios de qualidade definidos por normas nacionais ou internacionais, pelo fato dela ser um excelente solvente e capaz de veicular grande quantidade de contaminantes químicos e biológicos (ALVARENGA, 2010). A obediência a esses critérios determina que a seleção da tecnologia de tratamento a ser adotada considere, além da qualidade da água a ser tratada, a própria característica da comunidade a ser beneficiada (DI BERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999; DI BERNARDO, 2005).

Os mananciais superficiais Amazônicos utilizados para o abastecimento público deveriam enquadrar-se na classe II da Resolução 357/2005 do CONAMA (BRASIL, 2005), são águas satisfatórias, porém, em todas as amostras de água dos rios amazônicos abordados na literatura apresentaram parâmetros, como a Cor, acima do permitido pela legislação brasileira (LIMA, 2007; SARGENTINI, E. C. P. ; RODRIGUES, E. S.; SARGENTINI JUNIOR, 2009; SILVA *et al.*, 2013), que determina para água superficial destinada ao abastecimento público o valor de 75 mg Pt-Co L⁻¹ e para consumo humano de 15 mg Pt-Co L⁻¹ (BRASIL, 2005; 2011).

Devido à existência de diversas substâncias dissolvidas, nas águas superficiais destinadas ao consumo humano, faz-se necessário a remoção das mesmas, e posteriormente, deve-se quantificar a Cor, observando se este critério está de acordo com a legislação brasileira em vigor (SARGENTINI, E. C. P. ; RODRIGUES, E. S.; SARGENTINI JUNIOR, 2009), pois a remoção inadequada da matéria orgânica dissolvida na água, destinada ao abastecimento público, pode ocasionar uma série de fatores desagradáveis ao consumidor e às empresas abastecedoras. Em razão de a matéria orgânica dissolvida causar coloração a água, e a ausência destas substâncias deixam a água com aspecto límpido, com a descoberta de que tais substâncias são precursoras da formação de trihalometanos (THM), quando é utilizado cloro no processo de desinfecção, cujo elemento ao interagir com a matéria orgânica dissolvida, presente na água, proporciona a formação de compostos organoclorados, que são substâncias cancerígenas e, portanto nocivas à saúde humana, (PIVELI, 2006; ROCHA; ROSA, 2003) com isso, a quantificação de Cor da água passou a ser preempatória no processo de análise da qualidade deste produto.

A presença de compostos orgânicos em águas destinadas ao uso doméstico ou industrial pode ser associada a vários problemas, pois, estes compostos complexam-se

facilmente com óxidos e interagem com argilo-minerais, ácidos graxos e pesticidas, promovendo sua solubilização (JULIO *et al.*, 2006).

Os compostos orgânicos, como as substâncias húmicas, quando presentes em águas de abastecimento, podem causar Cor, sabor e odor, e proporcionar condições para o desenvolvimento de microrganismos, prejudicando a qualidade bacteriológica da água distribuída (ROCHA; ROSA, 2003). Sua presença também tem sido relacionada com problemas de corrosão em sistemas de distribuição e interferem nos processos de desmineralização, proporcionando saturação acelerada das resinas trocadoras de íons ou colmatação das membranas (JULIO *et al.*, 2006).

No processo de determinação da Cor, as amostras de água podem ser classificadas conforme os materiais em suspensão que geram coloração as mesmas: água de Cor aparente, ou seja, como o ser humano a enxerga, é o resultado da reflexão e dispersão da luz nas partículas em suspensão (PIVELI, 2006). Após a remoção do material em suspensão por centrifugação ou filtração, diz-se que a Cor é verdadeira (KOWATA; RIBEIRO; TELLES, 2000). A diferença entre a Cor verdadeira e a Cor aparente, que é ocasionada pela turbidez, é observada pelo tamanho das partículas, ou seja, partículas com diâmetro superior a 1,2 mm causam turbidez e as partículas de tamanho inferior causam Cor, na categoria de coloides e substâncias dissolvidas que permanecem na água após a filtração em membrana de 0,45 μm (JULIO *et al.*, 2006; KOWATA; RIBEIRO; TELLES, 2000; PIVELI, 2006).

A Cor é um parâmetro que fornece indicações preliminares importantes para caracterização da qualidade físico-química da água (SOUZA, 2000), pois, a água pura é virtualmente ausente de Cor (RICHTER; AZEVEDO NETTO, 2002; RICHTER, 2009). Diante da necessidade de quantificar a Cor verdadeira da água na presença de contaminantes, como efluentes industriais, no meio aquático, o sanitarista norte-americano, Allen Hazen, desenvolveu uma escala de Cor, que foi adotada por várias empresas e o uso da escala foi se expandindo a outras atividades, como o abastecimento de água para consumo humano, sendo largamente utilizada pelos órgãos de gestão da qualidade e de recursos hídricos (GOMES, 2010).

1. 3 ESCALA DE COR DA ÁGUA

A escala de Cor se baseia na preparação da solução padrão de cores com platina-cobalto (Pt-Co), que foi originalmente descrita em 1892 pelo Dr. Allen Hazen e publicada no *American Chemical Journal*, o que resultou no uso do termo "Padrões de Cores de Hazen" e "Unidade de Hazen" (uH) para a escala platina-cobalto (GOERLITZ; BROWN, 1972; HAZEN, 1896). A mesma metodologia foi descrita pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water* da Associação de Saúde Pública Americana (American Public Health Association – APHA, 1985), de forma que quando se analisa água a escala platina-cobalto é frequentemente chamada de "Cores APHA", ou, "Cor APHA/Hazen/Pt-Co" (Pt-Co/Hazen/APHA Colour). O método transformou-se no processo comum de avaliação padronizada da Cor de amostras de fluidos cuja coloração tenha como componente cromático o amarelo, Cor para o qual o método foi, inicialmente, desenvolvido (GOERLITZ; BROWN, 1972; GOMES, 2010).

A escala padrão de avaliação de Cor da água designada escala platina-cobalto (Pt-Co) ou escala Hazen foi concebida para detectar os tons amarelos típicos de efluentes urbanos e de águas contendo matéria orgânica, como as águas do Rio Negro, sendo que, na escala 0 uH corresponde a água pura e 500 uH a um fluido amarelo pálido (GOMES, 2010; PIVELI, 2006).

A escala platina-cobalto também é adotada pela Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde que estabelece para Cor aparente da água o valor máximo permitido de 15 uH (representa o mesmo que 15 mg Pt-Co L⁻¹) como padrão de aceitação para consumo humano (BRASIL, 2011). As águas naturais possuem intensidade de Cor que varia entre 0 a 200 unidades, pois, acima disso, já seriam águas de brejo e pântano com elevada concentração de matéria orgânica dissolvida (PIVELI, 2006; POVINELLI, 2009) aspecto característico das águas do Rio Negro, que apresentam Cor aparente no intervalo de 108 a 280 mg Pt-Co L⁻¹ (PINHEIRO; BORGES, 2013; SARGENTINI, E. C. P. ; SARGENTINI JUNIOR; BOLSON, 2011; SILVA *et al.*, 2013). No Brasil, é aceitável para água bruta, ou seja, antes do seu tratamento e distribuição em sistemas urbanos, valores de Cor de até 75 mg Pt-Co L⁻¹ (BRASIL, 2005).

O método adotado pela Resolução 357/2005 do CONAMA (BRASIL, 2005) para classificação das águas do território brasileiro também utiliza a escala Pt-Co para quantificação da Cor dos corpos hídricos. Porém, o reagente padrão platina-cobalto, utilizado na análise de Cor da água e efluentes industriais líquidos, possui um custo muito

elevado o que inviabiliza o uso deste produto em análises experimentais acadêmicas, principalmente em grande escala, em conspecto da estabilidade deste reagente ser de apenas seis meses. Com isso, faz-se necessário a obtenção de um produto alternativo que tenha o mesmo desempenho e baixo custo como o dicromato de potássio.

O dicromato de potássio, assim como, o Pt-Co é um material de referência certificado (SRM) pela NIST (ASTM, 2014; 2003), porém, possuem valores de mercado muito diferentes. O dicromato de potássio em solução é estável indefinidamente (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002; SKOOG *et al.*, 2007) e é um reagente largamente, utilizado para calibração da escala fotométrica dos espectrofotômetros UV/VIS (STARNA, 2006; ASTM, 2014; SOUZA; FIGUEIRÊDO; CUNHA, 2008; STARNA, 2012).

1.4 DICROMATO DE POTÁSSIO

O Dicromato de potássio, $K_2Cr_2O_7$, é um reagente químico inorgânico comum, amplamente, usado como agente oxidante em várias aplicações industriais e em laboratórios de pesquisa (COSTA *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2014), as suas soluções ácidas são usadas como padrão de calibração na região do ultravioleta e do visível (UV/VIS) dos espectrofotômetros (BURKE; MAVRODINEANU, 1976; SOUZA; FIGUEIRÊDO; CUNHA, 2008; STARNA, 2012), como padrões para dosimetria de radiação ionizante (CONCEIÇÃO, 2006; SHARPE; BARRET; BERKLEY, 1982) e para limpeza de vidrarias (EAST, 2013).

Em detrimento do $K_2Cr_2O_7$ fazer parte do grupo de compostos do cromo hexavalente (VI), este, deve ser manuseado e descartado de forma adequada devido ao fato de oferecer risco à saúde quando ingerido ou inalado em altas concentrações. Por esta razão, a legislação brasileira, estabelecida pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA na Resolução de nº 430 de 13 de maio de 2011, estabelece para descarte de resíduos uma concentração máxima permitida de 1,0 mg L⁻¹ para Cromo (III) e 0,10 mg L⁻¹ para Cromo (VI) (BRASIL, 2011).

O estudo do comportamento químico do Cromo (VI) em solução aquosa necessita de especial atenção em consequência de ser considerado carcinogênico devido a sua natureza fortemente oxidante e a sua mobilidade por meio de membranas animais (SENA *et al.*, 2001). Entretanto, o corpo hídrico que apresenta uma grande quantidade de matéria orgânica pode reduzir o Cromo (VI) a Cromo (III) desempenhando um importante

papel na diminuição do impacto ambiental ocasionado pelo cromo (SILVA; PEDROZO, 2001).

O cromo existe em baixas concentrações na maioria dos alimentos: como peixes, frangos, levedo de cerveja e diversos mariscos. Por esta razão, a legislação brasileira, visando a qualidade de vida da população, determina que a quantidade máxima de cromo permitida em produtos alimentícios seja equivalente a $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Cromo (III) e $0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Cromo total (SILVA, 1991; COSTA *et al.*, 2010; SILVA; PEDROZO, 2001) e para ingestão diária de cromo, a quantidade máxima recomendável, para uma pessoa adulta é de $35,0 \mu\text{g}$ e $15,0 \mu\text{g}$ para criança acima dos 7 anos (ANVISA, 2005).

O Cromo (III) é considerado um micronutriente essencial que desempenha papel importante no metabolismo da glicose, lipídeos e proteínas do organismo humano (DAUDT; CANTO, 1995; KARAK; BHAGAT, 2010). Apresenta atividade biológica relevante na interação com a insulina; como receptor celular através da formação do complexo dinicotinado de cromo–glutaciona, comumente chamado de fator de tolerância à glicose (FTG) (COSTA *et al.*, 2010; DAUDT; CANTO, 1995). Entretanto, a sua deficiência pode provocar neuropatia periférica, perda de peso e disfunção do metabolismo da glicose, hiperglicemia, níveis elevados de colesterol, aterosclerose, opacidade da córnea, dentre outras moléstias (ASTDR., 2012; MERTZ, 1974; PEHLIVAN; CETIN, 2009).

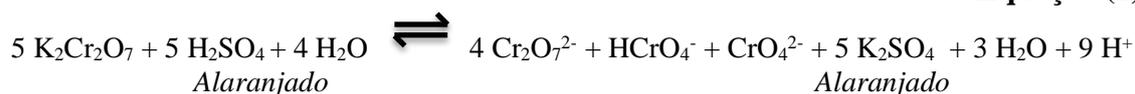
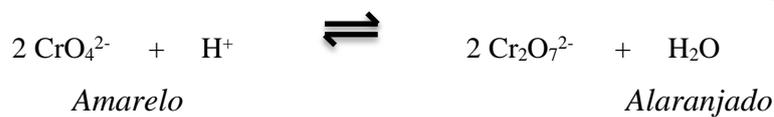
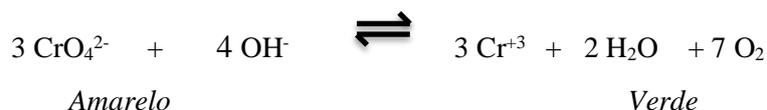
A química inorgânica do cromo é rica em cores, geometrias e estados de oxidação. Seus estados de oxidação variam de -2 até $+6$. Os estados $+2$ e $+3$ são os mais estáveis termodinamicamente, enquanto $+3$ e $+6$ são os de maior importância em solução aquosa (DAUDT; CANTO, 1995; LEE, 1980).

As soluções que contém cromo podem apresentar várias cores, como verde, azul, amarelo, laranja, dependendo de seu estado de oxidação (LEE, 1980), essa diversidade de Cor justifica o significado do nome do elemento que deriva da palavra grega *chroma*, que significa aquilo que apresenta Cor. Efeito similar também pode ser observado em algumas pedras preciosas, como a esmeralda, o rubi, a safira, a jade que devem suas exuberâncias à presença deste metal em suas composições (SILVA; PEDROZO, 2001).

Dentre os sais inorgânicos que contém cromo em sua composição e apresentam Cor intensa, destaca-se o dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), por ser um sólido cristalino de coloração vermelho-alaranjada. Porém, quando este sal é solubilizado ocorre mudança na sua Cor e essa coloração pode variar em função da concentração de cromo e do pH da solução. Esse efeito ocorre devido o equilíbrio químico entre as espécies iônicas mais

comuns de Cromo (VI): cromato, CrO_4^{2-} , e o dicromato, $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ (JEFFERY *et al.*, 1989; LEE, 1999).

A Cor alaranjada da solução de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, pode ser observada em pH ácido e neutro (0,0 a 7,0), com predominância das espécies iônicas $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ e HCrO_4^- , como exposto na **Equação 1 e 3**. Porém, essa Cor da solução pode mudar para amarela em $\text{pH} > 8$, onde predomina a espécie iônica CrO_4^{2-} , como mostrado na **Equação 2**. Quando o aumento do pH da solução for superior a 12,0 é favorecida a formação da espécie iônica Cr^{3+} e ocorre a mudança da Cor amarela para verde, como exposto na **Equação 4**.

Equação (1)**Equação (2)****Equação (3)****Equação (4)**

Segundo Costa e colaboradores (2010), o intervalo de conversão entre as espécies iônicas de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ e CrO_4^{2-} comprime a faixa de pH entre 5,0 a 7,0. Contudo, em $\text{pH} < 5,0$ predomina a espécie $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, enquanto que em $\text{pH} > 7,0$ a espécie predominante é o CrO_4^{2-} . Embora existam divergências na literatura em relação às espécies iônicas de cromo em função do pH da solução, as principais espécies de cromo presumível em soluções aquosas são: os íons hidrogênio cromato (HCrO_4^-), cromato (CrO_4^{2-}), dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) e cromo III (Cr^{3+}), além de ácido crômico (H_2CrO_4), que existe em meio ácido concentrado (FROIS, 2010; SENA *et al.*, 2001).

O reagente padrão primário está disponível comercialmente a um preço acessível (SKOOG, *et al.* 2007) e apresenta uma pureza superior a 99,97%, pois as únicas impurezas significativas que foram detectadas, por espectrometria de emissão óptica para rastreamento de impurezas elementares, são de sódio e rubídio nas frações de massa

estimados em 0,02% e 0,03%, respectivamente. Em Secagem a 105 °C durante 12 horas mostrou que a umidade da superfície deste material era inferior a 0,01% (TRAVIS *et al.*, 2000; YOSHIMORI *et al.*, 1973). Por esta razão, o presente trabalho propõe o uso deste reagente, de grau analítico suficientemente puro, como padrão alternativo para quantificação da Cor de água em espectrofotômetros UV/VIS.

1.5 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DA COR DE ÁGUA

A Cor da água em sistemas públicos de abastecimento é esteticamente indesejável, visto que, água de Cor elevada provoca a sua rejeição por parte do consumidor e o leva a procurar outras fontes de suprimento muitas vezes inseguras, por esta razão sua medida é de fundamental importância (BRASIL, 2011). Com isso, a Cor das águas tem sido historicamente medida usando métodos colorimétricos de comparação visual, empregando-se soluções padrão de platina-cobalto, e fonte de luz (CLESCERI; GREENBERG; EATON, 2005).

A Colorimetria pode ser conceituada como um procedimento analítico com o qual se determina a concentração de espécies químicas mediante a absorção de energia radiante (luz). Portanto, quando uma solução sofre incidência de luz apresenta uma Cor que é resultante da absorção relativa de vários comprimentos de onda que a compõem. Esta absorção, em cada comprimento de onda, depende da natureza da substância, de sua concentração e da espessura da mesma que é atravessada pela luz (JEFFERY *et al.*, 1989).

A técnica colorimétrica é usualmente empregada para determinar a concentração de uma substância, pela medição da absorção de luz visível da solução, comparando-a com a absorção de uma solução de concentração conhecida, denominada padrão de referência (FERREIRA, 2011).

Os métodos colorimétricos que utilizam fonte de luz, denominados ópticos, baseiam-se nas propriedades de interação da luz com a matéria para realizar análises quantitativas ou qualitativas das substâncias (DÍAZ *et al.*, 2006). A fonte de luz pode emitir energia radiante em vários comprimentos de onda e isto pode ser observado pela quantidade de luz emitida em cada comprimento de onda no espectro visível (BROWN *et al.*, 2005). Em decorrência de a Cor ser uma resposta psicofísica da interação física da energia da luz com o objeto observado, existem três fatores que podem influenciar na percepção da Cor: a fonte de luz, o objeto observado e o observador.

As cores detectáveis pelo olho humano compreendem a faixa do espectro visível de 400,0 a 750,0 nm. São cores resultantes da absorção de certos comprimentos de onda pela matéria e da transmissão de outros. Portanto, a Cor observada (Cor complementar) corresponde ao comprimento de onda que a substância não absorveu (RODELLA, 2006).

1.5.1 Relação entre Cor observada e Cor absorvida

A Cor de uma substância é o resultado da absorção de parte da luz branca incidente e da transmissão de um componente específico do espectro eletromagnético (Cor). Assim, quando uma substância apresenta a Cor amarela ela na verdade absorve o azul da radiação incidente e transmite o componente azul de forma inalterada (SKOOG, 2007, p. 685). Dessa forma, existe uma relação entre Cor absorvida e Cor transmitida, chamada de cores complementares, que pode ser vista na **Tabela 1**. As determinações colorimétricas são realizadas com base nessa propriedade, ou seja, a fonte de luz utilizada para excitar as moléculas da substância exibe a Cor complementar à absorvida por ela.

Tabela 1: relação entre Cor observada e Cor transmitida (SKOOG, 2007, p 685).

O Espectro Visível

Região do comprimento de onda absorvido (nm)	Cor da luz absorvida	Cor complementar transmitida
400-435	Violeta	Amarelo-esverdeada
435-480	Azul	Amarela
480-490	Azul-esverdeada	Laranja
490-500	Verde-azulada	Vermelha
500-560	Verde	Púrpura
560-580	Amarelo-esverdeada	Violeta
580-595	Amarela	Azul
595-650	Laranja	Azul-esverdeada
650-750	Vermelho	Verde-azulada

A Cor final de cada substância é determinada pelo padrão de cores refletido e absorvido por ela, pois cada substância absorve um padrão de cores específico de acordo com a sua estrutura molecular (LENZ, 1997). Portanto, pode-se concluir que a Cor da substância observada pelo olho humano é a Cor que corresponde à luz que ela não absorveu, isto é, a luz que interage e que tem relação com a estrutura eletrônica dos cromóforos, presentes na solução, corresponde à Cor que não se vê e que é detectada pelo instrumento de medição da luz transmitida/absorvida (RODELLA, 2006).

Para estudos envolvendo necessidades de medidas com maior grau de precisão é recomendado o método de determinação da Cor por espectrofotometria, onde é expressa pelo comprimento de onda dominante na transmissão da luz em um aparelho denominado espectrofotômetro. Esse método atende todas as especificações, de análise de Cor da água, das normas nacionais (INMETRO, 2013) e internacionais como Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater e das normas publicadas pela International Standardization Organization (ISO) (CLESCERI; GREENBERG; EATON, 2005; PARRON, 2011).

1.5.2 Colorimetria visual

Na colorimetria visual usa-se luz branca natural ou artificial como fonte de radiação e as determinações são feitas com instrumentos simples, chamados colorímetros ou comparadores de Cor, entretanto, deve-se observar que este método é de certa forma subjetivo, pois depende da sensibilidade da visão de cada operador. (FERREIRA, 2011; PIVELI, 2006).

A visão humana é uma resposta do organismo ao espectro magnético da luz visível (380,0 nm a 780,0 nm), ou seja, a interpretação da Cor é um dos aspectos da experiência visual que está intimamente relacionada com os estímulos elétricos interpretados pelo cérebro (MALASPINA, 2009).

A interpretação da Cor, pelos olhos humanos, é resultado de três processos distintos que ocorrem no momento em que os olhos são estimulados pela luz: estimulação, sensação e percepção. Esse fenômeno é explicado por vários campos da ciência (física, química, fisiologia e psicologia) que estão interligados entre si, dentre os quais, se destaca a psicofísica que estuda os estímulos que a luz, energia radiante, causa nas experiências de percepção da Cor (AHMAD, 1999).

A percepção da Cor pode variar de acordo com o observador por estar diretamente ligada aos estímulos psicofísicos. Portanto, estará vulnerável a influências como: cansaço visual, fadiga do observador e humor (JHONSTON and KAO, 1989). Apesar de tais limitações a visão humana, quando treinada, é capaz de identificar diferenças sutis de Cor em métodos padronizados para discriminação de Cor.

1.5.2.1 Método platina-cobalto ou Disco de comparação de Cor

O método platina-cobalto possui este nome devido o disco de Cor conter uma solução de cloroplatinato de potássio (K_2PtCl_6) com cloreto de cobalto ($CoCl_2$). Esta solução tem uma tonalidade esverdeada, tal como as águas dos rios europeus que eram as fontes de pesquisa quando o método foi introduzido.

Para determinação de Cor utilizando este método são necessários dois tubos de Nessler, um para a amostra e outro para água destilada. Em seguida, deve-se ligar a lâmpada do aparelho e observar a ocorrência de uma mancha escura no campo referente à amostra, a formação desta mancha ocorre devido à absorção de parte da radiação luminosa, enquanto que, no campo da água destilada a imagem é bastante clara. Posteriormente, deve-se pesquisar no disco de Cor qual a Cor correspondente as manchas apresentadas.

O funcionamento do método é baseado na correlação entre a Cor da amostra de água e a Cor do disco, ou seja, uma água com Cor 5,0 apresentará sombreamento semelhante ao produzido pela água destilada quando se posicionar sobre ela o disco na posição 5,0 que contém a solução com $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de platina-cobalto.

Este método de comparação visual é visto como subjetivo, pois, depende da sensibilidade do operador, fator este, que pode ocasionar erro quando as numerações específicas das cores forem próximas (CIE, 2004). Além disso, existem águas que apresentam colorações muito diferentes da solução de platina-cobalto, dificultando a comparação (PIVELI, 2006).

Embora a técnica de análise visual ainda seja usada nas medidas de Cor, nas últimas duas décadas, muitos pesquisadores têm optado pela técnica espectrofotométrica para determinação de Cor. Este procedimento fundamenta-se na medida da absorção de energia da luz em um ou mais comprimentos de onda dentro da faixa do ultravioleta próximo e na gama do visível do espectro. Com isso, encontra-se uma diversidade de pesquisas em que foram utilizados diferentes comprimentos de onda para quantificar a Cor de águas naturais, como: 270,0 nm (DAVIES AND CLOSE, 1990); 340,0 nm (DAVIES *et al.* 1987); 400,0 nm, (KOENINGS and EDMUNDSON 1991); 420,0 nm (HEIKKINEN 1990; CUTBERT, 1992); 430,0 nm (TRANVIK 1990); 405,0 a 450,0 nm (MIERLE and INGRAM 1991); 455,0 nm (PEIXOTO, 2007; THERMO SCIENTIFIC, 2013) e 445,0 a 470,0 nm (HONGVE and AKESSON, 1996; BENETT and DRIKAS, 1993).

O Standard Methods (APHA, 1992) sugere que a análise da Cor de águas naturais seja realizada na faixa de comprimento de onda que compreende entre 395,0 a 465,0 nm. Todavia, o comprimento de onda frequentemente utilizado para a medição da Cor de água águas naturais é o 440,0 nm (KIRK 1976, 1983; BOWLING *et al.* 1986; CUTBERT, 1992; RACHE and PACE, 2002; MENKEN, *et al.* 2005; WEBSTER, *et al.* 2008), aproximando-se do padrão britânico que determina a medição de Cor de águas naturais em 436,0 nm (BSI Method BS6068, 1986). Contudo, existem instrumentos fotométricos que são comercializados e já são fabricados para realizar essa mensuração no comprimento de onda de 450,0 nm, especificamente, seguindo a escala padrão de Unidade Hazen (uH).

A estimativa da Cor é feita relacionando os coeficientes de absorção da água com as concentrações das soluções padrão de Pt-Co, indiretamente, é também um método comparativo, embora seja, consideravelmente, mais eficaz e confiável por fornecer medidas de precisão do que o tradicional método de comparação visual, que é uma técnica altamente subjetiva e portanto, não podem detectar as combinações complexas de matiz, saturação e brilho que é perceptível na “Cor” das águas naturais (WETZEL, 1983; DAVIES, *et al.* 1990).

1.5.3 Colorimetria fotoelétrica ou Fotometria

Essa técnica é fundamentada na interação da matéria com a radiação na região do visível do espectro eletromagnético, ou seja, baseia-se na medida da quantidade de radiação absorvida pelas moléculas ou pelas espécies iônicas de interesse (SKOOG, *et al.* 2007).

As espécies responsáveis por absorver a Cor da solução são chamadas de cromóforos, que em química, é qualquer molécula, ou parte de uma molécula, responsável pela Cor do material. Quando a luz atinge um cromóforo, a excitação de um elétron faz com que sejam emitidos fótons de uma Cor específica (SUSUMA, *et al.* 2006).

Quando se substitui a colorimetria visual por um instrumento designado como colorímetro fotoelétrico, fotocolorímetro ou fotômetro, os erros devido às características individuais de cada observador são eliminados (VOGUEL, 1989).

Os fotômetros empregam um filtro para seleção do comprimento de onda juntamente com um transdutor de radiação, que converte as intensidades radiantes em sinais elétricos (SKOOG, *et al.* 2007; GOMES, *et al.* 2008). Neste caso, usualmente

emprega-se radiação correspondente a um intervalo relativamente estreito de comprimentos de onda obtido pela passagem de luz branca através de filtros ópticos, de absorção ou interferência, que transmitem somente a região espectral limitada de interesse (HOOLEY and DESSY, 1983); o nome “fotômetro de filtro” também é utilizado para designar estes aparelhos.

Os fotômetros apresentam as vantagens da simplicidade, da robustez e do baixo custo. Porém, quando se deseja uma análise com maior precisão na determinação de Cor da água são geralmente utilizados os espectrofotômetros (PIVELI, *et al.* 2005).

Os espectrofotômetros oferecem uma vantagem bastante significativa, diante dos fotômetros, os comprimentos de onda podem ser alterados continuamente tornando possível registrar-se um espectro de absorção (SKOOG, *et al.* 2007). A maioria dos espectrofotômetros cobre a região do UV/Visível e, ocasionalmente, a região do infravermelho próximo, enquanto os fotômetros são quase exclusivamente utilizados na região do visível. Ambos, os fotômetros e os espectrofotômetros são regidos pela lei de absorção ou Lei de Lambert e Beer e podem ser encontrados nas variedades de feixe único ou duplo (VOGUEL, 1989).

1.5.4. O processo de absorção e a Lei de Beer-Lambert

Cada espécie molecular é capaz de absorver suas próprias frequências (que são número de oscilações que ocorrem em um segundo) características da radiação eletromagnética. Esse processo transfere energia para a molécula e resulta em um decréscimo da intensidade da radiação eletromagnética incidente. Dessa forma, a absorção da radiação atenua o feixe de acordo com a lei da absorção (SKOOG, *et al.* 2007; HARRIS, 2012).

A lei de absorção, também conhecida como lei de Beer-Lambert ou somente como lei de Beer, expressa quantitativamente como a grandeza da atenuação depende da concentração das moléculas absorventes e da extensão do caminho óptico sobre o qual ocorre a absorção (SKOOG, *et al.* 2007; HARRIS, 2012; BEHERA, *et al.* 2012).

À medida que a luz atravessa um meio contendo um analito absorvente, ocorre a diminuição do número de fótons, por segundos presentes no feixe da radiação incidente (P_0), na proporção que o analito é excitado. Para uma solução de determinada concentração (c) do analito, quanto mais longo for o comprimento do caminho óptico (b) do meio através do qual a luz passa, maior será a absorção devido à existência de mais

centros absorventes presentes no caminho, e maior será a atenuação, isto é, a diminuição no número de fótons por segundo presentes no feixe da radiação emergente/transmitida (P), que também sofre influência das perdas de fótons por: reflexão e espalhamento, pois a luz pode também ser espalhada em todas as direções a partir da superfície de moléculas grandes ou de partículas (como poeira) presentes na solução, e esse espalhamento pode causar uma atenuação adicional no feixe emergente, como mostrado na **Figura 2**. Portanto, quanto maior for a concentração de absorventes, mais forte será a atenuação (SKOOG, *et al.* 2007; HARRIS, 2012).

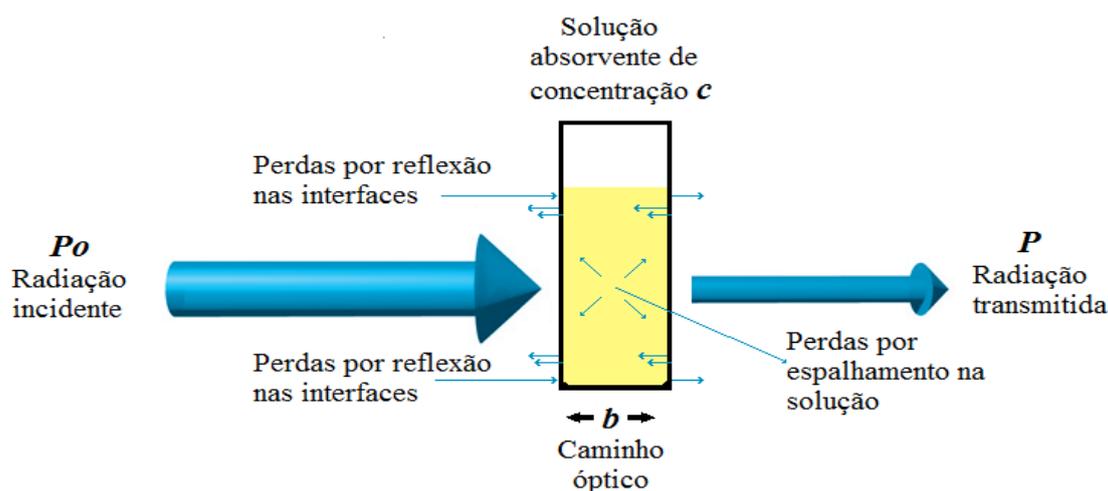


Figura 2: Processo de absorção de um feixe de radiação monocromática (Fonte: adaptado de SKOOG, *et al.* 2007).

A Figura 2 mostra a atenuação de um feixe de radiação monocromática quando passa por uma solução absorvente de espessura b cm e de concentração igual a c mols por litro. A seta larga representa o feixe incidente demonstrando que a potência radiante é maior que a transmitida pela solução devido às perdas por espalhamento na solução e pela reflexão que ocorrem em todas as fronteiras entre os diferentes materiais utilizados na confecção das cubetas, recipiente no qual é inserida a amostra (SKOOG, *et al.* 2007). Portanto, quando uma luz incide na amostra podem ocorrer quatro fatores: (1) parte da luz é transmitida através da amostra; (2) parte da luz é absorvida pelo material; (3) parte da luz é refletida em cada superfície e acaba saindo da amostra em direção à fonte luminosa e (4) parte da luz é dispersa para o lado (HARRIS, 2012; LAMEGO, 2011).

Para quantificar a absorção de energia radiante, é preciso primeiramente dispor de uma fonte de radiação. Todavia, quando a análise for realizada na região visível do espectro, com espécies que produzem soluções coloridas, uma lâmpada incandescente de filamento de tungstênio serve perfeitamente para este propósito, pois emite radiações de

comprimento de onda entre 380,0 e 780,0 nm (SKOOG, *et al.* 2007). Nessa faixa de radiação seleciona-se o comprimento de onda, preferencialmente, aquele que é absorvido pela espécie química de interesse. Essa seleção é feita por meio de um sistema monocromador, que é um dispositivo que possui uma fenda de entrada e uma fenda de saída usada para isolar uma banda estreita de comprimentos de onda, cujo qual, direciona um feixe luminoso sobre a face de um prisma, promovendo a decomposição da luz, pode coletar radiações de comprimento de onda definidos, através de mecanismos de lentes e espelhos (HARRIS, 2012). Essa seleção de comprimento de onda pode ser feita com redes de difração ou com um filtro que nada mais é do que um pedaço de vidro colorido. Os filtros são sistemas selecionadores de comprimento de onda bem menos eficiente que grades de difração, pois será selecionado um intervalo relativamente largo de comprimentos de onda (PEREIRA, *et al.* 2013). A radiação selecionada é direcionada de modo a atravessar a solução contida em um tubo transparente, denominado cubeta, que pode ser feita de metacrilato, vidro e quartzo (LAMEGO, *et al.* 2011).

A potência do feixe de radiação incidente é diminuída ao atravessar a solução contida na cubeta, devido ao processo de absorção. Um sistema detector, como uma válvula fotomultiplicadora, é capaz de medir a potência da radiação, indicando o resultado através de um sistema de leitura. Esses são essencialmente os componentes de um espectrofotômetro e fotômetros empregados para medidas de absorção na região visível do espectro (SKOOG, *et al.* 2007; HARRIS, 2012), esquematizado na **Figura 3**.

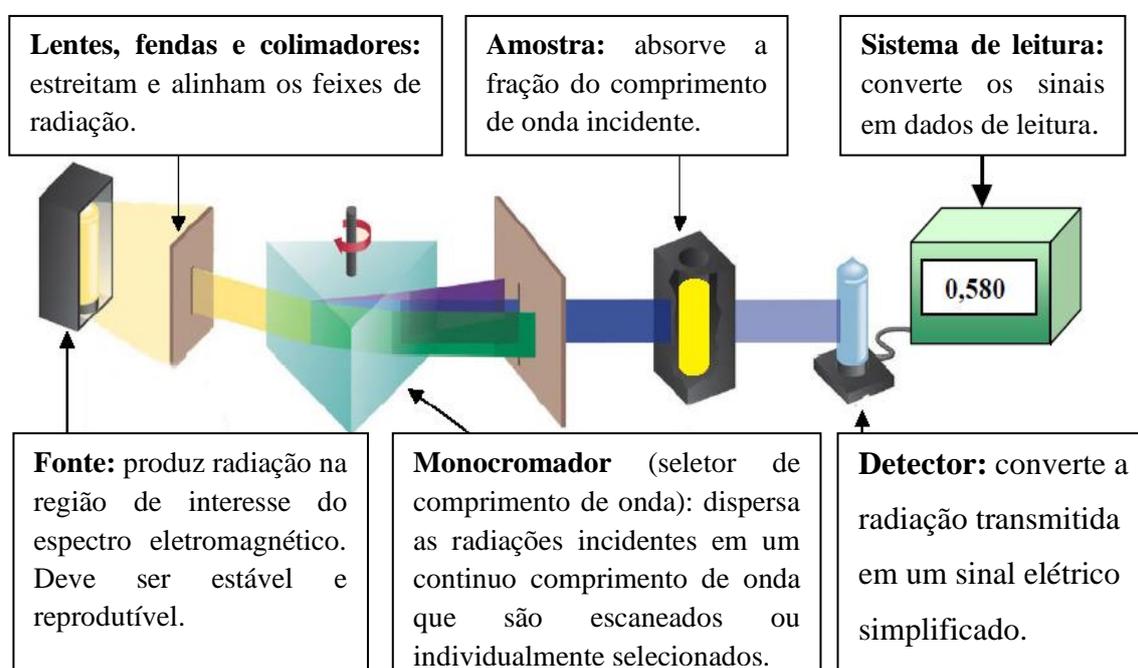


Figura 3: Esquema do funcionamento interno de um espectrofotômetro (Lenz, 1997).

A lei de Beer se aplica diretamente as medidas feitas com a radiação monocromática, onde a absorbância é proporcional à concentração da espécie química absorvente, sendo constante o comprimento de onda, a espessura atravessada pelo feixe luminoso, isto é, o caminho óptico. Verifica-se uma relação linear entre absorbância ou densidade óptica e concentração, e de uma relação logarítmica entre transmitância e concentração (HARRIS, 2012).

1.5.4.1 Transmitância

A transmitância (T) de uma substância em solução é a relação entre a quantidade de luz que incide na amostra, P_0 , e a luz transmitida que atinge o detector depois de ter passado através da amostra, P , como mostrado na **Figura 2**.

A transmitância fornece uma medição física da relação da intensidade da radiação que incide na amostra e a transmitida que passa através da mesma. Esta é, usualmente, representada em porcentagem, que pode ser obtida com a **Equação 5**.

$$T = (P / P_0) \times 100 \quad (5)$$

1.5.4.2 Absorbância

A absorbância, A , de uma solução está relacionada com a transmitância de forma logarítmica, como exposto na **Equação 6**. Entretanto, a lei que rege o processo de absorção de radiação, denominada Lei de Lambert-Beer, que estabelece a relação entre a absorbância (A) e a concentração da espécie absorvente, corresponde ao inverso do logaritmo decimal da transmitância, como mostrado na **Equação 7**.

$$\text{Log } P_0 / P = \epsilon \cdot b \cdot c = A \quad (6)$$

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (7)$$

Definição: ϵ é a absortividade molar do analito, b é o comprimento do percurso óptico e c a concentração da substância absorvente.

A transmitância e absorbância são os aparatos de medidas da radiação eletromagnética nos instrumentos denominados espectrofotômetros, que realizam medidas de absorbância ou transmitância em função do comprimento de onda. Esse processo de medição é chamado de espectro de absorção ou de espectro de transmissão,

conforme o dado registrador selecionado no equipamento. O espectro de absorção é característico para cada espécie química, sendo possível a identificação de uma espécie química por seu “espectro de absorção” (PEREIRA, *et al.* 2013).

1.5.5 Espectrofotometria no UV/VIS

A espectrofotometria na região UV/VIS do espectro eletromagnético é uma das técnicas analíticas mais empregadas em análises biológicas e físico-químicas, em função da robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações desenvolvidas (ROCHA e TEIXEIRA, 2004). Consiste num método de análise óptico que é fundamentada na quantidade de radiação emitida ou absorvida por uma amostra.

Na espectrofotometria, a energia dos fótons é transferida para as moléculas do meio material provocando transições eletrônicas associadas a transições vibracionais e rotacionais (HARRIS, 2012). Tendo em vista que os níveis energéticos das moléculas são quantizados, apenas os comprimentos de onda cujos fótons têm energia idêntica à de uma transição permitida, são absorvidos. A absorção pode ser considerada como um processo específico relacionado com a estrutura da espécie absorvente, que determina a energia envolvida na transição e com a probabilidade de que a transição ocorra (SKOOG *et al.* 2002).

O instrumento utilizado na espectrofotometria para a identificação e quantificação de substâncias por absorção no ultravioleta e visível, denomina-se espectrofotômetro que é caracterizado pela precisão, sensibilidade, robustez e simplicidade no manuseio do equipamento, (DIAZ, *et al.* 2009), e baseia-se na propriedade de diversas espécies iônicas ou moleculares que absorvem determinados comprimentos de onda na gama de 190 nm a 800 nm (INMETRO, 2012).

O intervalo de 190 a 380 nm corresponde à região do ultravioleta onde geralmente são utilizadas como fonte de radiação as lâmpadas de deutério e hidrogênio. Na região do visível, que compreende a faixa de 380 a 780 nm, são empregadas lâmpadas de tungstênio (350 a 2.200 nm) ou tungstênio/halogênio (240 a 2.500), também chamadas lâmpadas de quartzo halógenas devido conter uma pequena quantidade de iodo dentro do bulbo de quartzo que aloja o filamento. O quartzo permite que o filamento seja operado a temperaturas de cerca de 3.500 K, o que leva à alta intensidade e estende a faixa da lâmpada até a região do ultravioleta. O tempo de vida de uma lâmpada de

tungstênio/halogênio é o dobro de uma lâmpada comum de tungstênio (SKOOG, 2007; HARRIS, 2012).

Em um espectrofotômetro UV/Vis típico, a troca entre as lâmpadas de deutério e tungstênio acontece em torno de 360 nm, de forma que será utilizada sempre a fonte de radiação mais intensa do instrumento para uma determinada medição (HARRIS, 2012).

A luz visível provoca alterações no nível de energia dos elétrons da camada de valência, tem a capacidade de romper as ligações químicas mais instáveis e é muito utilizada em análises quantitativas de várias substâncias, que para o olho humano tem aspecto colorido (HARRIS, 2012).

Na região do ultravioleta, as radiações são ionizantes e rompem ligações efetivamente, fator este, que pode provocar profundas alterações na estrutura molecular do analito, iniciando várias reações químicas na solução (HARRIS, 2012).

A intensidade da absorção não é diretamente mensurável, mas ela determina uma atenuação da radiação que incide na amostra que pode ser medida e relacionada com a concentração da espécie absorvente. Quando um feixe de radiação monocromática atravessa uma solução contendo uma espécie absorvente, uma parte da energia radiante é absorvida, a parte restante atravessa o meio, como mostrado na Figura 3. Chama-se de potência radiante, a quantidade de energia transportada por segundos através de uma unidade de seção transversal (EWING, 1972, 2005; SKOOG, 2007; HARRIS, 2012).

O espectrofotômetro é um instrumento que permite comparar a radiação absorvida ou transmitida por uma solução que contém uma quantidade desconhecida de soluto, por uma quantidade conhecida de uma substância equivalente a mesma, que pode ser uma solução padrão ou de referência (SKOOG, *et al.* 2007; HARRIS, 2012).

Todas as substâncias podem absorver energia radiante, mesmo o vidro que parece completamente transparente absorve comprimentos de ondas que pertencem ao espectro visível.

1.5.6 Calibração do espectrofotômetro

A importância da calibração do espectrofotômetro UV/Vis é para detectar problemas que afetam os resultados das leituras espectrofotométricas, causados pelo desgaste natural dos equipamentos ou de seus componentes ópticos e eletrônicos, eliminar a influência da estabilização da rede elétrica e garantir a confiabilidade das medições realizadas (SOUZA, FIGUEIREDO e CUNHA, 2008).

A calibração de um equipamento é segundo o Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2011), o conjunto de operações que estabelece, sob condições especificadas, a relação entre os valores indicados por um instrumento de medição e os valores correspondentes das grandezas estabelecidas por padrões (como material de referência) e a finalidade da calibração de um instrumento é verificar a conformidade de um determinado instrumento com as especificações ou normas aplicáveis, estabelecendo uma relação entre a indicação do instrumento e o valor verdadeiro da grandeza que ele mede (BRITO *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2008).

Os materiais de referência padrão dividem-se em duas categorias principais: materiais usados na verificação e calibração da escala de comprimento de onda do espectrofotômetro e materiais de referência empregados na verificação e calibração da escala fotométrica do espectrofotômetro (GOMES *et al.*, 2008). A análise é realizada levando em consideração as variações dos valores padronizados dos materiais de referência, como filtros com certificação de laboratórios nacionais de metrologia ou filtros certificados pela NIST (EDQM, 2007; GOMES *et al.*, 2008).

1.5.6.1 Comprimento de onda

Na calibração da escala de comprimento de onda de um espectrofotômetro são empregados materiais de referência apropriados que apresentam bandas de absorção estreitas, em diferentes intervalos (BASTIÉ e TUBIANA, 1980). A largura de banda espectral e a velocidade de varredura são selecionadas com o objetivo de melhorar a resolução do espectro e extrair o melhor desempenho do equipamento (PELLEGRINO e ELSÉBIO, 2007).

Dentre os diferentes materiais de referência padrão mais usualmente empregados destacam-se: filtros de vidro de didímio e de óxido de hólmio, usados como padrões de comprimento de onda desde 1945 e 1961, respectivamente (GOMES *et al.*, 2008). O filtro de didímio apresenta um grande número de bandas de absorção nas regiões espectrais do visível e do infravermelho próximo, enquanto que o filtro de óxido de hólmio apresenta linhas de absorção mais estreitas nas regiões espectrais do ultravioleta e do visível. Na região espectral do ultravioleta também pode ser empregado vapor de benzeno como material de referência padrão. (GOMES *et al.*, 2008).

1.5.6.2 Escala Fotométrica

A verificação da escala fotométrica é tão importante quanto à da escala de comprimento de onda. Com isso, são verificadas as escalas de transmitância e absorbância do aparelho, usando filtros de vidro de densidade neutra, com diferentes percentuais de transmitância (absorbância), referentes aos comprimentos de onda específicos (NIST, 2000). Vários materiais de referência têm sido empregados na determinação da exatidão da escala fotométrica dos espectrofotômetros, dentre os quais se destacam: filtros com película metálica em sílica fundida, filtros de vidros inorgânicos e soluções padrão como dicromato de potássio que são usualmente empregadas, sendo normalmente mantidas em cubetas seladas de quartzo (GOMES *et al*, 2008).

1.5.7 Padrão de calibração

Na calibração dos espectrofotômetros são empregados materiais de referência apropriados que apresentam bandas de absorção estreitas, em diferentes intervalos da faixa espectral, do ultravioleta e visível.

Dentre os diferentes materiais de referência padrão mais utilizados na calibração dos espectrofotômetros, destacam-se os indicados pela NIST (National Institute of Standards and Technology, USA, 2012):

- Tolueno em Metanol;
- Cloreto de Potássio;
- Nitrito de sódio;
- Iodeto de sódio;
- Filtro de Óxido de Hólmio;
- Perclorato de Hólmio e
- *Dicromato de potássio*;

O dicromato de potássio apresenta uma série de vantagens que justificam a sua utilização como padrão de calibração e como reagente alternativo para quantificação de Cor da água. Segundo Skoog e colaboradores (2007), as vantagens de usar o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) como solução padrão preponderam-se em:

- Pode ser obtido puro;
- É estável até seu ponto de fusão e, portanto, um excelente padrão primário.

- Soluções padrões de concentrações conhecida podem ser preparadas pesando o sal puro e seco, e dissolvendo-o no volume adequado de solvente.
- As soluções aquosas são estáveis indefinidamente se forem protegidas contra a evaporação.

1.6 PAPEL DA VALIDAÇÃO

Validar um resultado significa garantir que o procedimento, que inclui desde as condições de operação do equipamento até toda a sequência analítica, seja aceito como correto. Além disso, é importante enfatizar que qualquer alteração em métodos normatizados, publicados ou transferidos implica na necessidade de revalidar o método, para que o laboratório demonstre que os novos métodos utilizados por eles conduzem a resultados confiáveis, com garantia de qualidade, idoneidade e credibilidade de seus produtos ou serviços (ZANG *et al.*, 2007).

A validação do método proposto estabelece a frequência das avaliações mensais das soluções usando amostras de controle da qualidade (padrões) durante as análises, critérios de conformidade que envolve múltiplos aspectos, dentre eles a calibração do espectrofotômetro utilizado.

Validação do método tem que estar de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo INMETRO (2011), tendo como objetivo principal assegurar que o procedimento analítico forneça resultados reprodutíveis e confiáveis, e que sejam adequados aos fins para os quais foram planejados (MATIOLI *et al.*, 2004). Para tanto, deve apresentar linearidade, intervalo (faixa de trabalho e faixa linear), limite de quantificação, sensibilidade, precisão, exatidão e robustez adequados à análise (BRASIL, 2011).

1.6.1 Linearidade

A linearidade está relacionada diretamente com o sistema analítico de medição, ou seja, é determinada pela região linear da curva de resposta, compreendida entre a menor e maior concentração, onde há relação direta entre o sinal analítico e a concentração do analito (LEITE, 2008). A linearidade de um método pode ser observada pelo gráfico dos resultados dos ensaios em função da concentração do analito e verificada a partir da equação da regressão linear, determinada pelo método dos mínimos quadrados

(INMETRO, 2011). Portanto, o objetivo da linearidade é obter os resultados em proporção direta com as concentrações das substâncias em estudo (LEITE, 2008).

1.6.2 Faixa de trabalho e faixa linear

Para qualquer método quantitativo, existe uma faixa de concentrações do analito ou valores da propriedade no qual o método pode ser aplicado, que pode ser denominado como faixa de trabalho ou faixa linear, isto é, dentro da faixa de trabalho pode existir uma faixa de resposta linear e dentro desta, a resposta do sinal terá uma relação linear com o analito ou valor da propriedade. A extensão dessa faixa pode ser estabelecida durante a avaliação da faixa de trabalho, que deve cobrir a faixa de aplicação para a qual o ensaio vai ser usado e a concentração mais esperada da amostra deve, sempre que possível, se situar no centro da faixa de trabalho (INMETRO, 2011).

1.6.3 Limite de quantificação e detecção

Na prática, o limite de quantificação corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco). Este limite, após ter sido determinado, deve ser testado com amostras independentes, para averiguar se a tendência e a precisão obtidas são satisfatórias. Este parâmetro também é, usualmente, denominado como “Limite de Determinação” (INMETRO, 2011).

Conforme a norma da IUPAC, o limite de detecção é calculado como correspondente à concentração que produziria um valor do sinal medido três vezes maior que o nível de ruído médio, medido com a solução de controle ou branco. É o critério mais utilizado, e alguns autores o colocam no nível de confiança de 95%. Pode ser definido, também como o menor valor detectado em confiabilidade de precisão aceitável, em função do limite do sistema (eletrônico, instrumental etc.), ou seja, do ruído do sistema (LEITE, 2008).

1.6.4 Sensibilidade

A sensibilidade é um parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito e pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear da calibração e pode ser determinada simultaneamente com os testes de linearidade (INMETRO, 2011).

1.6.5 Precisão

O primeiro procedimento para verificação da confiabilidade de uma análise é investigar se a mesma se repete quando operada sequencialmente. Esta caracterização denomina-se precisão e expressa à concordância entre os valores experimentais obtidos, ou seja, quanto mais próximos entre si estiverem os resultados das medidas, menor será o grau de dispersão dos dados (LEITE, 2008).

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra e pode ser avaliada em três níveis: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade, sendo usualmente expressas pelo desvio padrão e coeficiente de variação (ANVISA, 2003).

1.6.5.1 Repetibilidade

É a máxima diferença aceitável entre duas repetições independentes do mesmo ensaio e no mesmo laboratório, sob as mesmas condições: mesmo procedimento de medição; mesmo observador; mesmo instrumento usado sob as mesmas condições; mesmo local, e repetições no menor espaço de tempo possível (LEITE, 2008; INMETRO, 2011).

1.6.5.2 Precisão intermediária

Precisão intermediária ou precisão intercorridas: é a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Para a determinação da precisão intermediária recomenda-se um mínimo de dois dias diferentes com analistas diferentes (INMETRO, 2011).

1.6.5.3 reprodutibilidade

É a máxima diferença aceitável entre dois resultados obtidos em laboratórios distintos para um mesmo processo e em condições específicas. A reprodutibilidade pode ser conceituada, também para amostra, quando esta é analisada por instrumentos diferentes, obtendo-se desvio aceitável e compatível. De um modo geral, a reprodutibilidade pode ser obtida a partir de: amostras diferentes do mesmo ponto amostral; diferentes analistas, diferentes equipamentos; dias diferentes; técnicas diferentes; calibrações diferentes e ajustes diferenciados (LEITE, 2008).

1.6.6 Exatidão

A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro (ANVISA, 2003; LEITE, 2008).

1.6.7 Robustez

A robustez de um método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos (ANVISA, 2003). Deve ser considerada como um alerta da susceptibilidade do método às variações, e não como um parâmetro de aprovação ou rejeição da condição analítica (LEITE, 2008).

Na espectrofotometria a robustez pode ser determinada variando o pH da solução, temperatura e diferentes fabricantes de solventes/reagentes utilizado no ensaio (ANVISA, 2003).

2 OBJETIVO

Investigar a viabilidade do uso do dicromato de potássio como reagente padrão alternativo, para a determinação da Cor de água, utilizando a técnica de espectrofotometria no visível com ajuste matemático linear simples.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Durante o desenvolvimento deste trabalho, foi utilizado um espectrofotômetro de absorção molecular UV/Vis da Thermo Scientific, modelo AquaMate Plus (Figura 4), com varredura de comprimentos de onda de 190,0 a 1100,0 nm, requisito que satisfaz as análises com constituintes inorgânicos e orgânicos, como a solução de $K_2Cr_2O_7$ e amostras de água. O mesmo possui duas fontes de luz, uma lâmpada de tungstênio e outra de deutério, que garante o máximo desempenho nos métodos de análise de água tanto na dimensão do ultravioleta como no visível.



Figura 4: Espectrofotômetro de absorção molecular UV/VIS da Thermo Scientific, modelo AquaMate Plus.

Este equipamento apresenta resolução óptica de 2,0 nm e sistemas de células com opções de 10 a 100 mm de caminho óptico, contudo, neste estudo foram utilizadas cubetas de 10, 20 e 50 mm.

O instrumento possui um software padrão, VISIONlite, que fornece medições de concentração em comprimento de onda fixo, varredura dos comprimentos de onda, análises em multi-comprimento de onda fixo, análise quantitativa e cinética. Com isso, os comprimentos de onda selecionados para calibração foram: 235,0, 257,0, 313,0, 350,0 e 430,0 nm.

3.2 DESCONTAMINAÇÃO DE MATERIAIS

O bom desempenho de um método de análise laboratorial depende da eficiência da limpeza e descontaminação de todo material utilizado. Desta forma, vidrarias e materiais utilizados no armazenamento das amostras e preparo das soluções passaram por rigorosos processos de limpeza e descontaminação. Primeiramente, foram lavados com detergente neutro e enxaguados com água destilada e desionizada. Em seguida, ficaram submersos em solução de ácido nítrico 10% (v/v) pelo período de 48 horas. Posteriormente, foram enxaguados novamente três vezes com água destilada e cinco vezes com água desionizada. Após este procedimento foram colocados para secar em recipiente fechado, e antes de sua utilização foram novamente enxaguados com água desionizada (SARGENTINI JUNIOR, 1993; GAMA, 2010). O banho ácido foi utilizado de duas a três vezes e, então, descartado.

3.3 CALIBRAÇÃO DE VIDRARIAS E MATERIAIS

Para garantir o desempenho ideal, das vidrarias e materiais, em todas as medições foram feitos testes gravimétricos de acordo com as especificações do fabricante e o documento do INMETRO de caráter orientativo - DOQ-CGCRE-027 (2011).

3.3.1 Calibração da balança analítica

A calibração da balança analítica SHIMADZU (Max. 220g e Mín. 0,01g; $\pm 0,001$ g) procedeu-se, com os pesos padrão fornecidos pelo OHAUS Corp. Florham Park, NJ, USA. Foram feitas 10 pesagens para cada padrão e, posteriormente, calculada a média dessas medidas. Foi utilizada regressão linear para relacionar a leitura de correção (L_c) com a leitura da balança (L) a partir dos resultados da calibração.

3.3.2 Calibração de pipetas

A calibração das pipetas automáticas Nichipet EX Plus (10 ~ 100; 20 ~ 200 e 100 ~ 1000 μ L) foi feito de acordo com o manual de especificações fornecido pelo próprio fabricante do instrumento. Fez-se a tara do coletor vazio na balança analítica, e em seguida encheu-se a pipeta com água destilada e transferiu-se o volume de água para o recipiente coletor, mantendo a pipeta verticalmente com a ponta encostada na parede do

recipiente. Este procedimento de calibração das pipetas foi repetido dez vezes em cada volume: mínimo, médio e máximo em temperatura controlada.

3.3.3 Calibração de balão volumétrico

A calibração dos balões volumétricos foi feita conforme descrito por RELACRE (2012) Pesou-se o balão limpo e seco, tomando nota da pesagem do balão, em seguida mediu-se a temperatura da água destilada e com a mesma preencheu-se o balão avolumando-o até o menisco. Este procedimento foi repetido dez vezes, para determinar o volume médio e desvio padrão, para expressar a capacidade do balão e sua incerteza na medida de volume.

3.4 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todas as soluções foram preparadas utilizando água desionizada de alta pureza (resistividade 18,2 M Ω . cm) obtida em sistema Purelab Ultra, ELGA.

3.4.1 Ácidos

3.4.1.1 Ácido clorídrico

O ácido clorídrico (HCl) de alta pureza foi obtido a partir da destilação sub-ebulição, e o mesmo foi utilizado na preparação da solução padrão de platino cobalto.

3.4.1.2 Ácido Nítrico

Ácido Nítrico 65% Suprapur[®] (Merck) foi utilizado no preparo da solução para descontaminação das vidrarias e materiais, também foi utilizado no estudo de ácidos nas concentrações 0,005, 0,01 e 0,1 mol L⁻¹, para preparar as soluções de dicromato de potássio de 20,0 mg L⁻¹.

3.4.1.3 Ácido Perclórico

O ácido perclórico 70% (HClO₄) Merck PA foi utilizado no preparo das soluções de dicromato de potássio utilizadas na calibração das escalas fotométrica e comprimento de onda (NIST, 2000). Diluiu-se 1 (um) mL do ácido concentrado com água desionizada,

avolumando o balão volumétrico de 1000 mL, obtendo-se uma solução de HClO_4 a $0,001 \text{ mol L}^{-1}$.

3.4.1.4 Ácido sulfúrico

Ácido sulfúrico 98% (H_2SO_4) Merck PA foi utilizado no preparo das soluções de dicromato de potássio. Diluiu-se $136,0 \mu\text{L}$ do ácido concentrado com água desionizada avolumando o balão volumétrico de 500 mL, obtendo-se uma solução de H_2SO_4 a $0,005 \text{ mol L}^{-1}$.

3.4.2 Solução Padrão Pt/Co

A solução estoque de 500 unidades de Cor de Pt/Co foi preparada pela dissolução de $1,245 \text{ g}$ ($2,562 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de cloroplatinato de potássio e de $1,000 \text{ g}$ ($4,20 \times 10^{-3} \text{ mol}$) de cloreto de cobalto hexahidratado com a adição de ácido clorídrico a 10% (v/v). Os demais padrões de referência de Pt/Co foram preparados fazendo as diluições necessárias (5, 10, 15, 20, 40, 50, 100, 150 e 200 mg L^{-1}) para a construção da curva de calibração, utilizando água destilada como diluente.

3.4.3 Dicromato de Potássio/Purificação do sal

O sal utilizado no preparo da solução de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ Merck PA) passou por um processo de secagem. Este procedimento foi necessário para certificar-se que o sal não apresentava umidade. Com isso, foi pesado um cadinho vazio, anotou-se a massa obtida e tarou-se a balança analítica SHIMADZU (Max. 220g e $d=0,1\text{mg}$). Pesou-se novamente o cadinho acrescentando, aproximadamente, 1 g do dicromato de potássio tomando nota da massa inicial. Após o procedimento de pesagem o sal foi colocado na mufla QUIMIS, modelo Q-318S24, a $150 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 horas. Ao concluir o tempo de secagem, o $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ foi transferido para um dessecador até atingir temperatura ambiente. Repetiu-se o procedimento pesando novamente o recipiente contendo o sal, e ao subtrair a massa final pela inicial observou-se peso constante, concluindo que o sal de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ está isento de umidade.

3.4.4 Solução Padrão de Dicromato de Potássio

A solução estoque de dicromato de potássio foi preparada dissolvendo-se 0,125 g do sal puro em solução de ácido sulfúrico a $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ (preparado conforme item 3.4.1.4) e completou-se o volume do balão de 50 mL até o menisco com o mesmo ácido, obtendo-se a solução estoque de 2.500 mg L^{-1} de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.

A partir de diluições da solução estoque foram preparadas soluções, em diferentes concentrações (1, 2, 4, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50, e 60 mg L^{-1}) com auxílio de pipeta automática Nichipet EX Plus, (10 a $1000 \mu\text{L}$), para aferição do comprimento de onda do espectrofotômetro e para construção da curva de calibração. A diluição foi realizada em balões volumétricos de 25 mL utilizando a solução de H_2SO_4 a $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ como diluente e para completar o balão volumétrico até o menisco.

3.5 ESTUDO DE ÁCIDOS

Em virtude de ter encontrado na literatura o uso de vários ácidos minerais como diluente para o dicromato de potássio, optou-se por fazer teste com os diferentes ácidos: nítrico (HNO_3), sulfúrico (H_2SO_4) e perclórico (HClO_4). Este procedimento foi feito para definir o melhor diluente para obtenção de uma solução estável de dicromato de potássio associado com baixo custo e fácil disponibilidade comercial. Portanto, foram preparadas soluções em três concentrações diferentes de cada ácido ($0,1$; $0,01$; $0,005 \text{ mol L}^{-1}$) exceto para o ácido perclórico que foi utilizado a concentração de $0,001 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, preparou-se soluções de dicromato de potássio na concentração de 20 mg L^{-1} para cada solução dos ácidos mencionados neste estudo e comparados com uma solução com água deionizada. Posteriormente, realizou-se varredura no espectrofotômetro UV/VIS nos comprimentos de onda de 200,0 a 500,0 nm, com intervalo de 0,5 nm e usando cubeta de 50 mm, para averiguar o comportamento dos espectros entre os ácidos e analisar eventual influência entre as diferentes concentrações de cada ácido. Foi observada a estabilidade das soluções de dicromato de potássio no período de 12 meses.

3.6 CALIBRAÇÃO DO ESPECTROFOTÔMETRO UV/VIS

A calibração do espectrofotômetro é fundamental para mensurar fatores que influenciam na medição e para verificar periodicamente seu desempenho, mantendo a rastreabilidade de suas medidas utilizando materiais de referência padrão. Esta

verificação faz-se necessária devido ao desgaste físico de alguns componentes ópticos do instrumento e algumas normas orientam este procedimento, tais como ASTM E275, ASTM 387, ASTM E925, ASTM E958 e ASTM E1866. Para avaliar o desempenho do espectrofotômetro foram realizadas análises dos parâmetros que influenciam as medições e que estão diretamente relacionadas com a resposta analítica, a escala fotométrica e a escala de comprimento de onda.

Os padrões de calibração utilizados neste procedimento foram as soluções de $K_2Cr_2O_7$, nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 $mg L^{-1}$, solvatado em $HClO_4$ a 0,001M e H_2SO_4 a 0,005 M, conforme indicado na SRM 935^a NIST publicação especial 260-54, e posteriormente, efetuou-se a leitura espectral na faixa de 320,0 a 370,0 nm, usando cubeta de 10 mm.

3.6.1 Calibração do comprimento de onda

Na verificação da escala do comprimento de onda, são utilizados padrões de dicromato de potássio que é um método bem estabelecido na calibração espectrofotométrica, por apresentar picos característicos de absorção máximo nos comprimento de onda de 257,0 e 350,0 nm e picos de absorção mínimo em 235,0 e 313,0 nm. Nesta escala são analisados os fatores de maior influência que afetam os resultados das medições no espectrofotômetro: a largura de banda espectral, a velocidade de varredura e a exatidão do comprimento de onda. Com isso, foi preparada uma solução de dicromato de potássio na concentração de 60 $mg L^{-1}$, preparadas com H_2SO_4 a 0,005M e $HClO_4$ a 0,001M. Posteriormente utilizando cubeta de 10 mm, foi feito varredura espectral na faixa de 320,0 a 370,0 nm com largura de banda de 0,5 nm.

3.6.2 Verificação da escala fotométrica

Na escala fotométrica, em geral, a análise da medida de transmitância (absorbância) do instrumento, é feito levando-se em consideração as variações da resposta analítica com respeito aos valores padronizados dos materiais de referência. Entretanto, a calibração da escala fotométrica sofre influências dependentes diretamente do instrumento, tais como luz espalhada, ruído fotométrico, estabilidade, linearidade e reprodutibilidade fotométrica. Nesta verificação foi utilizado a solução de dicromato de potássio em ácido perclórico 0,001M e em ácido sulfúrico 0,005 M, dentro da gama de concentração de 20 a 100 $mg L^{-1}$. A partir do preparo destas soluções foi realizada a leitura

espectral nos comprimentos de 235, 257, 313 e 350 nm, usando cubeta de caminho óptico de 10 mm conforme indicado na SRM 935^a NIST publicação especial 260-54 (ASTM, 2014). Para examinar a linearidade e a reprodutibilidade fotométrica analítica foi construída uma curva de calibração, observando se as absorvâncias aparentes, da série de soluções do dicromato de potássio, estão em função da concentração do material de referência.

3.7 FATOR DE CONVERSÃO

O fator de conversão do método, que será utilizado para converter a concentração de $K_2Cr_2O_7$ em Pt/Co foi determinado a partir de sucessivas repetições das análises das soluções, mencionadas no item 3.4.4, em espectrofotômetro UV/VIS usando cubetas de 10, 20 e 50 mm. Este procedimento foi testado usando água dos igarapés Barro Branco e Campinas, que foram coletadas durante o ano de 2014.

Os resultados obtidos, após a aplicação do fator de conversão, foram analisados a partir do erro relativo, coeficiente de variância, desvio padrão e análise estatística ANOVA, utilizando os testes T e F, cujo software usado para o tratamento estatístico foi o OriginPro 8.0.

3.8 CALIBRAÇÃO DO MÉTODO

Com as soluções de $K_2Cr_2O_7$ e Pt/Co efetuou-se as leituras no comprimento de onda de 450,0 nm, do espectrofotômetro, e as varreduras espectrais na faixa de 400,0 a 500,0 nm, largura da banda de 0,5 nm para velocidade de 150,0 nm/min, usando cubetas de 10 e 50 mm. Este procedimento foi feito para analisar os espectros das soluções de Pt/Co e $K_2Cr_2O_7$ na faixa espectral mencionada.

Em observância aos critérios exigidos pelas normas envolvendo validação de metodologia, antes da construção da curva de calibração do método, os equipamentos foram calibrados (3.6.1 e 3.6.2). Para estudo de calibração foram feitos experimentos fazendo as curvas com Dicromato de Potássio e Pt/Co aplicando o fator de conversão nas determinações de cor em faixa de comprimento de onda de 445,0 a 455,0 nm, com incremento de 1,0 nm, isto é, valores acima e abaixo do comprimento de onda da determinação da Cor de águas definido em 450,0 nm ($\pm 5,0$). Neste procedimento foram utilizadas as mesmas soluções usadas do padrão de referência Pt/Co e do $K_2Cr_2O_7$ na

construção das curvas de calibração, conforme descrito no item 3.4.2 e 3.4.4, utilizando cubetas de 10, 20 e 50 mm de caminho óptico.

3.9 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

Os parâmetros escolhidos para validação feito no presente trabalho estão em concordância com o documento de caráter orientativo DOQ-CGCRE-008 – Revisão 04 – Jul/2011 do INMETRO, (BRASIL, 2011).

Os parâmetros avaliados foram: linearidade, faixa de trabalho, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), sensibilidade, precisão, exatidão e robustez.

3.9.1 Linearidade

A linearidade foi determinada a partir da média das repetições autênticas de três curvas de calibração na faixa de 1,0 – 10,0 mg L⁻¹. Para a construção de cada curva de calibração foram preparadas, a partir da solução estoque de K₂Cr₂O₇, cinco soluções de concentrações diferentes: 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 e 10,0 mg L⁻¹. As leituras foram feitas em triplicatas no comprimento de onda em 450,0 nm, e usando cubetas de 10, 20 e 50 mm e a linearidade foi estimada por regressão linear pelo método dos mínimos quadrados (INMETRO, 2011). O método padrão seguiu o mesmo procedimento fazendo as leituras das soluções de Pt/Co nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 40 e 50 mg L⁻¹.

Os dados das três curvas de calibração foram introduzidos numa planilha do programa estatístico ORIGIN 8.0, calculou-se a média das repetições e, posteriormente, com o auxílio do programa mencionado, foi plotada a curva de calibração observando se havia relação direta entre o sinal analítico e a concentração do analito dentro da região linear da curva de resposta, compreendida entre a menor e maior concentração. Esse procedimento foi realizado com os dados obtidos usando cubetas de 10, 20 e 50 mm.

3.9.2 Faixa de trabalho

Para qualquer método quantitativo, existe uma faixa de concentrações do analito ou valores da propriedade no qual o método pode ser aplicado, este critério denomina-se faixa de trabalho, que deve ser abrangente a toda faixa de aplicação conforme o método

que será usado, e a concentração mais importante da amostra deve sempre que possível, ficar no centro da faixa de trabalho (INMETRO, 2011, LEITE, 2008).

Dentro da faixa de trabalho pode existir uma faixa de resposta linear e dentro desta, a resposta do sinal terá uma relação linear com a concentração do analito. A determinação desses parâmetros foi estabelecido durante o estudo da linearidade (item 3.9.1) a partir da construção da curva de calibração do método, em espectrofotômetro na região do Visível (450,0 nm), com cubetas de 10, 20 e 50 mm, foram feitas as leituras das soluções do padrão primário $K_2Cr_2O_7$ num intervalo que compreende as concentrações entre 1,0 a 10,0 mg L⁻¹ (INMETRO, 2011).

3.9.3 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação foram determinados a partir da curva analítica considerando o desvio padrão em razão ao coeficiente angular (inclinação da reta) obtido pela linearidade (item 3.9.1), nos quais foram utilizadas as **Equações 8 e 9** para determinar o limite de detecção e quantificação, respectivamente (BRASIL, 2003; THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002).

$$LD = DP_a \times 3/IC \quad \text{Equação (8)}$$

$$LQ = DP_a \times 10/IC \quad \text{Equação (9)}$$

Definição:

LD = limite de detecção;

LQ = limite de quantificação;

DP_a = desvio-padrão do intercepto;

IC = inclinação da curva de calibração.

3.9.4 Sensibilidade

A sensibilidade é um parâmetro que mostra a variação da resposta analítica em função da concentração do analito e pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear da calibração, por esta razão, a mesma foi determinada a partir da média das repetições autênticas de 15 curvas de calibração, obtidas durante 5 dias alternados de análises, na faixa de concentração de 1,0 – 10,0 mg L⁻¹ de $K_2Cr_2O_7$, usando cubeta de 10 e 50 mm.

Neste trabalho a sensibilidade foi determinada simultaneamente com os testes de linearidade (item 3.9.1), conforme a **Equação 10** (INMETRO, 2011).

$$S = \frac{dx}{dc} \quad \text{Equação (10)}$$

Definição:

S = Sensibilidade;

dx = variação da resposta;

dc = variação da concentração;

3.9.5 Precisão

A precisão do método foi avaliada utilizando as três formas mais comum de expressá-la: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade, sendo esta, usualmente expressa pelo desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV), que pode ser expresso em porcentagem (%), também conhecido como desvio padrão relativo, calculado pela Equação 11:

$$CV = DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad \text{Equação (11)}$$

Definição:

CV = coeficiente de variância;

DPR = desvio padrão relativo;

DP = desvio padrão;

CMD = concentração média determinada.

3.9.5.1 Repetitividade ou precisão intracorrida

Para caracterização da precisão a partir da repetitividade foi necessário seguir o mesmo procedimento analítico, durante 5 dias de análises, utilizando um único instrumento de medição sob as mesmas condições, com cubetas de 10, 20 e 50 mm e as repetições foram realizadas no menor espaço de tempo possível (manhã, tarde e noite) por um único analista (BRASIL, 2003).

A repetitividade foi expressa quantitativamente em termos da dispersão dos resultados, usando o material de referência Pt/Co nas concentrações, de 5, 10, 20, 40 e 50 mg L⁻¹, que corresponde a faixa de trabalho do K₂Cr₂O₇ de 1, 2, 4, 8 e 10 mg L⁻¹ (INMETRO, 2011).

Com auxílio do software OriginLab foi utilizado o teste de Cochran, que verifica as variâncias, seguido do teste de Grubbs, que verifica a compatibilidade de médias. Com a decomposição das variâncias, os valores dos quadrados médios indicam os componentes de variância atribuíveis às diferentes fontes de variação dentro do laboratório.

A estimação dos componentes de variância, com base nos resultados da análise de variância, é obtida conforme a Equação 12:

$$s^2_{dentro} = QM_{dentro} \quad \text{Equação (12)}$$

Definição:

s^2 = variância da repetitividade ($s^2_{dentro} = s^2_r$)

QM_{dentro} : quadrados médios dentro de níveis ou grupos (variância residual)

O índice r, repetitividade, é obtido associando os coeficientes de variâncias que levam em consideração o grau de confiança desejado e a forma da distribuição, conforme Equação 13. Para uma distribuição normal no nível de 95% de confiança, a função do valor de (n) é igual a $f \cdot \sqrt{2} = 1,96\sqrt{2} = 2,77 \cong 2,8$ válido para a diferença máxima permitida entre dois resultados.

$$r \text{ (repê)} = f(n) s_r = 2,8 s_{dentro} \quad \text{Equação (13)}$$

3.9.5.2 Precisão intermediária ou intercorrida

A precisão intermediária foi obtida pela análise da amostra em dias alternados, por cinco analistas diferentes, seguindo o mesmo procedimento analítico e usando o mesmo equipamento. As medições foram realizadas em triplicata, na concentração de 1, 2, 4, 8 e 10 mg L⁻¹ de K₂Cr₂O₇. A partir dos resultados obtidos foram calculados o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV), conforme INMETRO (2011). Posteriormente, a precisão foi avaliada por análise de variância ANOVA (RUBIM; LAPORTA; BANDEIRA, 2012).

3.9.5.3 Reprodutibilidade

Embora a reprodutibilidade não seja um componente de validação do método executado por um único laboratório, é considerada importante quando um laboratório busca a verificação do desempenho dos seus métodos em relação aos dados de validação obtidos por meio de comparação interlaboratorial (INMETRO, 2011).

A reprodutibilidade foi avaliada em cinco laboratórios diferentes, sob as mesmas condições analíticas, usando cubetas de 10 mm e como material de referência foi usado o Pt/Co nas concentrações, de 5, 10, 20, 40 e 50 mg L⁻¹, que corresponde a faixa de trabalho do K₂Cr₂O₇ de 1, 2, 4, 8 e 10 mg L⁻¹ (INMETRO, 2011). Porém, dentre os cinco laboratórios, apenas três disponibilizaram medições usando cubetas de 20 e 50 mm.

A partir do desvio padrão obtido nos ensaios de reprodutibilidade foi possível calcular o limite de reprodutibilidade (*R*), realizado conforme descrito por Chui e colaboradores (2009), o qual permite expressar a diferença entre os valores da triplicata das amostras analisadas.

O índice *R* foi calculado seguindo o mesmo procedimento utilizado para o índice *r*, com auxílio do software OriginLab foi utilizado o teste de Cochran, que verifica as variâncias, seguido do teste de Grubbs, que verifica a compatibilidade de médias. Com a decomposição das variâncias, os valores dos quadrados médios indicam os componentes de variância atribuíveis às diferentes fontes de variação, interação amostra/laboratórios.

A estimação dos componentes de variância, com base nos resultados da análise de variância, é obtida conforme a Equação 14:

$$s^2_{\text{entre}} = \frac{QM_{\text{entre}} - QM_{\text{dentro}}}{n} \quad \text{Equação (14)}$$

Definição:

s^2_{entre} = variância da reprodutibilidade ($s^2_{\text{R}} = s^2_{\text{entre}} + s^2_{\text{dentro}}$)

QM_{entre} : quadrados médios dentro de níveis ou grupos (variância entre laboratórios)

n = número de replicatas

O índice *R*, reprodutibilidade, é obtido associando os coeficientes de variâncias que levam em consideração o grau de confiança desejado e a forma da distribuição, conforme Equação 15. Para uma distribuição normal no nível de 95% de confiança, a

função do valor de (n) é igual a $f \cdot \sqrt{2} = 1,96\sqrt{2} = 2,77 \cong 2,8$ válido para a diferença máxima permitida entre dois resultados.

$$\mathbf{R \text{ (repr\^o)}} = f(n) s_R = 2,8 (s_{\text{entre}}^2 + s_{\text{dentro}}^2)^{1/2} \quad \mathbf{Equa\c{c}\~ao \text{ (15)}}$$

3.9.6 Exatid\~ao

Para a avalia\c{c}\~ao da concord\~ancia dos valores experimentais com os valores do padr\~ao de refer\~encia foi calculado o erro relativo (ER) de acordo com a Equa\c{c}\~ao 16. O \~indice Z foi calculado segundo a Equa\c{c}\~ao 17 e a avalia\c{c}\~ao dos resultados do \~indice Z foi realizada de acordo com a seguinte escala de pontua\c{c}\~ao: $|Z| \leq 2$ = satisfat\~orio; $2 < |Z| \leq 3$ = question\~avel; $|Z| > 3$ = insatisfat\~orio (INMETRO, 2011):

Equa\c{c}\~ao (16)

$$ER = \frac{X_{lab} - X_v}{X_v} \times 100$$

Defini\c{c}\~ao:

X_{lab} = m\~edia dos valores obtidos na an\~alise da solu\c{c}\~ao de $K_2Cr_2O_7$;

X_v = valor te\~orico aceito como verdadeiro do Material de Refer\~encia Certificado (MRC) Pt/Co.

Equa\c{c}\~ao (17)

$$Z = \frac{X_{lab} - X_v}{DP}$$

Defini\c{c}\~ao:

X_{lab} = m\~edia dos valores obtidos experimentalmente;

X_v = valor te\~orico aceito como verdadeiro (MRC);

DP = desvio padr\~ao do ensaio.

3.9.7 Robustez

A robustez de um m\~etodo anal\~itico mede a suscetibilidade em rela\c{c}\~ao a pequenas varia\c{c}\~oes que podem ocorrer durante as an\~alises de rotina. Os testes de robustez s\~ao de fundamental import\~ancia para que se conhe\c{c}\~am quais fatores devem ser estritamente controlados durante a execu\c{c}\~ao de um m\~etodo. Para examinar poss\~iveis causas de variabilidade nos resultados foram avaliados fatores como pH, em virtude das solu\c{c}\~oes que cont\~em cromo apresentarem colora\c{c}\~ao diferentes em meio \~acido, neutro e alcalino. Com isso, preparou-se solu\c{c}\~oes de $K_2Cr_2O_7$, nas concentra\c{c}\~oes de 3, 10, 20, 30 e 50 mg

L⁻¹ em H₂SO₄ na faixa de pH de 2 a 5 e mensurou-se as mesmas em espectrofotômetro UV/VIS no comprimento de onda de 450 nm, usando cubeta de 50 mm. A estabilidade da solução em relação ao tempo de armazenamento foi avaliada mensurando a mesma solução durante 12 meses seguidos (INMETRO, 2011).

3.9.8 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através de análise de variância ANOVA unifatorial usando o software OriginLab[®] e planilhas Excel, no qual foi aplicado teste F e teste T, onde os resultados são considerados significativos quando a probabilidade é inferior a 5 % ($p \leq 0,05$ para o intervalo de confiança de 95 %) (GLANTZ, 2002).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CALIBRAÇÃO DE VIDRARIAS E MATERIAIS

Em razão de a calibração ser um procedimento primordial para garantir maior confiabilidade dos resultados e por tratar-se de um padrão de referência alternativo para quantificar a Cor da água, foi feito a calibração dos principais componentes utilizados no referido estudo para o preparo das soluções: balança analítica, pipetas e balões volumétricos.

4.1.1. Calibração da balança analítica

A calibração da balança analítica procedeu-se conforme descrito no item 3.3.1, com os pesos padrão fornecidos pelo OHAUS Corp. Florham Park, NJ, USA, cujos resultados estão expostos na **Tabela 2**.

Tabela 2: Dados da calibração da balança analítica com os pesos padrão fornecidos pelo OHAUS Corp. Florham Park, NJ, USA.

Calibração balança analítica SHIMADZU AY220				
Peso Padrão (g)	Média	DP	Var	CV(%)
0,0020	0,0022	0,0001	1,12E-08	4,8818
0,0050	0,0051	0,0001	2,01E-08	2,7644
0,0100	0,0102	0,0002	3,51E-08	1,8407
0,0200	0,0200	0,0001	9,33E-09	0,4821
0,0500	0,0498	0,0001	2,67E-09	0,1036
0,1000	0,0999	0,0001	2,67E-09	0,0517
0,2000	0,2000	0,0000	2,28E-10	0,0075
0,5000	0,4993	0,0001	9,44E-09	0,0195
1,0000	1,0024	0,0001	1,38E-08	0,0117
5,0000	5,0010	0,0002	4,1E-08	0,0040
10,0000	10,0125	0,0002	5,57E-08	0,0024
20,0000	20,0021	0,0002	4,49E-08	0,0011
50,0000	49,9956	0,0002	3,34E-08	0,0004
100,0000	99,9756	0,0002	3,43E-08	0,0002
200,0000	199,9115	0,0003	6,84E-08	0,0001
ANOVA				
Faixas de peso	F calculado		F tabelado	
0,0020 – 0,1000g	1,06		≤ 3,18	
0,1000 – 1,0000g	2,52		≤ 3,18	
1,0000 – 200,00g	1,24		≤ 3,18	
0,0020 – 200,00g	1,18		≤ 3,18	

Com os dados da Tabela 2 foram elaboradas as curvas de calibração correlacionando as medidas padronizadas com a média das dez repetições das leituras fornecidas pela balança, como mostrado na **Figura 5**.

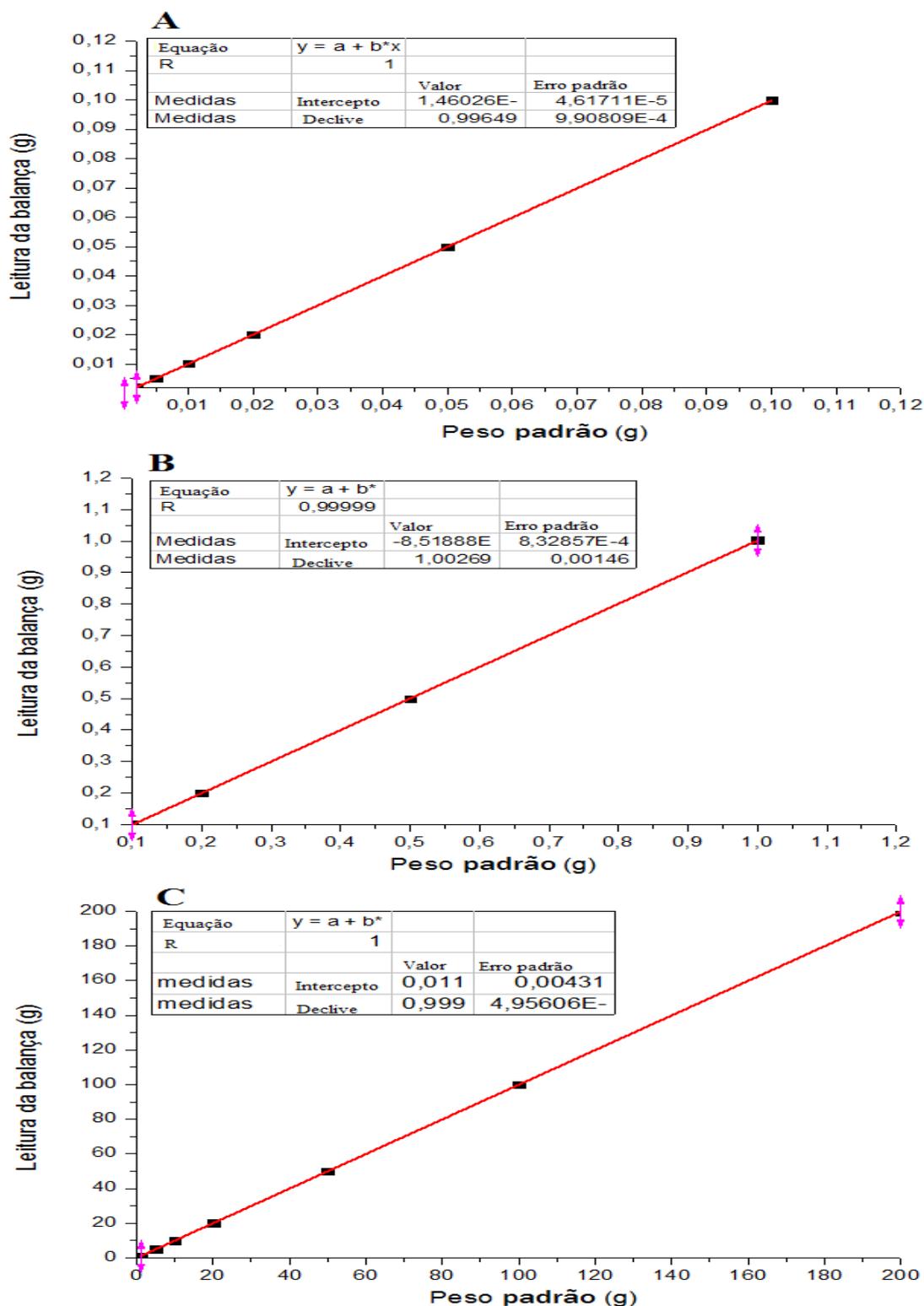


Figura 5: Correlação dos pesos de calibração com as leituras da balança, realizadas em três faixas intermediárias. A Figura 5A corresponde à faixa de 0,002 a 0,1g, a Figura 5B expõe os dados da faixa de 0,1 a 1,0g e a Figura 5C mostra os dados da faixa de 1,0 a 200,0g.

As curvas de calibração da balança foram elaboradas por faixas intermediárias, como indicado por Follador (2011), e exposto na Figura 5, que apresentaram coeficiente de correlação próximo de 1,0, entre os pesos padrão e a leitura da balança (ANVISA, 2003). A equação da reta foi obtida através de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados e avaliada por análise de variância (ANOVA). Conforme demonstrado na Tabela 5, o F calculado foi menor do que o F tabelado, indicando que não há diferença significativa entre os resultados encontrados para um limite de confiança de 95% ($p \leq 0,05$).

4.1.2 Calibração de pipetas

O resultado da calibração das pipetas mencionadas no item 3.3.2, mostraram que as mesmas estão em perfeitas condições de uso e que as suas medidas são confiáveis, pois os resultados obtidos com as sucessivas medições em cada volume mínimo, médio e máximo estão em concordância com os valores estipulados pelo próprio fabricante do material, como mostrado na **Tabela 3**, cujos erros relativos, obtido nos resultados, das medidas de calibração das pipetas de 100, 200 e 1000 μL , são comparados com os valores máximo permitido, informado pelo fabricante no manual do instrumento. Com isso, certificou-se que todas as pipetas utilizadas neste estudo apresentam veracidade quanto ao volume pipetado.

Tabela 3: Correlação dos erros relativos obtidos na calibração de pipetas com os erros máximo permitido, informado pelo fabricante no manual do instrumento.

PIPETAS CALIBRADAS				
Pipeta 1000	Média (mg)	DP	Medido Er	Fabricante Er
μL			(%)	(%)
1000	1,0012	0,0006	0,1	0,7
500	0,5010	0,0006	0,2	0,8
100	0,1010	0,0003	1,0	1,0
Pipeta 200 μL	Média (mg)	DP	Medido Er	Fabricante Er
			(%)	(%)
200	0,2006	0,0002	0,3	0,8
100	0,1006	0,0002	0,3	0,8
20	0,0208	0,0001	0,4	1,0

Pipeta 100 μL	Média (mg)	DP	Medido Er (%)	Fabricante Er (%)
100	0,1005	0,0002	0,5	0,8
50	0,0502	0,0003	0,2	1,0
10	0,0104	0,0002	0,4	2,0

4.1.3 Calibração de balão volumétrico

Este procedimento foi realizado conforme descrito no item 3.3.3, usando balão volumétrico de 25 mL classe A, com limite de erro para calibração de $\pm 0,03$, e os resultados das dez (10) repetições encontram-se na **Tabela 4**, na qual, está exposto o volume médio para expressar a capacidade do balão e o desvio padrão para mostrar a incerteza das medições, do erro tipo A, na medida de volume, conforme descrito pelo RELACRE (2012, p. 12).

Tabela 4: Resultado da calibração dos balões volumétricos de 25 mL.

Balão seco	Média	DP	CV (%)
1	20,8722	0,0001	0,0007
2	21,7762	0,0002	0,0007
3	21,8262	0,0001	0,0006
4	20,6913	0,0001	0,0003
5	19,1905	0,0002	0,0008
Balão cheio	Média	DP	CV (%)
1	45,7563	0,0060	0,0242
2	46,6538	0,0098	0,0393
3	46,7591	0,0100	0,0401
4	45,8553	0,0069	0,0275
5	44,1034	0,0045	0,0182
Massa da água	Média	DP	CV (%)
1	24,8842	0,0060	0,0002
2	24,8776	0,0097	0,0004
3	24,9329	0,0099	0,0004
4	25,1641	0,0069	0,0003
5	24,9129	0,0045	0,0002

Os resultados da calibração dos balões volumétricos de 25 mL, expostos na Tabela 4, mostram que os mesmos estão dentro do limite de erro de calibração indicado pelas normas internacionais $\pm 0,04$ (DIN EN ISO 1042 apud BRAND[®], 2014), para a

incerteza e erro tipo A, que está associado à evaporação da água, erro do menisco e instabilidade da balança analítica (RELACRE, 2012).

4.2 ESTUDO DE ÁCIDOS

Em razão de encontrar-se na literatura vários ácidos minerais como solvente para o sal de dicromato de potássio (BURKE and MANVRODINEANU, 1976; GILLESPIE and KAPOO, 1987; GOMES, *et al.* 2006; CONCEIÇÃO, 2006; SOUZA, *et al.* 2008), optou-se por fazer teste com os ácidos: nítrico (HNO_3) e sulfúrico (H_2SO_4), em três concentrações distintas 0,1; 0,01; 0,005 mol L^{-1} , e com HClO_4 a 0,001 mol L^{-1} , usando cubeta de 50 mm.

Com os espectros obtidos neste estudo foi observada a diferença e uma eventual influência entre as diferentes concentrações de cada ácido, como mostrado na **Figura 6**.

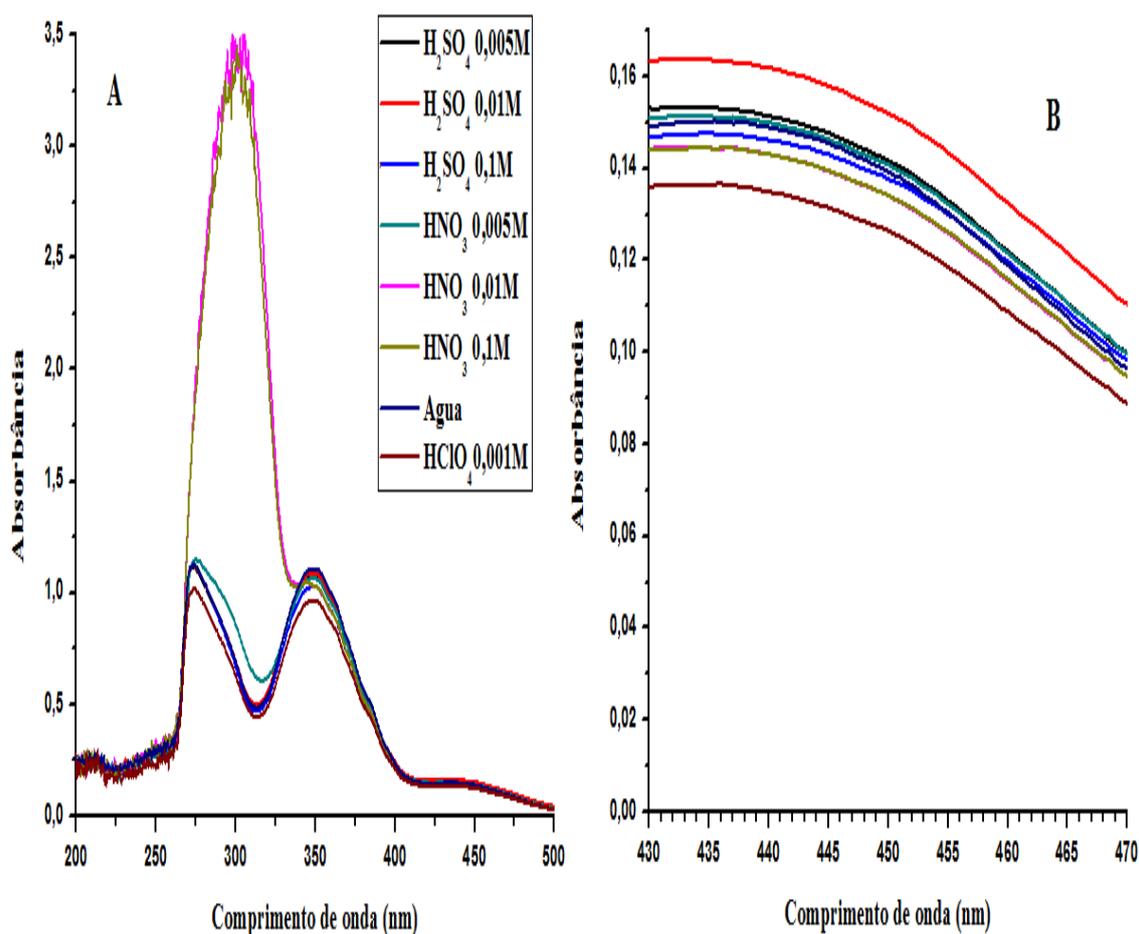


Figura 6: Espectros das soluções de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a $20,0 \text{ mg L}^{-1}$ usando água desionizada como solvente e os ácidos H_2SO_4 , HNO_3 e HClO_4 . (A) Varredura de 200 a 500 nm; (B) Observação amplificada dos espectros próximos de 450 nm em cubetas de 50 mm.

A Figura 6A é correspondente à varredura completa que foi feito nos comprimentos de onda de 200,0 a 500,0 nm, onde, é possível observar a influência do ácido HNO_3 (0,01 e 0,1 M) na região espectral de 270,0 a 320,0 nm, porém, na faixa escolhida, em 450,0 nm, neste estudo para a quantificação de Cor da água, apresenta um espectro semelhante aos das soluções de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ preparadas com H_2SO_4 e HClO_4 . A Figura 6B evidencia que as soluções ácidas de dicromato de potássio não apresentam grandes diferenças, destacando apenas a solução de H_2SO_4 a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ que tem um pequeno aumento de absorção no comprimento de onda 450,0 nm e para o HClO_4 a $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ uma pequena queda na absorção em comparação com as outras soluções analisadas.

A comparação entre os espectros das soluções de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ com os ácidos perclórico e sulfúrico foi necessário devido o ácido perclórico ser indicado pelas normas internacionais (NIST, 2000; ASTM, 2014) como sendo o solvente ideal para o sal de dicromato de potássio, em virtude deste ácido não formar complexos mistos após a diluição do sal, sendo que, com o ácido sulfúrico ocorre formação de complexos sulfurosos (BURKE, 1972).

Os espectros das soluções de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em água desionizada apresentaram espectros semelhantes aos das soluções ácidas de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Contudo, optou-se por trabalhar com as soluções de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em meio ácido, por serem estável em longo prazo (SKOOG, 2007). Entre os ácidos mencionados neste estudo, foi escolhido o H_2SO_4 por ser de baixo custo e fácil acessibilidade, e todas as concentrações usando ácido sulfúrico apresentaram absorvâncias satisfatórias em 450,0 nm, sendo que, não apresentaram diferença com as demais. Com isso, foram observadas a estabilidade das soluções de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ com H_2SO_4 durante o período de 12 meses (resultados apresentados no anexo D) e não houve diferença nos dados obtidos. Este procedimento corrobora com o documento E925 da NIST, U.S.A (2014), que afirma a estabilidade da solução por um período de 24 meses.

4.3 CALIBRAÇÃO DO ESPECTROFOTÔMETRO UV/VIS

A calibração do espectrofotômetro foi realizada para averiguar possíveis fatores que pudessem influenciar nas medições e que estão diretamente relacionadas com a resposta analítica, isto é, a escala fotométrica e a escala de comprimento de onda.

4.3.1 Calibração do comprimento de onda

A calibração da escala do comprimento de onda procedeu-se a partir da varredura espectral com solução padrão, de dicromato de potássio com H_2SO_4 e HClO_4 para obtenção do pico máximo de absorção no comprimento de onda de 350,0 nm, como mostrado na **Figura 7**.

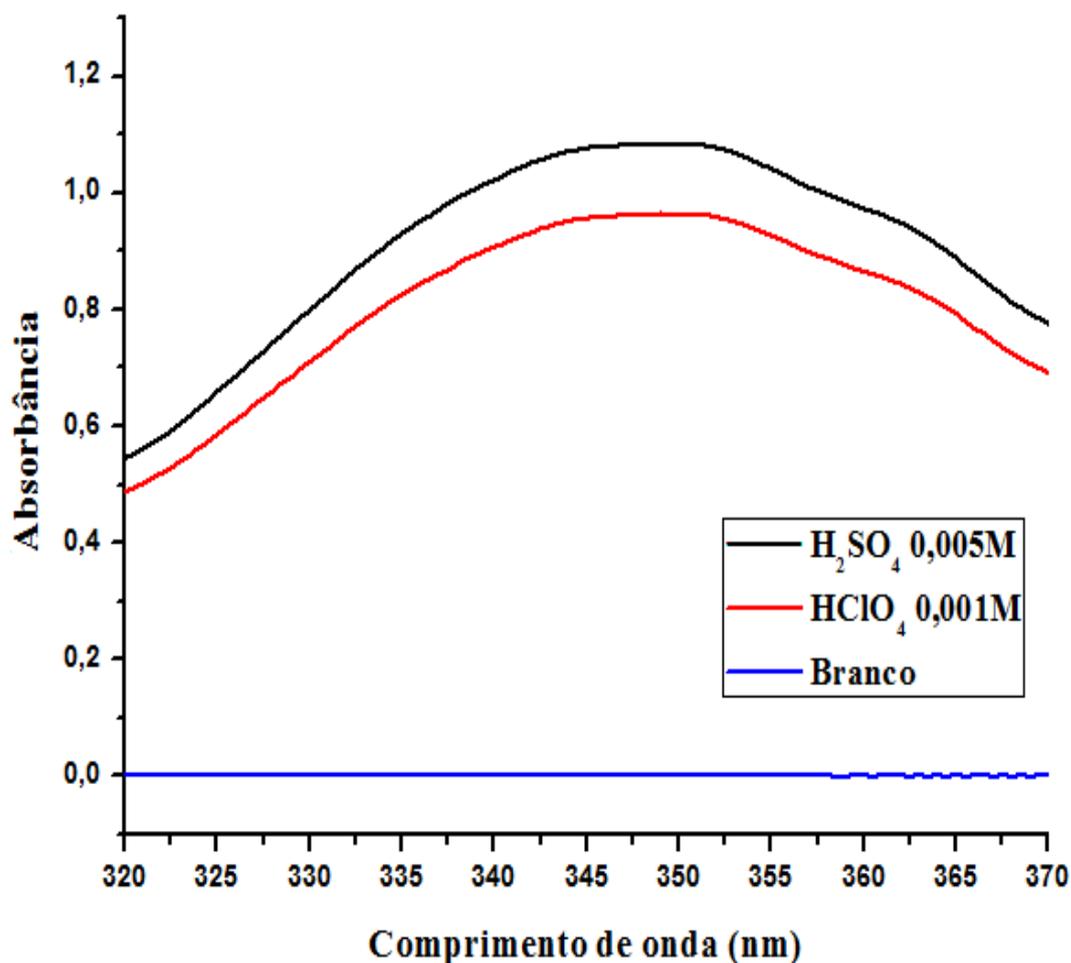


Figura 7: Varredura espectral das soluções de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 60 mg L^{-1} , com H_2SO_4 a 0,005M e HClO_4 a 0,001M, para análise do ponto máximo de absorção em 350,0 nm.

Com os dados de absorção por comprimento de onda foi observado que para o H_2SO_4 e HClO_4 os maiores valores de absorbância foram em 350,0 nm, confirmando a calibração do equipamento, com isso, optou-se por trabalhar com ácido sulfúrico por ser de baixo custo e fácil acessibilidade aliado a estabilidade conforme descrito no item 4.2.

Este procedimento é necessário para certificar-se quanto à exatidão do comprimento de onda selecionado, tornando-se indispensável sua realização.

A calibração da escala do comprimento de onda também foi realizada nos espectrofotômetros dos laboratórios em que foram realizados os testes de reprodutibilidade do método em estudo, como mostrado na **Figura 8**.

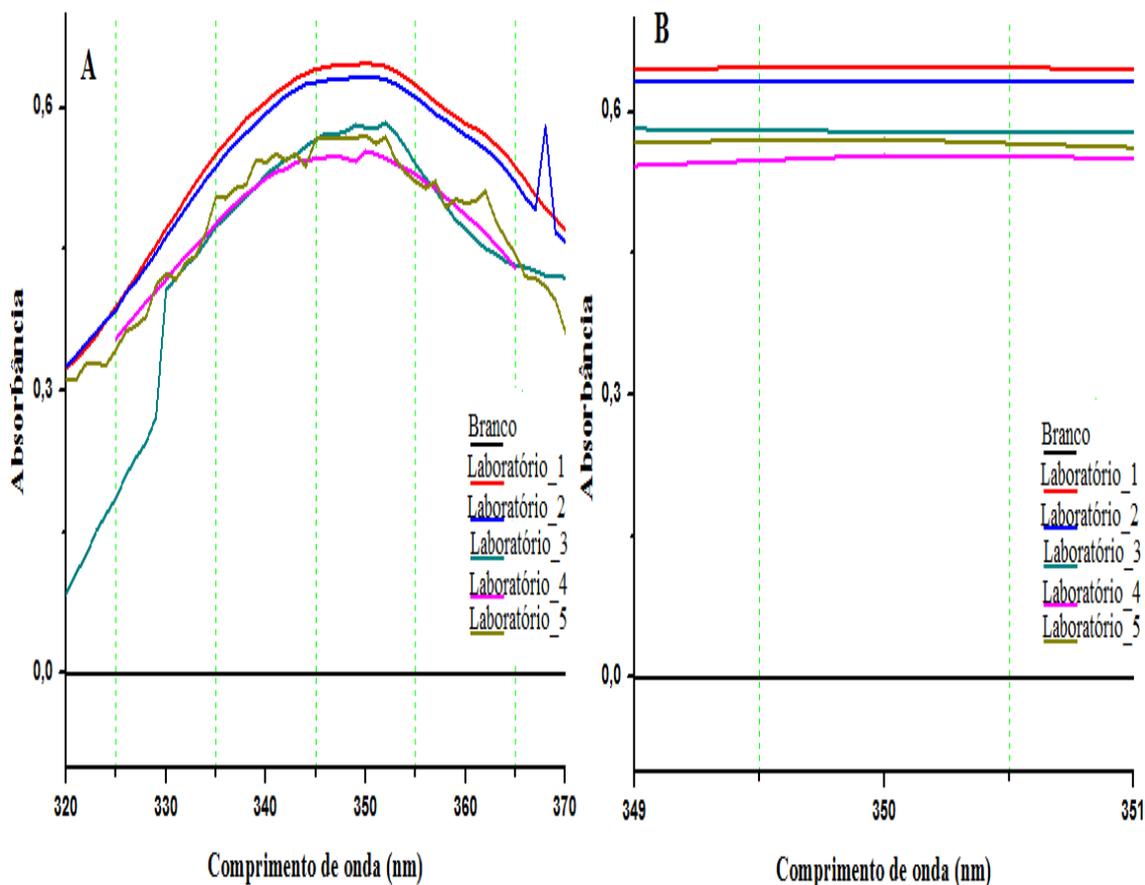


Figura 8: Calibração da escala de comprimento de onda de todos os espectrofotômetros utilizados com solução de 60 mg L^{-1} de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em H_2SO_4 $0,005 \text{ M}$. Na **Figura 8A** mostra a banda espectral de $320,0 \text{ nm}$ a $370,0 \text{ nm}$.

A **Figura 8** mostra que todos os espectrofotômetros utilizados apresentaram, pico máximo de absorção no comprimento de onda de $350,0 \text{ nm}$, exceto o equipamento do Laboratório 3 que exibiu desvio de $+ 2,0 \text{ nm}$, ou seja, apresentou pico máximo de absorção em $352,0 \text{ nm}$, com isso foi necessário ajustar o equipamento para realizar as medições em $348,0 \text{ nm}$ fazendo um desconto de $-2,0 \text{ nm}$.

4.3.2 Calibração da escala fotométrica

A linearidade fotométrica corresponde à gama de concentrações para a qual a resposta do espectrofotômetro é linear, ou seja, quando a relação entre a concentração e

o sinal analítico pode ser descrita por uma reta. Com isso, foi construída uma curva de calibração com as soluções de $K_2Cr_2O_7$ usando cubetas de 10 mm, como descrito no item 3.6.2, e foi observado que as absorvâncias aparentes da série de soluções do dicromato de potássio com os diferentes ácidos possuem uma Correlação linear, o que ficou comprovado com a exposição dos dados na **Figura 9**.

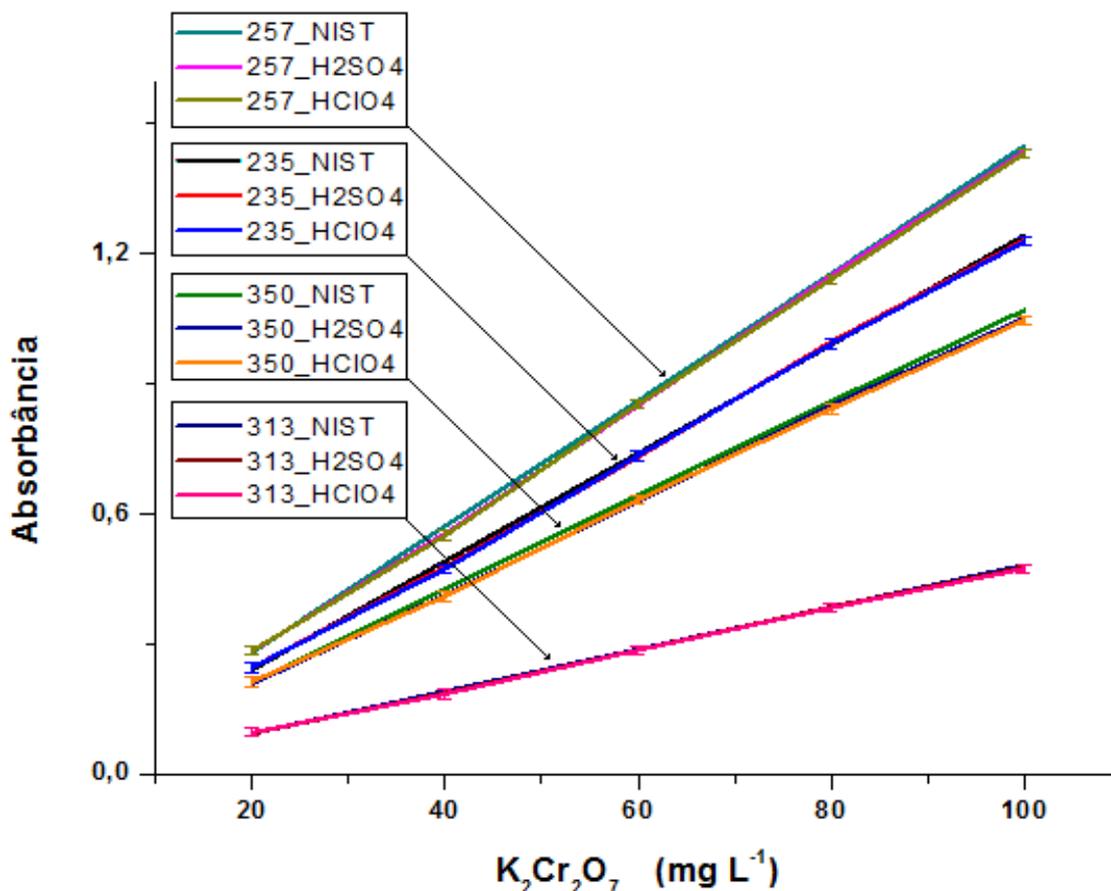


Figura 9: Calibração da escala fotométrica com solução padrão de $K_2Cr_2O_7$ usando H_2SO_4 a 0,005M e $HClO_4$ a 0,001M, utilizando cubetas de 10 mm. A absorbância obtida a partir das soluções preparadas com cada ácido foi comparada com as absorbâncias aparentes informadas pela NIST, USA (2000).

As absorbâncias obtidas na calibração da escala fotométrica a partir das soluções de $K_2Cr_2O_7$ em $HClO_4$ a 0,001M foram comparadas com as absorbâncias apresentadas pelas soluções de $K_2Cr_2O_7$ em H_2SO_4 a 0,005M para verificar se havia alguma diferença de absorção entre os padrões por influência do solvente utilizado. Contudo, como exposto na **Figura 9**, não há diferença significativa entre as absorbâncias e ambas as soluções de $K_2Cr_2O_7$ apresentaram valores próximo ao informado pela NIST, U.S.A. (2000), com uma tolerância dentro do valor estipulado pelo INMETRO (2012), como exposto no ANEXO A.

A calibração da escala fotométrica foi necessária para calcular o fator de conversão, dispensando o uso na aplicação do método, pois pela curva de calibração gerada nas análises será possível constatar a linearidade.

4.4 FATOR DE CONVERSÃO

A obtenção do fator de conversão dos valores de Cor das soluções de $K_2Cr_2O_7$ para Pt/Co, que é o reagente utilizado como padrão para determinação da Cor de água, foi definido a partir de sucessivas repetições das análises das soluções de $K_2Cr_2O_7$, como mencionadas no item 3.8.

Com os dados das absorvâncias, obtidos nas análises utilizando as cubetas 10, 20 e 50 mm, foram construídas as curvas de calibração a 450 nm, levando-se em consideração o caminho óptico de cada cubeta utilizada, ou seja, foram construídas três curvas de calibração, como mostrado na **Figura 10**.

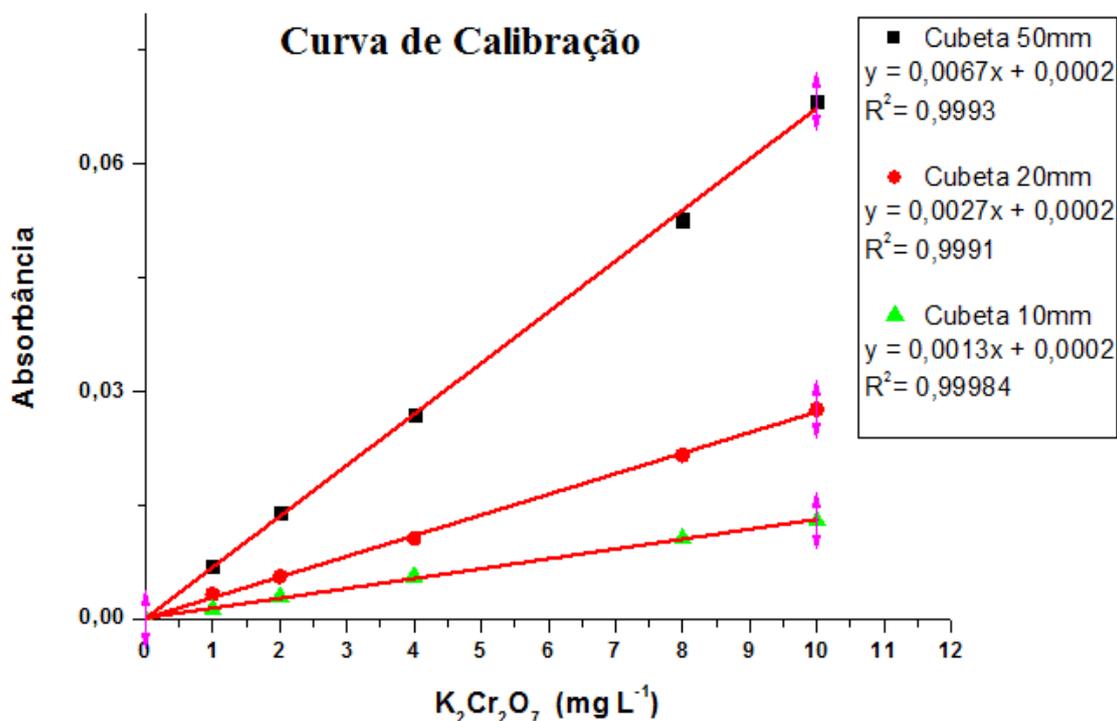


Figura 10: Curva de calibração realizada com as soluções de $K_2Cr_2O_7$ nas concentrações de 1, 2, 4, 6, 8 e 10,0 $mg L^{-1}$ usando as cubetas de 10, 20 e 50 mm de caminho óptico.

A partir da equação linear gerada pela curva de calibração, usou-se a inversa da função para determinar a concentração em $K_2Cr_2O_7$ da amostra analisada, como exposto na **Equação 1**. Esse cálculo da concentração em $K_2Cr_2O_7$ procedeu-se com as três

equações lineares mostradas na **Figura 10**, respeitando as medidas de absorvância em cada caminho óptico, isto é, as medidas de absorvância obtidas com a cubeta de 10 mm foram usadas para calcular as concentrações de $K_2Cr_2O_7$ e foi utilizada a equação linear da reta gerada na curva de calibração, em que as medidas de absorvância foram feitas usando cubetas com 10 mm de caminho óptico.

$$Y = \frac{x+b}{a} \quad \Rightarrow \quad Y = 0,0067x + 0,0002 \quad \Rightarrow \quad Y = \frac{0,0002+x}{0,0067} \quad \text{Equação (1)}$$

Definição:

Y = concentração em $K_2Cr_2O_7$;

a = coeficiente angular da curva de calibração;

x = Absorvância das amostras

b = coeficiente linear da curva de calibração.

Os dados usados como exemplo na equação ($Y = 0,0067x + 0,0002$) foram obtidos com a curva de calibração, cubeta de 50 mm, da figura 10.

A curva de calibração do método de determinação da Cor utilizando o padrão de Pt/Co em 450,0 nm, utilizando cubetas de 10, 20 e 50 mm, estão expostas na **Figura 11**.

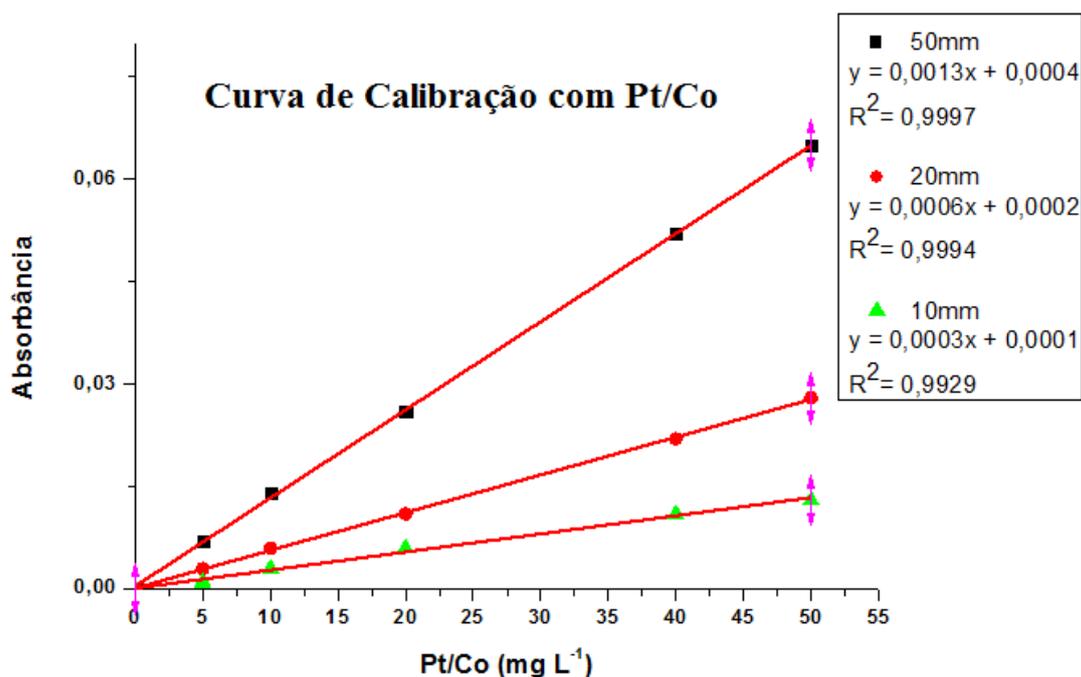


Figura 11: Curva de calibração realizada com as soluções de Pt/Co nas concentrações de 5,0, 10,0, 20,0, 40,0, e 50,0 $mg L^{-1}$ usando as cubetas de 10, 20 e 50 mm de caminho óptico.

O resultado da **Equação 1** aplicou-se na **Equação 2** que é o fator de conversão para Pt/Co:

$$X = 5,2Y \quad \text{Equação (2)}$$

Definição:

X = conversão obtida em Pt/Co

Y = concentração em $K_2Cr_2O_7$

Com as sucessivas repetições das medidas de absorbância das soluções de $K_2Cr_2O_7$, usando as três cubetas de caminho óptico diferente, observou-se a semelhança do fator de correção entre as cubetas utilizadas, apresentando uma variação de $\pm 0,2$, isto é, o fator de correção encontrado para converter os valores de Cor de $K_2Cr_2O_7$ para Pt/Co pode ser aplicado para os dados obtidos usando as três cubetas: 10, 20 e 50 mm.

A partir dos dados das duas curvas de calibração foi construída uma outra curva correlacionando as concentrações de Pt/Co com $K_2Cr_2O_7$ para averiguar se os métodos possuem uma correlação linear, como mostrado na **Figura 12**.

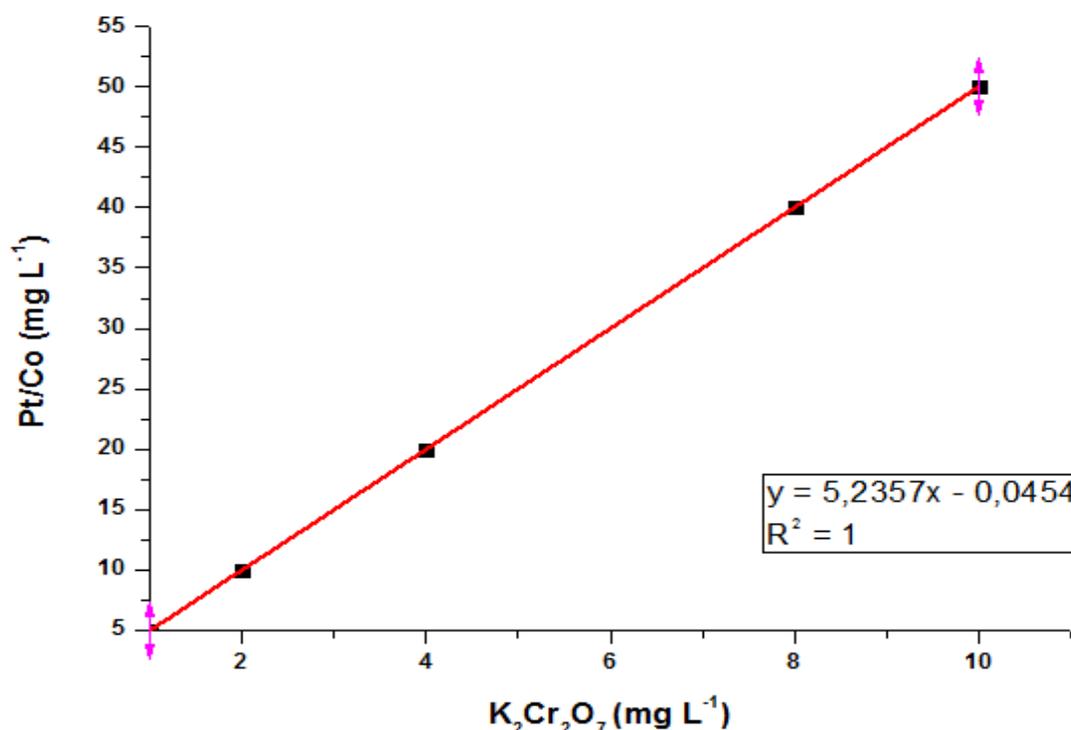


Figura 12: Correlação linear das concentrações de Pt/Co com $K_2Cr_2O_7$.

A correlação linear apresentada entre as concentrações de Pt/Co e $K_2Cr_2O_7$ mostrou um forte indício de que os métodos são compatíveis e que é viável usar o $K_2Cr_2O_7$ como padrão alternativo para quantificação de Cor da água. Em conspecto da diferença entre os padrões ser de aproximadamente 5,2 numa razão matemática, que é a forma mais comum e prática de fazer a comparação relativa entre duas grandezas, visto que esse valor foi obtido pela equação linear da reta, como apresentado na **Figura 12**, dispõe-se da

necessidade de ter um fator de conversão, embora, as soluções tenham exibido valores de absorbâncias muito próximos, como mostrado no ANEXO B.

Após a determinação do fator de conversão da Cor, em $K_2Cr_2O_7$ para Pt/Co, o método foi aplicado usando águas dos igarapés da Reserva Florestal Adolpho Ducke, como exposto na **Tabela 5**.

Tabela 5: Determinação de Cor das águas de igarapés aplicando o método $K_2Cr_2O_7$, usando cubeta de 50,0 mm em 450,0 nm (n=3).

Amostras de água	Método Cor Pt/Co	Desvio Padrão	CV (%)	Método Cor $K_2Cr_2O_7$	Desvio Padrão	CV (%)
1	35	1,218	3,484	34	1,489	4,347
2	48	0,628	1,308	47	0,435	0,920
3	40	0,862	2,183	39	0,782	2,012
4	32	0,264	0,819	32	0,666	2,085
5	24	0,677	2,834	24	0,377	1,597
6	18	1,244	6,764	18	1,586	8,683
7	45	0,773	1,707	44	0,864	1,964

A determinação da Cor de água dos igarapés usando o método $K_2Cr_2O_7$ mostrou-se eficiente, apresentando desvio padrão e coeficiente de variância semelhantes aos do Pt/Co e ambos apresentaram CV inferior ao valor máximo permitido pela IUPAC que é de 10% como indicativo de precisão do método. O teste também foi aplicado usando cubetas de 10 e 20 mm, exibindo desempenho semelhante ao apresentado com a cubeta de 50 mm, como mostrado no ANEXO C.

A comparação de métodos por Regressão Linear está em concordância com o documento do INMETRO de caráter orientativo DOQ-CGCRE-008/Revisão 02 de junho/2007.

4.5 CALIBRAÇÃO DO MÉTODO

Antes de montar a curva de calibração do método, foi elaborado um estudo comparativo dos métodos de quantificação de Cor da água, Pt/Co e $K_2Cr_2O_7$, em torno do comprimento de onda de $450,0 \text{ nm} \pm 5,0$, com isso, pode-se observar o comportamento de ambos os padrões na faixa espectral de absorção de 445,0 a 455,0 nm, conforme citado em 3.6 e demonstrado na **Figura 13**.

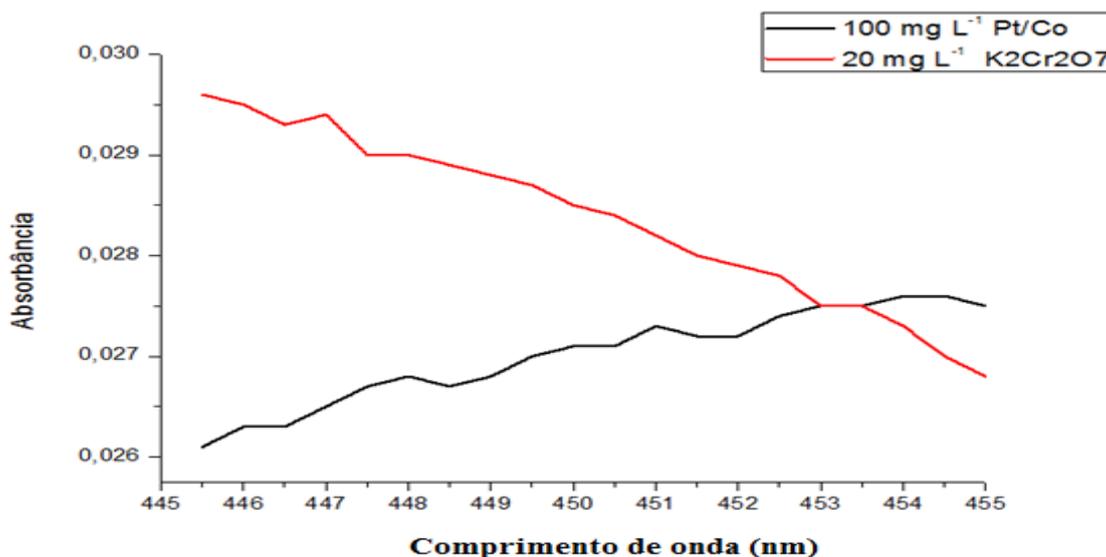


Figura 13: Espectros das soluções de Pt/Co a 100 mg L^{-1} e $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 20 mg L^{-1} na faixa espectral de 445,0 a 455,0 nm, usando cubeta de 10,0 mm.

A varredura espectral das soluções padrão de Pt/Co e $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ apresentaram um comportamento inverso entre as absorvâncias obtidas nos comprimentos de onda 445,0 a 455,0 nm, apresentando valores crescente para o $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e decrescente para os valores de Pt/Co. Como o comprimento de onda da determinação de cor é em 450,0 nm, os valores de absorvância abaixo deste comprimento de onda favorecem os valores de Pt/Co e diminuem para os valores de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Porém, quando o comprimento de onda é deslocado para a direita até 452,5 nm, observa-se o comportamento contrário ao mencionado anteriormente. Essa diferença de absorvância influencia diretamente no valor final da Cor após a aplicação do fator de conversão, como pode ser observado na **Tabela 6**.

Tabela 6: Cores convertidas de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ para Pt/Co na faixa de 445,0 a 455,0 nm usando cubetas de 10 e 50 mm.

445 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L^{-1}	445 nm_cubeta 50 mm			445 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 / \text{Pt-Co}$	Er (%)	DP	Cor Convertida $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 / \text{Pt-Co}$	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0000	16	6,67	5,31E-19
50	53	6,00	0,0006	53	6,00	0,00E+00
100	103	2,89	0,0000	105	4,98	0,00E+00
150	156	3,90	0,0006	161	7,33	0,00E+00

200	207	3,68	0,0006	213	3,50	0,00E+00
250	260	4,13	0,0000	267	6,80	5,77E-04
446 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	446 nm_cubeta 50 mm			446 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0000	16	6,67	5,31E-19
50	53	6,00	0,0006	53	6,00	0,00E+00
100	104	4,00	0,0000	105	5,00	0,00E+00
150	157	4,67	0,0006	161	7,33	0,00E+00
200	209	4,50	0,0000	213	6,50	0,00E+00
250	262	4,80	0,0000	265	6,00	0,00E+00
447 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	447 nm_cubeta 50 mm			447 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0006	16	6,67	5,31E-19
50	53	6,00	0,0000	53	6,00	0,00E+00
100	103	4,00	0,0000	105	5,00	0,00E+00
150	156	4,67	0,0000	157	4,67	0,00E+00
200	207	3,50	0,0000	213	6,50	0,00E+00
250	260	4,00	0,0006	265	6,00	0,00E+00
448 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	448 nm_cubeta 50 mm			448 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0006	15	0,24	5,31E-19
50	53	6,00	0,0000	52	4,00	0,00E+00
100	103	3,00	0,0000	104	4,00	0,00E+00

150	157	4,67	0,0000	156	4,00	0,00E+00
200	208	4,00	0,0000	208	4,00	0,00E+00
250	262	4,80	0,0001	260	4,00	0,00E+00
449 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	449 nm_cubeta 50 mm			449 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0000	14	6,67	5,31E-19
50	53	6,00	0,0006	51	2,00	0,00E+00
100	102	2,00	0,0000	103	2,88	0,00E+00
150	155	3,33	0,0000	155	3,33	0,00E+00
200	206	3,00	0,0000	203	1,50	0,00E+00
250	259	3,60	0,0000	254	1,57	5,77E-04
450 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	450 nm_cubeta 50 mm			450 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0000	14	6,67	5,3E-19
50	53	6,00	0,0006	51	2,00	0,0E+00
100	103	3,00	0,0000	100	0,13	5,8E-04
150	156	4,00	0,0000	151	0,67	0,0E+00
200	207	3,50	0,0000	203	1,50	0,0E+00
250	261	4,40	0,0000	251	0,40	0,0E+00
451 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	451 nm_cubeta 50 mm			451 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0000	14	6,67	4,34E-19

50	53	6,00	0,0000	51	2,00	0,00E+00
100	103	3,00	0,0000	100	0,13	1,92E-04
150	157	4,67	0,0000	151	0,67	0,00E+00
200	209	4,50	0,0000	203	1,50	0,00E+00
250	262	4,80	0,0000	251	0,40	4,34E-19
452 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	452 nm_cubeta 50 mm			452 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K ₂ Cr ₂ O ₇ / Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K ₂ Cr ₂ O ₇ / Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0000	16	6,67	5,31E-19
50	52	4,00	0,0000	54	8,03	5,77E-04
100	102	2,00	0,0000	108	7,89	0,00E+00
150	155	3,33	0,0000	161	7,33	5,77E-04
200	207	3,50	0,0000	216	7,98	0,00E+00
250	259	3,60	0,0000	268	7,24	0,00E+00
453 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	453 nm_cubeta 50 mm			453 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K ₂ Cr ₂ O ₇ / Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K ₂ Cr ₂ O ₇ / Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0000	16	6,67	5,31E-19
50	52	4,00	0,0006	52	4,00	2,12E-18
100	102	2,00	0,0000	104	4,00	4,25E-18
150	154	2,67	0,0000	160	6,67	0,00E+00
200	206	3,00	0,0000	212	6,20	0,00E+00
250	259	3,60	0,0000	264	5,60	0,00E+00
454 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	454 nm_cubeta 50 mm			454 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K ₂ Cr ₂ O ₇ / Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K ₂ Cr ₂ O ₇ / Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0000	16	6,67	5,3E-19

50	52	4,00	0,0000	52	4,00	2,1E-18
100	103	3,00	0,0000	104	4,00	4,2E-18
150	155	3,33	0,0006	158	5,33	5,8E-04
200	207	3,50	0,0006	208	4,20	0,0E+00
250	260	4,00	0,0000	264	5,60	0,0E+00
455 nm						
Padrão de Cor Pt/Co mg L⁻¹	455 nm_cubeta 50 mm			455 nm_cubeta 10 mm		
	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP	Cor Convertida K₂Cr₂O₇/ Pt-Co	Er (%)	DP
15	16	6,67	0,0000	16	6,67	5,31E-19
50	52	4,00	0,0000	52	4,00	2,12E-18
100	102	2,00	0,0000	104	4,00	4,25E-18
150	155	3,33	0,0006	156	3,97	0,00E+00
200	207	3,50	0,0000	206	3,13	5,77E-04
250	259	3,60	0,0000	260	3,870	0,00E+00

Os dados da Tabela 5 mostram uma pequena diferença no valor da Cor em função do desvio do comprimento de onda de 450,0 nm de $\pm 5,0$ nm, contudo, essa variação não é superior a 10 % no valor final da Cor obtida com as cubetas de 50 e 10 mm.

Nota-se que no comprimento de onda de leitura em 450 nm, do método de determinação da Cor, utilizando cubeta de 50 e 10 mm, os erros observados pelo método proposto com Dicromato de Potássio não ultrapassaram a 6,67%. Observa-se que mesmo o equipamento possuindo um desvio de $\pm 5,0$ nm o maior erro observado foi de 8,03%, o que mostra que mesmo com este percentual de erro em um equipamento que não esteja alinhado é possível fazer a determinação de cor utilizando o fator de conversão de K₂Cr₂O₇ para a Unidade Hazen do método padrão de Pt/Co.

4.6 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

Os parâmetros avaliados foram: linearidade e faixa de trabalho, limites de quantificação (LQ) e detecção (LD), sensibilidade, precisão, exatidão e robustez.

4.6.1 Linearidade e faixa de trabalho

O método $K_2Cr_2O_7$ apresentou-se linear dentro da faixa de trabalho, que compreende as concentrações entre $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ a $10,0 \text{ mg L}^{-1}$, para determinação de Cor, conforme demonstrado na Figura 10, expondo um coeficiente de correlação de 0,999, que é a relação dos eixos x e y na curva de calibração, pois quanto mais próximo da unidade (1) maior é a relação linear (LEITE, 2008), com isso, utilizou-se como critério de aceitação um coeficiente de correlação maior ou igual a 0,99.

4.6.2 Limites de quantificação (LQ) e detecção (LD)

O limite de detecção apresentado pelo método foi de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ e o limite de quantificação é de $0,18 \text{ mg L}^{-1}$, e ambos os valores foram determinados a partir da curva analítica do $K_2Cr_2O_7$, como exposto na Figura 10, considerando o desvio padrão em razão ao coeficiente angular (inclinação da reta) obtido pela linearidade (item 4.6.1), nos quais foram utilizadas as **Equações 3 e 4**, respectivamente (BRASIL, 2003, 2011). Contudo, optou-se por trabalhar com um limite de quantificação de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, por se tratar da concentração mínima da faixa de trabalho.

4.6.3 Sensibilidade

A sensibilidade do método foi estabelecida, conforme o item 3.9.4, pelo coeficiente angular da curva de calibração correspondente aos 5 dias de análises, conforme exposto na **Tabela 7**.

Tabela 7: Dados da análise de sensibilidade do método usando cubetas de 10, 20 e 50 mm.

Cubetas (mm)	Sensibilidade	
	$K_2Cr_2O_7$	Pt/Co
10,0	0,0013	0,0003
20,0	0,0028	0,0006
50,0	0,0067	0,0013

A sensibilidade exposta na Tabela 7 mostra uma diferença de sensibilidade entre os dois métodos, porém, este não é um fator determinante para afirmar a compatibilidade

na medição de cor da água usando $K_2Cr_2O_7$ e Pt/Co, pois, ambos os métodos mostraram ser precisos e exatos, conforme as normas em vigor.

4.6.4 Precisão

4.6.4.1 Repetitividade ou precisão intracorrida

A precisão intracorrida é a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação. Por esta razão, a mesma foi expressa pelo desvio padrão (DP) e coeficiente de variância (CV), conforme proposto pelo INMETRO (2011), e estes cálculos foram realizados para averiguar a precisão dos dados obtidos com as cubetas de 50, 20 e 10 mm, como mostrado nas **Tabelas 8, 9 e 10**.

Tabela 8: Resultado da repetibilidade (precisão intracorrida) durante 5 dias de análises em um mesmo Espectrofotômetro utilizando padrões de Pt/Co e usando o fator de conversão de 5,2 para o K_2CrO_7 para determinação de cor utilizando cubeta de 50 mm.

Dias	Padrão $K_2Cr_2O_7$ (mg L ⁻¹)	Cor $K_2Cr_2O_7$ convertida em Pt/Co(Média)	Cor Pt/Co Referência	Erro Relativo (Er %)	Repetitividade DP	CV (%)
1° Dia	1	5	5	0,0	0,264	5,184
	2	11	10	10,0	0,421	3,880
	4	21	20	5,0	0,530	2,513
	8	42	40	5,0	0,584	1,384
	10	53	50	6,0	0,498	0,934
2° Dia	1	5	5	0,0	0,343	6,375
	2	11	10	10,0	0,262	2,491
	4	20	20	0,0	0,367	1,790
	8	41	40	2,5	0,408	0,998
	10	52	50	4,0	0,513	0,980
3° Dia	1	5	5	0,0	0,339	6,350
	2	10	10	0,0	0,482	4,633
	4	20	20	0,0	0,462	2,274
	8	41	40	2,5	0,693	1,705
	10	52	50	4,0	0,549	1,058
	1	5	5	0,0	0,331	6,093

	2	11	10	10,0	0,329	3,058
4°	4	20	20	0,0	0,373	1,807
Dia	8	41	40	2,5	0,577	1,411
	10	52	50	4,0	0,528	0,999
	1	5	5	0,0	0,379	7,567
	2	11	10	10,0	0,367	3,349
5°	4	20	20	0,0	0,000	0,000
Dia	8	41	40	2,5	0,000	0,000
	10	52	50	4,0	0,000	0,000

Pode-se observar na **Tabela 8**, que a precisão do método, obtida durante cinco (5) dias de análises, com o uso da cubeta de 50 mm. Os dados mostraram-se precisos, apresentando CV dentro do valor permitido pela IUPAC que é de 10% (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; 2006), e pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1999) que é de 20%.

Tabela 9: Resultado da repetibilidade durante 5 dias de análises em um mesmo Espectrofotômetro utilizando padrões de Pt/Co e usando o fator de conversão de 5,2 para o K_2CrO_7 para determinação de cor utilizando cubeta de 20 mm.

Dias	Padrão $K_2Cr_2O_7$ (mg L⁻¹)	Cor $K_2Cr_2O_7$ convertida em Pt/Co(Média)	Cor Pt/Co Referência	Erro Relativo (Er %)	Repetitividade DP	CV (%)
	1	5	5	0,0	0,581	12,065
	2	10	10	0,0	0,581	5,660
1°	4	21	20	5,0	0,554	2,634
Dia	8	41	40	2,5	0,739	1,809
	10	50	50	0,0	0,847	1,702
	1	5	5	0,0	0,453	9,485
	2	10	10	0,0	0,000	0,000
2°	4	20	20	0,0	0,831	4,074
Dia	8	40	40	0,0	0,874	2,191
	10	50	50	0,0	0,676	1,358
	1	5	5	0,0	0,000	0,000
	2	10	10	0,0	7,766	7,716
	4	21	20	5,0	0,699	3,376

3°	8	40	40	0,0	0,881	2,209
Dia	10	50	50	0,0	0,881	1,756
	1	5	5	0,0	0,399	8,179
	2	10	10	0,0	0,597	5,879
4°	4	21	20	5,0	0,707	3,410
Dia	8	40	40	0,0	0,840	2,090
	10	50	50	0,0	0,949	1,902
	1	5	5	0,0	0,000	0,000
	2	10	10	0,0	0,691	6,887
5°	4	20	20	0,0	0,824	4,020
Dia	8	40	40	0,0	0,899	2,263
	10	50	50	0,0	0,881	1,754

Os dados da **Tabela 9** mostram a precisão obtida usando a cubeta de 20 mm, na qual, observa-se que as duas soluções de concentrações menores apresentaram um CV maior que as demais soluções. Porém, essas mesmas soluções apresentam o valor da Cor convertida de $K_2Cr_2O_7$ para Pt/Co equivalente a Cor determinada como verdadeira em Pt/Co.

Tabela 10: Resultado da repetibilidade durante 5 dias de análises em um mesmo Espectrofotômetro utilizando padrões de Pt/Co e usando o fator de conversão de 5,2 para o K_2CrO_7 para determinação de cor utilizando cubeta de 10 mm.

Dias	Padrão $K_2Cr_2O_7$ (mg L⁻¹)	Cor $K_2Cr_2O_7$ convertida em Pt/Co(Média)	Cor Pt/Co Referência	Erro Relativo (Er %)	Repetitividade DP	CV (%)
	1	3	5	40,0	0,000	0,000
	2	11	10	10,0	1,155	10,16
1°	4	22	20	10,0	2,105	9,368
Dia	8	41	40	2,5	0,691	1,670
	10	49	50	2,0	1,309	2,652
	1	3	5	40,0	0,000	0,000
	2	11	10	10,0	0,000	0,000
2°	4	23	20	15,0	0,970	4,274
Dia	8	42	40	5,0	0,000	0,000
	10	49	50	2,0	0,000	0,000

	1	3	5	40,0	0,000	0,000
	2	11	10	10,0	0,000	0,000
3°	4	22	20	10,0	0,000	0,000
Dia	8	40	40	0,0	1,841	4,590
	10	50	50	0,0	1,626	3,276
	1	3	5	40,0	0,000	0,000
	2	11	10	10,0	0,911	8,125
4°	4	22	20	10,0	1,784	7,894
Dia	8	41	40	2,5	0,537	1,296
	10	49	50	2,0	1,041	2,112
	1	3	5	40,0	0,000	0,000
	2	11	10	10,0	0,000	0,000
5°	4	22	20	10,0	0,000	0,000
Dia	8	40	40	0,0	1,732	4,283
	10	50	50	0,0	1,472	2,967

A **Tabela 10** expressa a precisão do método usando a cubeta de 10 mm, na qual, observa-se que o CV está em concordância com o valor indicado pela IUPAC que é de 10% (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; 2006), e pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1999; 2012) que é de 20%.

Com a exposição dos dados obtidos durante 5 dias de análises, usando cubetas de 10, 20 e 50 mm, observa-se o aumento da dispersão dos dados em função da diminuição do caminho óptico das cubetas, isso mostra que a cubeta ideal para aplicação do método é a de 50 mm de caminho óptico em virtude de proporcionar maior absorção de luz incidente. Porém, não se descarta a aplicação do método com as cubetas de caminho óptico menor, pois a precisão do método comprovou que o mesmo pode ser aplicado em cubetas de 10 e 20 mm, sendo que ambas apresentaram CV em conformidade com a IUPAC. E na prática de rotinas laboratoriais de determinação da Cor de água é aceitável uma dispersão de até 20% para a unidade de Cor em Pt/Co (APHA, 1999; 2012), pois visualmente a Cor 15, valor máximo aceitável para água destinada ao consumo humano, com uma variação de ± 3 unidade de Cor não apresenta diferença aparente. Contudo, é importante ressaltar que os laboratórios que fornecem os padrões de Cor Pt/Co trabalham com uma variação de ± 2 unidade de Cor (HUNDERLAB, 2012).

As análises também foram realizadas em períodos mais curtos, manhã, tarde e noite, contudo não apresentam diferença significativa, como mostrado no ANEXO 2B.

Na precisão intracorrída foi aplicado o teste T para comparar os métodos Pt/Co e $K_2Cr_2O_7$, o qual apresentou $p \leq 0,05$ para um nível de significância de 95%, mostrando que existe intercambialidade entre os métodos.

4.6.4.2 Precisão intermediária ou intercorrida

A precisão intermediária ou precisão intercorrida é a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes ou com equipamentos diferentes (LEITE, 2008). Por esta razão, optou-se por averiguar a precisão intermediária do método comparando cinco analistas usando o mesmo instrumento e seguindo o mesmo procedimento experimental, cujos resultados estão expostos na **Tabela 11, 12 e 13**, nas quais, observa-se que os CV estão dentro do valor de 10% que é o recomendado pela IUPAC como indicativo de uma boa precisão.

Tabela 11: Resultado da análise de precisão intermediária com 5 analistas, usando cubeta de 50 mm (n=6).

Analistas	Padrão K₂Cr₂O₇ (mg L⁻¹)	Cor K₂Cr₂O₇ convertida em Pt/Co(Média)	Cor Pt/Co Referência	Erro Relativo (Er %)	DP	CV (%)
Analista 1	1	7	5	40,0	0,001	0,008
	2	11	10	10,0	0,001	0,005
	4	22	20	10,0	0,001	0,003
	8	41	40	2,5	0,001	0,001
	10	52	50	4,0	0,000	0,000
Analista 2	1	5	5	0,0	0,000	0,000
	2	10	10	0,0	0,000	0,000
	4	20	20	0,0	0,000	0,000
	8	41	40	2,5	0,000	0,000
	10	53	50	6,0	0,000	0,000
Analista 3	1	5	5	0,0	0,000	0,000
	2	10	10	0,0	0,000	0,000
	4	21	20	5,0	0,000	0,000
	8	40	40	0,0	0,000	0,000
	10	53	50	6,0	0,000	0,000
Analista 4	1	5	5	0,0	0,000	0,000
	2	11	10	10,0	0,000	0,000
	4	21	20	5,0	0,000	0,000
	8	41	40	2,5	0,000	0,001
	10	53	50	6,0	0,000	0,001
Analista 5	1	5	5	0,0	0,000	0,000
	2	11	10	10,0	0,000	0,000
	4	21	20	5,0	0,000	0,000
	8	40	40	0,0	0,000	0,000
	10	53	50	6,0	0,005	0,010

A análise da precisão intermediária com 5 analistas apresentaram valores de Cor semelhantes e para melhor avaliar a variação em torno das médias apresentadas por cada analista foi aplicado o teste F, no qual o valor de $F_{\text{calculado}}$ foi menor do que o F_{tabelado}

($0,0004 \leq 5,05$), indicando que não há diferença significativa entre os resultados encontrados ($p=0,05$).

Tabela 12: Resultado da análise de precisão intermediária com 5 analistas, usando cubeta de 20 mm (n=6).

Analistas	Padrão K₂Cr₂O₇ (mg L⁻¹)	Cor K₂Cr₂O₇ convertida em Pt/Co(Média)	Cor Pt/Co Referência	Erro Relativo (Er %)	DP	CV (%)
Analista 1	1	7	5	40,0	0,000	0,008
	2	11	10	10,0	0,001	0,000
	4	22	20	10,0	0,000	0,000
	8	41	40	2,5	0,000	0,000
	10	52	50	4,0	0,000	0,000
Analista 2	1	6	5	20,0	0,000	0,000
	2	10	10	0,0	0,000	0,000
	4	20	20	0,0	0,000	0,000
	8	40	40	0,0	0,000	0,000
	10	52	50	4,0	0,000	0,000
Analista 3	1	6	5	20,0	0,000	0,000
	2	10	10	0,0	0,000	0,000
	4	20	20	0,0	0,000	0,000
	8	40	40	0,0	0,000	0,000
	10	52	50	4,0	0,000	0,000
Analista 4	1	6	5	20,0	0,001	0,009
	2	11	10	10,0	0,001	0,005
	4	21	20	5,0	0,001	0,003
	8	42	40	5,0	0,001	0,001
	10	53	50	6,0	0,001	0,001
Analista 5	1	6	5	20,0	0,000	0,000
	2	12	10	20,0	0,001	0,000
	4	22	20	10,0	0,000	0,005
	8	43	40	7,5	0,000	0,000
	10	53	50	6,0	0,001	0,001

Foi aplicado o teste F para determinar se houve diferença significativa entre as respostas obtidas pelos 5 analistas, usando cubetas de 20 mm. Com isso, foi observado que não há diferença significativa entre os resultados encontrados ($p=0,05$), pois o $F_{\text{calculado}}$ foi menor do que o F_{tabelado} ($0,006 \leq 5,05$).

Tabela 13: Resultado da análise de precisão intermediária com 5 analistas, usando cubeta de 10 mm (n=6).

Analistas	Padrão K₂Cr₂O₇ (mg L⁻¹)	Cor K₂Cr₂O₇ convertida em Pt/Co(Média)	Cor Pt/Co Referência	Erro Relativo (Er %)	DP	CV (%)
Analista 1	1	4	5	20,0	0,001	0,014
	2	8	10	20,0	0,000	0,000
	4	20	20	0,0	0,000	0,000
	8	40	40	0,0	0,000	0,000
	10	52	50	4,0	0,000	0,000
Analista 2	1	7	5	40,0	0,000	0,000
	2	11	10	10,0	0,000	0,000
	4	19	20	5,0	0,000	0,000
	8	45	40	12,5	0,000	0,000
	10	53	50	6,0	0,001	0,002
Analista 3	1	4	5	20,0	0,000	0,000
	2	12	10	20,0	0,000	0,000
	4	20	20	0,0	0,000	0,000
	8	40	40	0,0	0,000	0,000
	10	52	50	4,0	0,000	0,000
Analista 4	1	5	5	0,0	0,001	0,011
	2	12	10	20,0	0,001	0,008
	4	23	20	15,0	0,001	0,003
	8	43	40	7,5	0,001	0,001
	10	52	50	4,0	0,000	0,000
Analista 5	1	6	5	20,0	0,001	0,009
	2	11	10	10,0	0,000	0,000
	4	22	20	10,0	0,000	0,000
	8	43	40	7,5	0,001	0,001
	10	52	50	4,0	0,000	0,000

Os resultados obtidos na determinação da precisão intermediária, usando cubetas de 10 mm, foram avaliados estatisticamente utilizando o teste F, mostrando que o $F_{\text{calculado}}$ foi maior do que o F_{tabelado} , indicando que há diferença significativa entre os resultados encontrados para um intervalo de confiança de 95% ($p \leq 0,05$). Com isso, foi necessário descartar os dados do analista 2, que apresentavam valores discrepantes, e posteriormente, aplicou-se novamente o teste F, observando que o valor de $F_{\text{calculado}}$ foi menor do que o F_{tabelado} ($0,01 \leq 5,05$) indicando que não há diferença significativa entre os resultados encontrados para um limite de confiança de 95% ($p=0,05$).

Esta análise foi realizada no sentido de complementar a avaliação do ensaio, porém cabe ressaltar que os critérios que estabelecem o aceite da precisão do método estão preconizados no documento de caráter orientativo DOQ-CGCRE-008 – Revisão 04 – Jul/2011 do INMETRO.

4.6.4.3 Reprodutibilidade

A partir do desvio padrão obtido nos ensaios de reprodutibilidade foi possível calcular o limite de reprodutibilidade (R), $R = 2,869$, para o nível de confiança de 95% ($n=6$), o qual permitiu expressar a diferença entre os valores das amostras analisadas em laboratórios distintos, como mostrado nas Tabelas 14, 15 e 16. Os dados apresentados na Tabela 14 e 15 foram apresentados pelos laboratórios 1, 2 e 3, nos quais se utilizou cubetas de 20 e 50 mm nas mensurações, e na Tabela 16 estão expostos os dados que foram apresentados pelos 5 laboratórios usando cubetas de 10 mm.

Tabela 14: Dados da análise de reprodutibilidade em 3 laboratórios, usando cubetas de 50,0 mm.

Laboratório	Padrão K ₂ Cr ₂ O ₇ (mg L ⁻¹)	Cor K ₂ Cr ₂ O ₇ convertida em Pt/Co (mg L ⁻¹)	Cor Pt/Co Referência (mg L ⁻¹)	Repró (R)	Erro		
					Relativo (Er %)	DP	CV (%)
Laboratório 1	1	5	5	1,58	0,0	0,000	0,000
	2	11	10	1,87	10,0	0,001	0,011
	4	19	20	2,00	5,0	0,001	0,009
	8	41	40	2,51	2,5	0,001	0,003
	10	52	50	2,87	4,0	0,000	0,000
L	1	5	5	1,58	0,0	0,000	0,000

	2	11	10	1,87	10,0	0,000	0,000
	4	21	20	2,00	5,0	0,000	0,000
	8	41	40	2,51	2,5	0,001	0,001
	10	53	50	2,87	6,0	0,001	0,001
	<hr/>						
Laboratório 3	1	6	5	1,58	20,0	0,001	0,010
	2	10	10	1,87	0,0	0,001	0,006
	4	18	20	2,00	10,0	0,001	0,005
	8	42	40	2,51	5,0	0,002	0,004
	10	52	50	2,87	4,0	0,001	0,001

Tabela 15: Dados da análise de reprodutibilidade em 3 laboratórios, usando cubetas de 20,0 mm.

Laboratório	Padrão K₂Cr₂O₇ (mg L⁻¹)	Cor K₂Cr₂O₇ convertida em Pt/Co((mg L⁻¹)	Cor Pt/Co Referência (mg L⁻¹)	Repró (R)	Erro		
					Relativo (Er %)	DP	CV (%)
Laboratório 1	1	6	5	1,58	20,0	0,000	0,000
	2	10	10	1,87	0,0	0,001	0,009
	4	21	20	2,00	5,0	0,001	0,006
	8	42	40	2,51	5,0	0,001	0,001
	10	53	50	2,87	6,0	0,001	0,001
Laboratório 2	1	6	5	1,58	20,0	0,001	0,009
	2	11	10	1,87	10,0	0,001	0,005
	4	21	20	2,00	5,0	0,001	0,003
	8	42	40	2,51	5,0	0,001	0,001
	10	53	50	2,87	6,0	0,001	0,001
Laboratório 3	1	7	5	1,58	40,0	0,000	0,000
	2	12	10	1,87	20,0	0,001	0,005
	4	22	20	2,00	10,0	0,001	0,005
	8	43	40	2,51	7,5	0,001	0,001
	10	53	50	2,87	6,0	0,001	0,001

Foi possível obter os dados de absorvâncias utilizando cubetas de 50 e 20 mm nos laboratórios 1, 2 e 3 em razão dos espectrofotômetros UV/VIS terem o amostrador regulável, sendo que a maioria desses equipamentos disponível no mercado dispõe apenas

do amostrador para cubetas de 10 mm. Os resultados expostos nas Tabelas 14 e 15 mostraram a reprodutibilidade do método, confirmando a precisão do mesmo de acordo com os critérios estabelecidos INMETRO (INMETRO, 2011).

Tabela 16: Análise de Cor em 5 laboratórios usando cubetas de 10 mm.

Laboratório	Padrão K ₂ Cr ₂ O ₇ (mg L ⁻¹)	Cor K ₂ Cr ₂ O ₇ convertida em Pt/Co (mg L ⁻¹)	Cor		Erro Relativo (Er %)	DP	CV (%)
			Pt/Co Referência (mg L ⁻¹)	Reprô (R)			
Laboratório 1	1	4	5	1,58	20,0	0,000	0,000
	2	9	10	1,87	10,0	0,001	0,006
	4	20	20	2,00	00,0	0,001	0,005
	8	39	40	2,51	2,5	0,001	0,001
	10	51	50	2,87	2,0	0,001	0,002
Laboratório 2	1	5	5	1,58	0,0	0,001	0,011
	2	11	10	1,87	10,0	0,001	0,005
	4	21	20	2,00	5,0	0,001	0,003
	8	41	40	2,51	2,5	0,001	0,001
	10	51	50	2,87	2,0	0,001	0,001
Laboratório 3	1	4	5	1,58	20,0	0,000	0,000
	2	9	10	1,87	10,0	0,000	0,000
	4	19	20	2,00	5,0	0,001	0,003
	8	42	40	2,51	5,0	0,001	0,001
	10	52	50	2,87	4,0	0,001	0,002
Laboratório 4	1	7	5	1,58	40,0	0,000	0,002
	2	12	10	1,87	20,0	0,001	0,001
	4	21	20	2,00	5,0	0,000	0,004
	8	43	40	2,51	7,5	0,000	0,000
	10	55	50	2,87	10,0	0,000	0,000
Laboratório 5	1	5	5	1,58	0,0	0,000	0,002
	2	11	10	1,87	10,0	0,001	0,011
	4	21	20	2,00	5,0	0,001	0,005
	8	43	40	2,51	7,5	0,001	0,001
	10	53	50	2,87	6,0	0,001	0,001

As amostras analisadas apresentaram o valor de Cor dentro do limite de reprodutibilidade, $R = 2,869$, exceto a solução de maior concentração que excedeu o limite proposto no laboratório 4, porém, está dentro do limite de tolerância da Cor

estipulado neste método de $\pm 10\%$. O cálculo do limite de reprodutibilidade procedeu-se conforme proposto por Chui e colaboradores (2009).

4.6.5 Exatidão

Uma forma de avaliar a exatidão do método é por meio do cálculo do erro relativo (Er), o qual está exposto nas Tabelas de 8 a 17, referente ao método $K_2Cr_2O_7$. E os dados comparativos entre os métodos $K_2Cr_2O_7$ e Pt/Co encontram-se no ANEXO 2B.

De acordo com o INMETRO (2011), o teste Z (Z-score) também é uma forma de avaliar o desempenho do laboratório, por esta razão o teste foi aplicado nos resultados das Tabelas de 8 a 16 e foi observado valores do índice $Z \leq 1,9599$ para todas as concentrações da solução de $K_2Cr_2O_7$ (do item 4.6.4.1), o qual é considerado satisfatório quando o valor de $Z \leq 2$.

4.6.6 Robustez

A análise da robustez do método foi avaliada a partir de diferentes concentrações do ácido sulfúrico, observando se ocorreria alteração no valor da Cor em função do pH da solução, contudo, observou-se que entre o pH 2 e 5 não há alteração no valor da Cor, como exposto na **Tabela 17**.

A estabilidade da solução foi observada durante o período de 12 meses, como exposto no ANEXO D, no qual, observou-se que não houve diferença nos dados de absorvâncias obtidos e também no valor final da Cor, este procedimento corrobora com o documento E925 da NIST, U.S.A (2014), que afirma a estabilidade da solução de $K_2Cr_2O_7$ no período de 2 a 5 anos dependendo das condições de armazenamento. Também foi aplicado o teste T para comparar os métodos Pt/Co e $K_2Cr_2O_7$, o qual apresentou $p \leq 0,05$ para um nível de significância de 95%, mostrando que o método é robusto e que existe intercambialidade entre os métodos.

Tabela 17: Análise da robustez do método em função do pH da solução na faixa de 2 a 5 (n=3) usando cubeta de 50 mm.

Padrão K₂Cr₂O₇ (mg L⁻¹)	Absorbância em 450 nm	Cor K₂Cr₂O₇ convertida em Pt/Co (mg L⁻¹)	Cor Padrão Pt/Co (mg L⁻¹)	Erro Relativo (%)	DP
pH 2					
3	0,021	15	15	0,000	0,001
10	0,068	48	50	4,000	0,001
20	0,152	108	100	8,000	0,001
30	0,220	157	150	4,666	0,001
40	0,295	210	200	5,000	0,001
50	0,360	256	250	2,400	0,001
pH 3					
3	0,021	15	15	0,000	0,000
10	0,069	49	50	2,040	0,000
20	0,149	106	100	6,000	0,000
30	0,221	158	150	5,333	0,001
40	0,298	213	200	6,510	0,001
50	0,355	253	250	1,219	0,001
pH 5					
3	0,020	15	15	0,000	0,001
10	0,066	49	50	2,040	0,001
20	0,145	108	100	8,000	0,001
30	0,215	160	150	6,666	0,001
40	0,282	210	200	5,000	0,001
50	0,347	258	250	3,210	0,001

Os valores apresentados na Tabela 17 mostram que as pequenas variações de absorbâncias estão em concordância com o valor mencionado pelo INMETRO (2012), de 0,01, como erro apresentado pelo espectrofotômetro UV/Vis. Com isso, observa-se pequenas variações nas cores convertidas para Pt/Co, mas que estão dentro do desvio de 20% estipulado pelo Standard Methods (1999) para análise da Cor de água.

4.6.7 Avaliação da intercambialidade dos métodos

Os resultados experimentais obtidos na quantificação de Cor da água foram comparados estatisticamente por análise de variância, ANOVA, no qual se aplicou o teste T e teste F a partir das repetições de cada concentração, esse procedimento foi realizado com o auxílio do software OriginPro 8.0 usado para tratamento estatístico, cujos resultados estão exposto no item 4.6.4, a fim de avaliar a intercambialidade entre eles. Os resultados da análise comparativa demonstraram que não houve diferença significativa entre os resultados obtidos com os diferentes métodos em estudo ($p \leq 0,05$), sendo assim, o método analítico desenvolvido pode ser intercambiável com o método oficial em análises quantitativas para determinação da Cor de água.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A validação do método procedeu-se conforme os critérios exigidos pelo INMETRO e IUPAC dentro das aplicações analíticas, assegurando a maior confiabilidade dos resultados.

Apesar da existência de diversos métodos analíticos publicados para quantificação de Cor da água, a técnica de espectrofotometria no UV-Vis tem sido cada vez mais utilizada para este fim, pela sua simplicidade no manuseio o que facilita a aplicação do método, que mostrou ser simples, rápido, linear, específico, exato, preciso e robusto para ser executado em pesquisas e em aulas experimentais relacionadas com a qualidade da água, sendo uma excelente alternativa aos métodos utilizados.

O método desenvolvido, validado e descrito neste trabalho, permite a quantificação da Cor de água por meio de um comprimento de onda na faixa espectral do visível, 450,0 nm, conferindo praticidade, confiabilidade e baixo custo para a utilização deste método na determinação da Cor de água, e o mesmo, pode ser usado em espectrofotômetros com desvios de $\pm 5,0$ nm na escala do comprimento de onda, apresentando uma tolerância de 10% no valor final da Cor, que é aceitável em virtude deste parâmetro ser considerado apenas de caráter estético. Porém, essa tolerância pode ter o dobro do valor quando usada em concentrações muito pequenas, sendo assim, recomenda-se usar em concentrações $\geq 2,0$ mg L⁻¹ de K₂Cr₂O₇.

As cubetas utilizadas na aplicação do método K₂Cr₂O₇ foram de três caminhos ópticos diferentes, 10, 20 e 50 mm, sendo que a cubeta de 50 mm apresentou um desempenho melhor que as outras, contudo, não se descarta a utilização das cubetas de 10 e 20 mm para a aplicação do método, pois embora elas apresentem um pequeno aumento no erro sistemático, as etapas de validação descrita neste trabalho confirmaram que elas podem ser utilizadas com uma tolerância de 10% no valor final da Cor, sendo que na prática é aceitável uma tolerância de até 20%, conforme indicado pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1999; 2012) devido tratar-se de um parâmetro estético. Por esta razão, o método foi aplicado em amostras de água bruta, de rios de água preta, comprovando a eficiência do método alternativo na determinação da Cor usando cubetas de 10, 20 e 50 mm.

As análises interlaboratoriais comprovaram a reprodutibilidade do método proposto e o processo de validação demonstrou que não há diferença, estatisticamente, significativa quando comparado ao método oficial, possuindo as vantagens de economia,

durabilidade da solução por mais de 24 meses, sendo que a mesma pode ser utilizada para calibrar o espectrofotômetro, o método apresenta facilidade de execução, podendo ser utilizado durante o processo de pesquisa e aulas experimentais, quando se tratar de análise rápida para determinar a Cor da água.

REFERÊNCIAS

AFFONSO, A. G. et al. **Estudo da dinâmica de inundação na várzea Amazônica através de termo-sensores de campo**. Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. INPE p.5092, Curitiba - PR, 2011. Disponível em: <http://marte.sid.inpe.br/col/dpi.inpe.br/marte/2011/06.28.12.54/doc/p1205.pdf>

AHMAD, I. **Three-dimensional shade analysis: perspectives of color - Part I**. Practical Periodontics and Aesthetic Dentistry. Vol. 11(7):789-796, 1999. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10853581/>

ALVARENGA, J. A. **Avaliação da formação de subprodutos da cloração em água para consumo humano**. Dissertação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, 2010. Disponível em: <http://www.smarh.eng.ufmg.br/defesas/845M.PDF>

ANTUNES, A. C.; CASTRO, M. C. F. DE; GUARDA, V. L. DE M. **Influência da qualidade de água destinada ao consumo humano no estado nutricional de crianças com idades entre 3 e 6 anos , no Município De Ouro Preto-Mg ***. Alim. Nutr., Araraquara, v. 15, p. 221–226, 2004. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewArticle/80>

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria do Ministério da Saúde nº 2914 de 12 de Dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília - DF: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2011. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. **Resolução RDC Nº 17 , de 16 de abril de 2010**. Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos. Brasília - DF: 2010. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0017_16_04_2010.html

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005**. " O regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Brasil: ANVISA, 2005. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0269_22_09_2005.html

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003**. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". Diário Oficial da União; Brasília, de 02 de junho de 2003. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html

APHA (American Public Health Association); American Water Works Association (AWWA), and Water Environment Federation (WEF). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 18th ed. APHA, Washington, DC. 1992. Disponível em: <https://www.standardmethods.org/>

APHA (American Public Health Association); American Water Works Association (AWWA), and Water Environment Federation (WEF). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed. APHA, Washington, DC. 1999. Disponível em: <https://www.standardmethods.org/>

APHA (American Public Health Association); American Water Works Association (AWWA), and Water Environment Federation (WEF). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22th ed. APHA, Washington, DC. 2012. Disponível em: <https://www.standardmethods.org/>

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological Profile for Chromium**. Atlanta, Georgia.: U.S Department of health human services, Public Health Service, 2012. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf>

ASTM, American Society for Testing and Materials. **E925-09 Standard Practice for Monitoring the Calibration of Ultraviolet-Visible Spectrophotometers whose Spectral Bandwidth does not exceed 2nm¹**. In: Annual Book of ASTM Standards. June 2014,. v. 09, p. 1–7. 2014. Disponível em: <https://www.astm.org/Standards/E925.htm>

ASTM, American Society for Testing and Materials. **E438 - 92 Standard Specification for Glasses in Laboratory Apparatus**. Annual Book of ASTM Standards. 2011. Disponível em: <https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/E438-92R11.htm>

ASTM, American Society for Testing and Materials. **E275-08 Standard practice for describing and measuring performance of ultraviolet and visible spectrophotometers**. Annual Book of ASTM Standards. 2013. Disponível em : <https://www.astm.org/Standards/E275.htm>

ASTM, American Society for Testing and Materials. **E958 - 13 Standard Practice for Estimation of the Spectral Bandwidth of Ultraviolet-Visible**. Annual Book of ASTM Standards. 2013. Disponível em: <https://www.astm.org/Standards/E958.htm>

ASTM, American Society for Testing and Materials. **D 1209-00 Standard Test Method for Color of Clear Liquids (Platinum-Cobalt Scale)¹**. Annual Book of ASTM Standards. 2003. Disponível em: <https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/D1209-00.htm>

ASTM, American Society for Testing and Materials. **E694 - Laboratory Glass Volumetric Apparatus¹**. Annual Book of ASTM Standards. 2010. Disponível em: <https://www.astm.org/Standards/E694.htm>

ASTM, American Society for Testing and Materials. **E542 – 01 Standard Practice for Calibration of Laboratory Volumetric Apparatus¹**. Annual Book of ASTM Standards. 2012. Disponível em: <https://www.astm.org/Standards/E542.htm>

ASTM, American Society for Testing and Materials. **E1866 – 97 Standard Guide for Establishing Spectrophotometer Performance Tests¹**. Annual Book of ASTM Standards. 2013. Disponível em: <https://www.astm.org/Standards/E1866.htm>

AWWA, American Water Works Association. **Water Quality and Treatment: A handbook of community water supplies**. AWWA, 4th edition, McGraw-Hill Inc. 1990. Disponível em: <https://www.awwa.org/>

BASTIÉ, J.; TUBIANA, B.; JANEST, A. **Etude de solutions étalons pour le contrôle des spectrophotomètres**. Bulletin BNM, octobre, 1980. Disponível em: <https://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCAL8130142642>

BSI, British Standards Institution. **Method BS6068, 1986. Examination and determination of colour**. British Standard for Water Quality, Section 2.22. 1986. Disponível em: <https://codehub.building.govt.nz/home/resources/bs-6068-2-2-221986/>

BEHERA, S. *et al.* **UV-Visible Spectrophotometric Method Development and Validation of Assay of Paracetamol Tablet Formulation**. Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques. 2012. Disponível em: <https://scinapse.io/papers/2146528688>

BOWLING, L. C., STEANE, M. S. and TYLER, P.A. **The spectral distribution and attenuation of underwater irradiance in Tasmanian inland waters**. Freshwater Biol. 16: 3 13-335. 1986. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2427.1986.tb00974.x>

BRAND. GK 900-03 Material volumétrico, Lisboa, Portugal, 2014. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/421123166/GK900-03-Material-volumetrico-prtg-1>

BRITO, N. M.; DE AMARANTE, O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. **Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão**. Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba, v. 13, p. 129-146, jan./dez. 2003. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/pesticidas/article/view/3173>

BROWN, T. L. *et al.* **Chemistry: The Central Science**. 10th ed. Austrália: Pearson/Prentice-Hall. 2005.

BURKE, R. W.; MAVRODINEANU, R. Acidic potassium dichromate solutions as ultraviolet absorbance standards. **Journal of Research of the National Bureau of Standards Section A: Physics and Chemistry**, v. 80A, n. 4, p. 631, 1976. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5293529/>

BURKE, R W; DEARDORFF, E R; MENIS, O. **Liquid Absorbance Standards**. Journal of Research of the National Bureau of Standards. Vol. 76^a, n. 5, 1972. Disponível em: https://nvlpubs.nist.gov/nistpubs/jres/76A/jresv76An5p469_A1b.pdf

CHUI, Q. S. H.; BARROS, C. B. DE; SILVA, T. D. DA. **Parâmetros r e R orbitados de programa interlaboratorial - como usá-los**. Química Nova, v. 32, n. 8, p. 2209–2213, 2009. Disponível em: http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=632

CIE. **CIdIE. CIE 15.2 Colorimetry. Anais**.Vienna, Austria: Central Bureau of the CIE, 2004. Disponível em: <http://cie.co.at/search/node/CIE%2015.2%20Colorimetry>

CLESCERI, S. L.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA)**. 21 Ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2005. Disponível em:

<https://www.worldcat.org/title/standard-methods-for-the-examination-of-water-and-wastewater/oclc/156744115>

CONAMA, CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília - DF: Publicada nº DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63, 2005. Disponível em:

<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>

CONAMA, CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Brasília - DF: Publicada no DOU nº DOU nº 92, em 16/05/2011, 2011. Disponível em:

<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>

CONCEIÇÃO, C. C. **Implementação de dosimetria química de altas doses para irradiadores industriais**. [s.l.] Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, 2006.

COSTA, L. D. S. et al. **Avaliação espectrofotométrica das formas Cr^{+3} , CrO_4^{-2} e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$** . Eclética Química, v. 35, p. 157-167, 2010. Disponível em: <https://revista.iq.unesp.br/ojs/index.php/ecletica/article/view/217>

CUTHBERT, I. D. and GIORGIO, P. del. **Toward a standard method of measuring color in freshwater**. Limnol. Oceanogr., the American Society of Limnology and Oceanography, Inc. 37(6), 1319-1326, 1992. Disponível em:

<https://aslopubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.4319/lo.1992.37.6.1319>

DAUDT, C. E.; CANTO, M. W. **Cromo (III), cromo (VI) e cromo total em alguns vinhos brasileiros**. Rev. Ciência Rural, Vol. 25, n. 1, 1995. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cr/v25n1/a30v25n1>

DAVIES-COLLEY, R. J. AND M. E. CLOSE. **Water color and clarity of New Zealand rivers under baseflow conditions**. N.Z. J. Mar. Freshwater Res. 1990; 24: 357-365. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00288330.1990.9516430>

DAVIES-COLLEY AND W. N. VANT. **Absorption of light by yellow substance in freshwater lakes**. Limnol. Oceanogr. 1987; 32: 4 16-425. Disponível em: <https://aslopubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.4319/lo.1987.32.2.0416>

DI BERNARDO, L.; BRANDÃO, C. C. S.; HELLER, L. PROSAB – Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. **Tratamento de Águas de Abastecimento por Filtração em Múltiplas Etapas**. 1999. Disponível em: http://finep.gov.br/images/apoio-e-financiamento/historico-de-programas/prosab/aguas_de_abastecimento.pdf

DI BERNARDO, L. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. 2 ed. Rima. São Carlos, 2005.

DÍAZ, N. A. et al. **Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas**. Córdoba, 2006. Disponível em: https://scholar.google.com/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=Espectrofometr%C3%ADa%E2%80%AF%3A+Espectros+de+absorci%C3%B3n+y+cuantificaci%C3%B3n+colorim%C3%A9trica+de+biomol%C3%A9culas.+C%C3%B3rdoba%2C+2006&btnG=

EAST, M. **Good Measurement Practice for Cleaning Precision Glassware, GMP7**. 2013. Disponível em: https://www.nist.gov/system/files/documents/2017/05/09/GMP_7_20130424.pdf

EDQM, European Directorate for the Quality of Medicines. **Annex 3: OMCL Guideline on Qualification of UV-Visible spectrophotometers**. Strasbourg, France. 2007. Disponível: <https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents>

EWING, G. W. **Métodos Instrumentais de Análise Química**. Tradução: Aurora Giora Albase e Joaquim Teodoro de Souza Campos. Vol. 1. São Paulo, 1972.

EWING, G. W. **Analytical Instrumentation Handbook**, 3^a ed., edited by Jack Cazes, 2005.

FERREIRA, E. H. **Projeto e construção de um fotocolorímetro microcontrolado de baixo custo para o ensino de química analítica instrumental em escolas de nível médio e superior**. Monografia de Engenharia Industrial Química, Escola de Engenharia Química de Lorena, Universidade de São Paulo - USP, 2011. Disponível em : <https://sistemas.eel.usp.br/bibliotecas/monografias/2011/MIQ11003.pdf>

FERREIRA, L. V.; ALMEIDA, S. S. **Relação entre a altura de inundação, riquezas específicas de plantas e o tamanho de clareiras naturais em uma floresta inundável de igapó, na Amazônia Central**. Rev. Árvore, Sociedade de Investigações Florestais, p. 445–453, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rarv/v29n3/a12v29n3.pdf>

LEITE, F. **Validação em análise Química**. 5. ed. Campinas - SP: 2008.

FORSBERG, B. **Amazônia tem rios de três Cores distintas; entenda a diferença entre eles**. notícia do Globo Amazônia, São Paulo - SP. 2009. Disponível: <http://g1.globo.com/Amazonia/0,,MUL1012717-16052,00-AMAZONIA+TEM+RIOS+DE+TRES+CORES+DISTINTAS+ENTENDA+A+DIFERENCA+ENTRE+ELES.html>

FROIS, S. R. **Utilização de fases minerais direcionadas para a concentração Cr (III) e Cr (VI)**. Dissertação Mestrado em química, Universidade Federal do Paraná - UFPR, 2010. Disponível em: <https://www.acervodigital.ufpr.br/handle/1884/25105>

GAMA, C. A. F. **Determinação direta e simultânea e alumínio/ferro e cobre/cromo em água do Rio Negro - AM por espectrometria de absorção atômica com atomização.** Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Amazonas, 2010.

GILLESPIE, R.J. and KAPOOR, R. **The reactions of the chromate, dichromate, and permanganate ions with 100% sulfuric acid and dilute oleum.** Canadian Journal of Chemistry. Vol.65, 1987. Disponível em:
<https://cdnsiencepub.com/doi/pdf/10.1139/v87-441>

GLANTZ SA. *Primer in Biostatistics*, 5th ed. New York: McGraw-Hill; 2002.

GOERLITZ, D. F.; BROWN, E. **Methods for analysis of organic substances in water.** In: **Techniques of Water-Resources Investigations of the United States Geological Survey.** Techniques of Water-Resources Investigations of the United States Geological Survey, Laboratory analysis, Book 5, 1972. Disponível em:
<https://pubs.usgs.gov/twri/05a03/report.pdf>

GOMES, M. S. *et al.* **Integração de técnicas analíticas e proposta de experimentos para cursos de graduação em análise instrumental: Uso de espectrômetro de absorção atômica para medidas de absorção molecular.** Rev. Química Nova. Vol. 29, n° 4, 868-871, 2006. Disponível em:
http://static.sites.sbq.org/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol29No4_868_40-ED05148.pdf

GOMES., L. B. M. **Avaliação espectrofotométrica do manchamento de resinas odontológicas contendo nanopartículas.** Dissertação de Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais, Instituto de Ciências Exatas e da Terra. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010. Disponível em:
<https://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/12696>

GOMES, M. S. *et al.* **Uso de Scanner em Espectrofotometria de Absorção Molecular: Aplicação em Experimento Didático enfocando a Determinação de Ácido Ascórbico.** Quim. Nova, Vol. 31, No. 6, 1577-1581, 2008. Disponível em:
http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=1370

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa.** Tradução e revisão técnica Oswaldo Esteves Barcia; Júlio Carlos Afonso. Rio de Janeiro - RJ. LTC, 8ª Edição, 2012.

HAZEN, A. **THE MEASUREMENT OF THE COLORS OF NATURAL WATERS.** *Journal of the American Chemical Society*, v. 18, n. 3, p. 264–275, mar. 1896. Disponível em: <https://pubs.acs.org/toc/jacsat/18/3>

HOOLEY, D. J.; DESSY, R. E. **Continuous flow kinetic techniques in flow injection analysis.** *Analytical Chemistry*, Virginia, v. 55, p. 313-320, 1983. Disponível em:
<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac00253a030>

HUNDERLAB, Hunter Associates Laboratory Inc. **Measuring the Water Whiteness of Liquids Using the APHA Index**. The word's true measure of color. Hunderlab, 2012. Disponível em: <https://support.hunterlab.com/hc/en-us/articles/204137745-Measuring-the-Water-Whiteness-of-Liquids-Using-the-APHA-Index-AN-1001>

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Caderno da Região Hidrográfica Amazônia**. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Recursos Hídricos - MMA. Brasília, 2006. Disponível em: https://www.mma.gov.br/estruturas/161/publicacao/161_publicacao03032011024915.pdf

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia e Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação para a acreditação de laboratórios na área de volume, DOQ-CGCRE-027, Revisão 01**. Brasil: fev/2011. Disponível em: http://inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?tOrganismo=AvallLAB&iacao=imprimir

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia Qualidade e Tecnologia. **DOQ-CGCRE-008 Orientação sobre validação de métodos analíticos**. 2011. Disponível em: http://inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?tOrganismo=AvallLAB&iacao=imprimir

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia e Normalização e Qualidade Industrial. **Calibração - Divisão de Metrologia Óptica**. 2012. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/servicos/calibDiopt.asp>

INMETRO. **Escopo da acreditação – ABNT NBR ISO/IEC 17025 ensaio FOR-CGCRE-003 - Rev. 11 - Apr. MAR/13**. 2013. Disponível em: http://inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?tOrganismo=AvallLAB&iacao=imprimir

JEFFERY, G. H. et al. **Vogel's textbook Quantitative chemical analysis**. 5th. ed. England: 1989.

JULIO, M. DE et al. **Emprego do reagente de Fenton como agente coagulante de substâncias húmicas de água por meio de flotação por ar dissolvido e filtração**. Revista Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 11, p. 260–268, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/esa/v11n3/a09v11n3.pdf>

JUNK, W. J. **Aquatic plants of the Amazon system**. The ecology of river systems. Library of congress cataloging. Springer Science. 1986.

KARAK, T.; BHAGAT, R. M. **Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review**. Food Research International, v. 43, n. 9, p. 2234–2252, nov. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996910002917>

KIRK, J. T. O. **Yellow substance (gelbstof) and its contribution to the attenuation of photosynthetically active radiation in the aquatic environment**, p. 369-390. Zn B. Allard et al. [eds.], Humic substances in the aquatic and terrestrial environment. Springer. 1976. Disponível em: <https://www.publish.csiro.au/MF/MF9760061>

KIRK, J. T. O. **Light and photosynthesis in aquatic ecosystems**. 1nd Ed. Cambridge University Press. 1983.

KOWATA, E. A.; RIBEIRO, J. T.; TELLES, D. D. A. **Coagulação de água de abastecimento no mecanismo de adsorção-neutralização de cargas**. 2000. Disponível em: <http://bt.fatecsp.br/system/articles/115/original/trabalho5.pdf>

LAMEGO, A. C. F. *et al.* **Absorção do cromato-dicromato em faixa da região visível do espectro eletromagnético utilizando cubeta de metacrilato**. Revista Eletrônica de Educação e Ciência – REEC, Volume 01, Setembro/2011, Páginas 01-06. 2011. Disponível em: http://www.fira.edu.br/revista/ano1_num1_ed1_art1_pag1.pdf

LEE, J. D. **Química inorgânica**. São Paulo, SP.: Edgard Blucher Ltda., 1980.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. São Paulo -SP: Ed. Edgard Blucher, 1999.

LEITE, F. **Validação em análise Química**. Ed. Átomo, 5^a edição, Campinas - SP, 2008.

LENZ, G. **Métodos Fotométricos**. Biofísica. UFRGS. p. 1–12, 1997. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/biofisica/Bio10003/Metfoto.pdf>

LIMA, M. L. A. DE. **Uso do geoprocessamento na qualidade de água superficial destinada ao abastecimento humano no Estado de Rondônia**. Taubaté - Brasil. Anais I Seminário de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Paraíba do Sul: o Eucalipto e o Ciclo Hidrológico, 2007. Disponível em: <http://agro.unitau.br/serhidro/doc/pdfs/199-206.pdf>

LUÍZ, Â. M. E.; PINTO, M. L. C.; DE OLIVEIRA SCHEFFER, E. W. **Parâmetros de Cor e turbidez como indicadores de impactos resultantes do uso do solo, na Bacia hidrográfica do Rio Taquaral, São Mateus do SUL-PR**. RA'E GA - O Espaço Geográfico em Análise, v. 24, n. 24, p. 290–310, 2012. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/raega/article/view/26264>

MACEDO, J. A. B. **Águas e águas**. 2. ed. Belo Horizonte - MG: Conselho Regional de Química-MG. 2004.

MACÊDO, J. A. B. **Águas & Águas: Juiz de Fora - MG**, ORTOFARMA. São Paulo, 2001.

MALASPINA, O. A. **Avaliação da estabilidade de Cor e rugosidade superficial de resinas compostas micro-híbridas, submetidas ao processo de envelhecimento artificial acelerado, em função da fotoativação com lâmpada halógena e LED.** Tese (Doutorado em Odontologia), Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2009. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/25/25131/tde-05112009-104015/publico/OdirleiArrudaMalaspina.pdf>

MATIOLI G, VALENTINI SR, SOMMERWA. **Validação de métodos analíticos na quantificação de comprimidos de captopril - comparação de metodologias para um programa de garantia da qualidade.** *Acta Scientiarum Health Sci.* 2004; 16(2):357-64. Disponível em: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciHealthSci/article/view/1590>

MENKEN, K.; BREZONIK, P. L.; BAUER, M. E. **Influence of chlorophyll and colored dissolved organic matter (CDOM) on lake reflectance spectra: implications for measuring lake properties by remote sensing.** *Developments in water science, J. Lake and Reservoir Management*, 2005. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07438140609353895>

MERTZ, W. **Chromium as dietary essential for man.** In: HOESKTRA, W.G. (Ed.). *Trace element metabolism in animals-2.* p. p.185–198, 1974. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201303186585>

NIST, National Institute of Standards and Technology, Technology Administration, U.S Department of Commerce. **Special Publication 260-54 Standard Reference Materials: Certification and use of Acidic Potassium Dichromate Solutions as an Ultraviolet Absorbance Standard – SRM 935.** Washington, DC. 2000. Disponível em: <https://nvlpubs.nist.gov/nistpubs/Legacy/SP/nbsspecialpublication260-54.pdf>

NIST, National Institute of Standards and Technology, Technology Administration, U.S Department of Commerce. **Special Publication 260-140 Standard Reference Materials: Technical Specifications for Certification of Spectrophotometric NTRMs.** Washington, DC. 2000. Disponível em: <https://www.nist.gov/system/files/documents/srm/SP260-140.PDF>

PÁDUA, V. L. DE. **ÁGUA: Remoção de microorganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano** Programa de Pesquisa em Saneamento Básico - PROSAB. 2009. Disponível em: <http://www.finep.gov.br/apoio-e-financiamento-externa/historico-de-programa/prosab/produtos>

PARRON, L. M. **Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água.** EMBRAPA - Documento 232, 2011. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/921050/manual-de-procedimentos-de-amostragem-e-analise-fisico-quimica-de-agua>

PEHLIVAN, E.; CETIN, S. **Sorption of Cr(VI) ions on two Lewatit-anion exchange resins and their quantitative determination using UV-visible spectrophotometer.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 163, n. 1, p. 448–453, abr. 2009. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389408010145>

PEIXOTO, J. **Análises físico-químicas: Cor, turbidez, ph, temperatura, alcalinidade e dureza.** Laboratórios de tecnologias ambientais. 2007.

PELLEGRINO, O.; EUSÉBIO, L. **Calibrações em Espectrofotometria no IPQ.** SPMet, Sociedade Portuguesa de Metrologia. Funcal Madeira, Portugal, 2007. Disponível em: http://www.spmet.pt/Eventos/Conferencia2/2conferencia_SPMET_1024.htm

PEREIRA, F. K. P. *et al.* **Construção de curva de calibração por padrão externo para determinação de teor de cobre em água potável da cidade Brejo do Cruz – Paraíba por Espectrofotometria de Absorção Molecular.** In: 5º Congresso Norte-Nordeste de Química. Natal – RN – UFRN. 2013. Disponível em:

<http://doczz.com.br/doc/319669/constru%C3%A7%C3%A3o-de-curva-de-calibra%C3%A7%C3%A3o-por-padr%C3%A3o-externo-para>

PINHEIRO, L. A.; BORGES, J. T. Avaliação hidroquímica qualitativa das águas do baixo rio Negro. **Revista eletrônica de petróleo e gás, runPetro**, v. 2, p. 23–32, 2013. Disponível em: <https://repositorio.unp.br/index.php/runpetro/article/view/540>

PIVELI, R. P. **CURSO : “ Qualidade das águas e poluição : Aspectos físico-químicos ”**Características físicas das águas: Cor, turbidez, sólidos, temperatura, sabor e odor. 2006. Disponível em:

<http://www.leb.esalq.usp.br/leb/disciplinas/Fernando/leb360/Fasciculo%205%20-%20Caracteristicas%20Fisicas%20das%20Aguas.pdf>

POVINELLI, J. **“Técnicas Experimentais em Saneamento Ambiental”.** São Carlos Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo - USP. 2009.

QUEIROZ, M. M. A. *et al.* **Hidroquímica do rio Solimões na região entre Manacapuru e Alvarães – Amazonas – Brasil The Solimões river hydrochemistry between Manacapuru and Alvarães – AM.** *Acta Amazônica*, v. 39, n. 4, p. 943–952, 2009. Disponível em: <https://acta.inpa.gov.br/sumario.php?volume=39&edicao=4>

RECHE, I, and PACE, M. L. **Linking dynamics of dissolved organic carbon in a forested lake with environmental factors.** *Biogeochemistry, Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands*, **61**: 21–36, 2002. Disponível em:

<https://www.jstor.org/stable/1469666?seq=1>

RICHTER, C. A. **Água Métodos e Tecnologia de Tratamento.** 1ª edição ed.São Paulo -SP: 2009.

RICHTER, C. A.; AZEVEDO NETTO, J. M. **Tratamento de água tecnologia atualizada.** 4. ed. São Paulo -SP: Edgard Blücher, 2002.

RICHTER, C. A.; AZEVEDO NETTO, J. M. **Tratamento de água- Tecnologia atualizada**. 2. ed. São Paulo -SP: 1998.

RELACRE, Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal. **Guia RELACRE 24 cálculo da incerteza na calibração de material volumétrico**. CTR04- Metrologia no Grupo de Trabalho 07 - Volume da RELACRE e teve como base o Guia EURAMET/cg-19/v2.1 - Guidelines on the determination of uncertainty in gravimetric volume calibration. Portugal. 2012. Disponível em:

http://www.relacre.pt/assets/relacreassets/files/commissionsandpublications/Guia%20RELACRE%2024_C%3%81LCULO%20DA%20INCERTEZA%20NA%20CALIBRA%20C%3%87%20DE%20MATERIAL%20VOLUM%20C%3%89TRICO.pdf

ROCHA, J. C. .; ROSA, A. **Substâncias húmicas aquáticas. Interação com espécies metálicas**. Editora UNESP. São Paulo -SP: 2003.

ROCHA, F. R. P; TEIXEIRA, L. S. G. **Estratégias para Aumento de Sensibilidade em Espectrofotometria UV-VIS**. *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 5, 807-812, 2004. Disponível em: http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol27No5_807_20-DV03126.pdf

RODELLA, A. A. **LQI-800 Métodos Instrumentais de Análise**. Texto auxiliar para aulas teóricas. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006. Disponível em: <http://arnaldorodella.tripod.com/intrumento/instrupostila06.pdf>

RUBIM, A. M.; LAPORTA, L. V.; BANDEIRA, J. et al. **Validação de metodologia por UV/VIS para quantificação de cetoconazol em comprimidos**. *Rev. Bras. Farm.* v. 93, n. 4, p. 510–514, 2012. Disponível em: <https://www.rbfarma.org.br/files/rbf-2012-93-4-19.pdf>

SABESP. **Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo**. Qualidade da água. São Paulo -SP: 2015. Disponível em: <http://www.sabesp.com.br/>

SARGENTINI JR, É. **Substâncias húmicas aquáticas do rio Negro – AM: Extração, caracterização, fracionamento e distribuição de metais**. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Estadual de São Paulo - UNESP, Araraquara – SP. 1999.

SARGENTINI, E. C. P. ; RODRIGUES, E. S.; SARGENTINI JUNIOR, É. **Tratamento de água alternativo utilizando semente de moringa Oleifera Lam como clarificante natural de águas do rio Negro - AM**. Porto Alegre-RS, 49º Congresso Brasileiro de química, 2009. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2009/trabalhos/5/5-494-3832.htm>

SARGENTINI, E. C. P. ; SARGENTINI JUNIOR, É.; BOLSON, M. A. **Determinação da dosagem ideal de sementes de Moringa Oleifera Lam para ser usada na clarificação da água em função da sazonalidade do rio negro - AM**. Meio ambiente e energia. *Anais*. São Luís - MA: 51º Congresso Brasileiro de Química, 2011. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2011/trabalhos/5/5-441-7571.htm>

SCURACCHIO, P. A. **Qualidade da Água utilizada Para consumo em escolas no município de São Carlos-SP**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição), Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. “Júlio Mesquita Filho” Campus de Araraquara - SP, 2010. Disponível em: <https://www2.fcfar.unesp.br/Home/Pos-graduacao/AlimentoseNutricao/PaolaAndressaScuracchioME.pdf>

SENA, M. M. et al. **Aplicação de método quimiométrico na especiação de Cr (VI) em solução aquosa**. Rev. Química Nova, v. 24, n. 3, p. 331–338, 2001. Disponível em: http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol24No3_331_08.pdf

SHARPE, P. H. G. .; BARRET, J. H. .; BERKLEY, A. M. . **“Dichromate Solution as a Reference Dosimeter for use in Industrial Irradiation Plants”**. Rep. NPL Report - RS(EXT)60, 1982. Disponível em: <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/1982dsrd.rept.....S/abstract>

SILVA, C. S. **Determinação de cromo hexavalente no ambiente de trabalho de galvanoplastias e fluidos biológico de trabalhadores**. Dissertação (Mestrado), Instituto de Química, Universidade de São Paulo-SP, 1991. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/46/46133/tde-20082008-092003/pt-br.php>

SILVA, C. S.; PEDROZO, M. D. F. M. **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos**. Série Caderno de Química Ambiental, Vol. 5, 2001.

SILVA, M. S. . et al. **Desafios para gestão das águas na região amazônia**. XX Simpósio brasileiro de recursos Hídricos. Bento Gonçalves - RSABRH, Associação Brasileira de Recursos Hídricos, 2013. Disponível em: http://abrh.s3.amazonaws.com/Eventos/Trabalhos/66/SBRH2013_PAP013243.pdf

SIOLI, H. **Amazônia. Fundamentos da ecologia da maior região de florestas tropicais**. Petrópolis, RJ: 1985.

SKOOG, D. A. . et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo - SP: Ed.Thomson Learning., 2007.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5a. ed. Brasil: 2002.

SOUZA, D. A. **Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de multiresíduos de pesticidas em águas de abastecimento de São Carlos – SP**. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000. Disponível em: <https://bv.fapesp.br/pt/pesquisador/34728/dalva-aparecida-de-souza/>

SOUZA, T. M. et al. **Recuperação e Aplicação do Dicromato de Potássio Proveniente do Resíduo de Sulfocromica**. Revista Virtual de Química, v. 6, n. 2, p. 453–466, 2014. Disponível em: <http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/v6n2a19.pdf>

SOUZA, V. L. B.; FIGUEIRÊDO, M. D. C.; CUNHA, M. S. **Avaliação de Parâmetros Instrumentais para Garantia de Dados Analíticos do Laboratório de Dosimetria**

Química do Centro Regional de Ciências Nucleares (CRCN). Scientia Plena, v. 4, n. 2000, p. 4–7, 2008. Disponível em:

<https://scientiaplena.emnuvens.com.br/sp/article/view/732>

STARNA. **Validation - certification of UV and Visible Spectrometers.** Published by anadis instruments B.V. 2006. Disponível em: <http://www.anadis.nl>

STARNA. **Certified reference materials for UV and Visible spectroscopy optiglass limited.** 2012. Disponível em: <http://www.starna.com.au/docs/refCat.pdf>

SUSUMU, K. *et al.* **Conjugated Chromophore Arrays with Unusually Large Hole Polaron Delocalization Lengths.** J. American Chemical Society. v. 128, p. 8380-8381. 2006. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja0614823>

THERMO SCIENTIFIC. **Application note parameter and sample type.** 2013. Disponível em: <http://www.thermoscientific.com>

THERMO ELECTRON CORPORATION, **Absorbance Accuracy – Its Measurement and Effect on Performance in UV-Visible Spectrophotometry.** 2015. Disponível: <http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/PS50452-E-0415M-SPECTRONIC-Standards.pdf>

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. **Quality assurance schemes for analytical laboratories * harmonized guidelines for single- laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report) Harmonized guidelines for single-laboratory (IUPAC Technical Report).** Pure and Applied Chemistry, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002. Disponível em: <https://www.degruyter.com/view/journals/pac/74/5/article-p835.xml>

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. **The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories (IUPAC Technical Report).** Pure and Applied Chemistry, v. 78, n. 1, p. 145-196, 2006. Disponível em: <https://www.degruyter.com/view/journals/pac/78/1/article-p145.xml>

TRAVIS, J. C. *et al.* **NIST, National Institute of Standards and Technology, Technonology Administration, U.S Department of Commerce.** Technical specifications for certification of spectrophotometric NTRMs. National Institute of Standards and Technology Special Publication 260-140. 2000. Disponível em: <https://www.nist.gov/system/files/documents/srm/SP260-140.PDF>

UMETSU, C. A. *et al.* **Aspectos Físico-Químicos De Dois Rios Da Bacia Do Alto Tapajós – Teles Pires e Cristalino – Mt , Durante Período De Estiagem E Cheia.** Revista de Ciências Agro-Ambientais, p. 59–70, 2007. Disponível em: http://www.unemat.br/revistas/rcaa/docs/vol5/6_artigo_v5.pdf

VOGEL, A.; **Química Analítica Qualitativa,** Editora Mestre Jou: São Paulo, 1981.

WEBSTER, K. E. *et al.* **An empirical evaluation of the nutrient-color paradigm for lakes.** by the American Society of Limnology and Oceanography Inc, J. Limnol. Oceanogr., 53(3), 2008, 1137–1148. 2008. Disponível em:

<https://aslopubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.4319/lo.2008.53.3.1137>

WHO, World Health Organization. **Guidelines for Drinking-water Quality**. 3rd Edition, WHO, Geneva, Switzerland. 2006. Disponível em:

https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/gdwq3rev/en/

YOSHIMORI, T. *et al.* **Purification of potassium dichromate and its assay by precise coulometric titration**. *Analytica Chimica Acta*, 63 (1973) 351-357 0 Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam - Printed in The Netherlands, 1973. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003267001823606>

ZHANG, Y., et al, **High-Dose Standardization Study for γ -rays radiation processing at NIM**, CCRI(1)/07-43 (2007). Disponível em:

[https://www.bipm.org/cc/CCRI\(I\)/Allowed/18/CCRI\(I\)07-43.pdf](https://www.bipm.org/cc/CCRI(I)/Allowed/18/CCRI(I)07-43.pdf)

ZEIDEMANN, V. K. **O rio das águas negras**. In: Oliveira, A. A., Daly, D. (Eds.). *Florestas do Rio Negro*. Companhia das Letras. São Paulo - SP: 2001. Disponível em: <http://ecologia.ib.usp.br/guiaigapo/images/livro/RioNegro02.pdf>

ANEXO A - Absorbâncias das soluções padrão de $K_2Cr_2O_7$ com H_2SO_4 a 0,005M

Concentração mg L ⁻¹	235 nm				257 nm			
	Abs Medida	Abs NIST	Tolerância NIST	Erro Absoluto	Abs Medida	Abs NIST	Tolerância NIST	Erro Absoluto
20	0,247	0,240	± 0,003	0,007	0,284	0,281	± 0,003	0,003
40	0,479	0,492	± 0,005	0,013	0,556	0,573	± 0,006	0,017
60	0,732	0,741	± 0,007	0,009	0,850	0,862	± 0,009	0,012
80	0,998	0,991	± 0,010	0,007	1,149	1,154	± 0,012	0,005
100	1,228	1,243	± 0,012	0,015	1,435	1,449	± 0,014	0,014
Concentração mg L ⁻¹	313 nm				350 nm			
	Abs Medida	Abs NIST	Tolerância NIST	Erro Absoluto	Abs Medida	Abs NIST	Tolerância NIST	Erro Absoluto
20	0,095	0,095	± 0,002	0,000	0,210	0,211	± 0,004	0,001
40	0,188	0,192	± 0,002	0,004	0,414	0,427	± 0,004	0,013
60	0,287	0,289	± 0,003	0,002	0,630	0,645	± 0,006	0,015
80	0,387	0,386	± 0,004	0,001	0,851	0,86	± 0,009	0,009
100	0,478	0,483	± 0,005	0,005	1,057	1,071	± 0,011	0,014

Quadro 1: As absorbâncias das soluções padrão, de $K_2Cr_2O_7$ em H_2SO_4 a 0,005M, medidas e comparadas com as absorbâncias informadas pela NIST, USA (2000) para cada concentração, observando se o erro absoluto está em concordância com a tolerância máxima permitida pelo INMETRO (2012) de ± 0,01 na variação do valor de absorbância.

ANEXO 1A - Absorbâncias das soluções padrão de $K_2Cr_2O_7$ com $HClO_4$ a 0,001M.

Concentração mg L ⁻¹	235 nm				257 nm			
	Abs Medida	Abs NIST	Tolerância NIST	Erro Absoluto	Abs Medida	Abs NIST	Tolerância NIST	Erro Absoluto
20	0,247	0,240	± 0,003	0,007	0,285	0,281	± 0,003	0,004
40	0,479	0,492	± 0,005	0,013	0,559	0,573	± 0,006	0,014
60	0,735	0,741	± 0,007	0,006	0,854	0,862	± 0,009	0,008
80	0,993	0,991	± 0,010	0,002	1,142	1,154	± 0,012	0,012
100	1,228	1,243	± 0,012	0,015	1,437	1,449	± 0,014	0,012
Concentração mg L ⁻¹	313 nm				350 nm			
	Abs Medida	Abs NIST	Tolerância NIST	Erro Absoluto	Abs Medida	Abs NIST	Tolerância NIST	Erro Absoluto
20	0,097	0,095	± 0,002	0,002	0,214	0,211	± 0,004	0,003
40	0,186	0,192	± 0,002	0,006	0,418	0,427	± 0,004	0,009
60	0,287	0,289	± 0,003	0,002	0,633	0,645	± 0,006	0,012
80	0,385	0,386	± 0,004	0,001	0,845	0,860	± 0,009	0,015
100	0,475	0,483	± 0,005	0,008	1,059	1,071	± 0,011	0,012

Quadro 1: As absorbâncias das soluções padrão, de $K_2Cr_2O_7$ em $HClO_4$ a 0,001M, medidas e comparadas com as absorbâncias informadas pela NIST, USA (2000) para cada concentração, observando se o erro absoluto está em concordância com a tolerância máxima permitida pelo INMETRO (2012) de ± 0,01 na variação do valor de absorbância.

ANEXO B – Valores de absorvâncias das soluções de Pt/Co e K₂Cr₂O₇

Calibração com Pt/Co						
[] mg L⁻¹	0	5	10	20	40	50
Média Absorvância	0,000	0,007	0,014	0,026	0,052	0,065
STD	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000
Erro	0,000					
Inclinação	773,055					
Intercepto	-0,2161					
R²	0,9998					
Cor em K₂Cr₂O₇ convertido para Pt/Co						
Média	0	5	11	21	41	53
STD	0,182	0,366	0,429	0,451	0,801	0,743
Cor em Pt/Co calculada com a equação linear da reta da curva de calibração						
Média	0	5	10	20	40	50
STD	0,077	0,475	0,406	0,562	0,574	0,608

Quadro 1: Dados obtidos a partir da curva de calibração realizada com as soluções do padrão Pt/Co, usando cubetas de 50,0 mm e n = 300.

Calibração K₂Cr₂O₇						
[] mg L⁻¹	0	1	2	4	8	10
Média Absorvância	0,000	0,007	0,014	0,027	0,054	0,069
STD	0,000	0,000	0,001	0,001	0,001	0,001
Erro	0,000					
Inclinação	147,651					
Intercepto	-0,033					
R²	0,9996					
Cor em Pt/Co convertido para K₂Cr₂O₇						
Média	0	1	2	4	8	10
STD	0,015	0,091	0,078	0,107	0,110	0,116
Cor em K₂Cr₂O₇ calculada com a equação linear da reta da curva de calibração						
Média	0	1	2	4	8	10
STD	0,182	0,366	0,429	0,451	0,801	0,743

Quadro 2: Dados obtidos a partir da curva de calibração realizada com as soluções do padrão K₂Cr₂O₇, usando cubetas de 50,0 mm e n = 300.

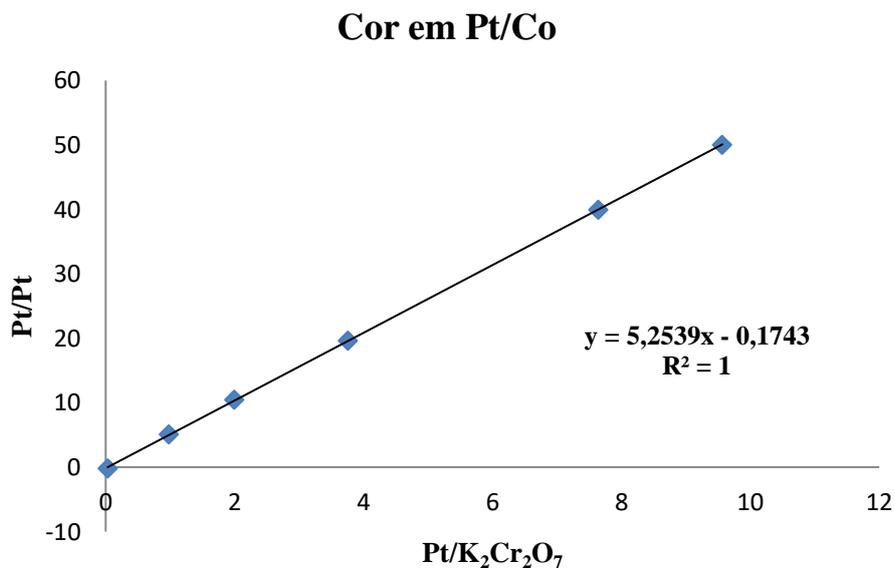
ANEXO 1B – Gráficos de Correlação das Cores em Pt/Co e K₂Cr₂O₇

Gráfico 1: Cor em Pt/Co, obtidas aplicando as absorvâncias medidas na equação linear da reta, Correlacionadas com a Cor em Pt/Co convertidas para K₂Cr₂O₇.

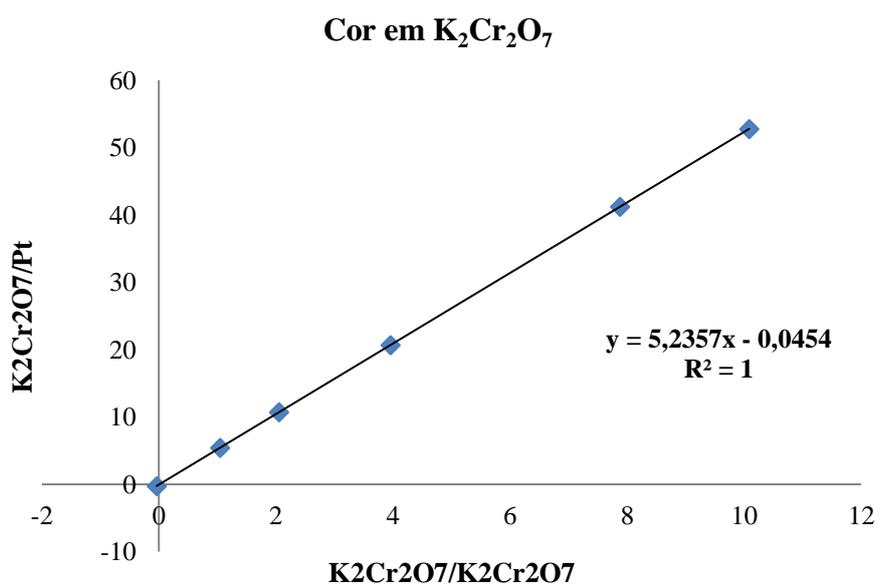


Gráfico 2: Cor em K₂Cr₂O₇, obtidas aplicando as absorvâncias medidas na equação linear da reta, Correlacionadas com a Cor em K₂Cr₂O₇ convertidas para Pt/Co.

ANEXO 2B – Análise de precisão intracorrida, manhã, tarde e noite, de Pt/Co e K₂Cr₂O₇.

Tabela 1: Determinação da precisão intercorrida em 450,0 nm usando cubetas de 50,0 mm (n=10).

Período	Pt/Co			Cor Verdadeira	K ₂ Cr ₂ O ₇		
	Média de Cor	DP	Er		Média de Cor	DP	Er
Manhã	5	0,0005	0,0%	5	5	0,0005	0,0%
	11	0,0004	10,0%	10	11	0,0005	10,0%
	20	0,0012	0,0%	20	21	0,0006	5,0%
	40	0,0011	0,0%	40	41	0,0005	2,5%
	50	0,0012	0,0%	50	52	0,0011	4,0%
Tarde	5	0,0005	0,0%	5	5	0,0000	0,0%
	11	0,0005	10,0%	10	11	0,0005	10,0%
	20	0,0007	0,0%	20	21	0,0006	5,0%
	40	0,0005	0,0%	40	41	0,0005	2,5%
	50	0,0007	0,0%	50	52	0,0003	4,0%
Noite	5	0,0005	0,0%	5	5	0,0004	0,0%
	11	0,0004	10,0%	10	11	0,0006	10,0%
	20	0,0007	0,0%	20	21	0,0009	5,0%
	40	0,0007	0,0%	40	41	0,0010	2,5%
	50	0,0008	0,0%	50	52	0,0004	4,0%

Tabela 2. Determinação da precisão intercorrida em 450,0 nm usando cubetas de 20,0 mm (n=10)

Período	Pt/Co			Cor Verdadeira	K ₂ Cr ₂ O ₇		
	Média de Cor	DP	Er		Média de Cor	DP	Er
Manhã	5	0,0000	0,0%	5	6	0,0004	20,0%
	11	0,0000	10,0%	10	11	0,0004	10,0%
	19	0,0000	10,0%	20	22	0,0005	10,0%
	40	0,0000	0,0%	40	43	0,0005	7,5%
	50	0,0000	0,0%	50	52	0,0004	4,0%
Tarde	5	0,0005	0,0%	5	6	0,0000	20,0%
	11	0,0005	10,0%	10	11	0,0005	10,0%
	20	0,0007	0,0%	20	21	0,0005	10,0%
	40	0,0005	0,0%	40	41	0,0005	7,5%
	50	0,0007	0,0%	50	52	0,0005	4,0%
Noite	5	0,0005	0,0%	5	6	0,0000	20,0%
	11	0,0004	10,0%	10	11	0,0005	10,0%
	20	0,0007	0,0%	20	22	0,0006	10,0%
	39	0,0007	2,5%	40	42	0,0005	7,5%
	50	0,0008	0,0%	50	52	0,0009	4,0%

Tabela 3: Determinação da precisão intercorrida em 450,0 nm usando cubetas de 10,0 mm (n=10).

Período	Pt/Co			Cor Verdadeira	K ₂ Cr ₂ O ₇		
	Média de Cor	DP	Er		Média de Cor	DP	Er
Manhã	3	0,0000	0,0%	5	4	0,0004	20,0%
	11	0,0000	10,0%	10	12	0,0004	20,0%
	22	0,0000	10,0%	20	22	0,0005	10,0%
	40	0,0005	0,0%	40	43	0,0005	7,5%
	49	0,0005	2,0%	50	51	0,0004	2,0%
Tarde	3	0,0000	40,0%	5	4	0,0000	20,0%
	11	0,0000	10,0%	10	12	0,0000	10,0%
	23	0,0000	15,0%	20	22	0,0005	10,0%
	38	0,0000	5,0%	40	43	0,0003	7,5%
	50	0,0000	0,0%	50	51	0,0003	2,0%
Noite	3	0,0000	0,0%	5	4	0,0000	20,0%
	11	0,0000	10,0%	10	12	0,0000	10,0%
	23	0,0000	0,0%	20	22	0,0004	10,0%
	39	0,0004	2,5%	40	43	0,0003	7,5%
	50	0,0008	0,0%	50	51	0,0000	2,0%

Na precisão intracorrida os dois métodos apresentaram aumento no erro relativo em função da diminuição do caminho óptico da cubeta, na qual o menor caminho óptico apresentou maior dispersão dos valores de Cor para ambos os métodos, mostrando que o K₂Cr₂O₇ é semelhante ao Pt/Co, tanto na precisão expressa pelo desvio padrão, quanto na exatidão mostrada pelo erro relativo.

ANEXO C – Quantificação da Cor de água bruta usando os métodos de Pt/Co e K₂Cr₂O₇.

Tabela 1 Quantificação de Cor das águas de igarapés aplicando o método K₂Cr₂O₇ e comparando-o com o método Pt/Co, usando cubeta de 20,0 mm em 450,0 nm.

Amostras de água	Cor Pt/Co	Desvio Padrão	CV (%)	Cor K ₂ Cr ₂ O ₇	Desvio Padrão	CV (%)
1	35	0,948	2,706	35	1,400	3,998
2	44	1,608	3,665	46	0,443	0,968
3	40	3,510	8,824	37	1,415	3,825
4	32	2,154	6,665	31	1,053	3,413
5	20	0,623	3,056	19	0,979	5,063
6	19	1,826	9,531	16	1,418	8,863
7	44	2,554	5,817	43	0,947	2,227

Tabela 2: Quantificação de Cor das águas de igarapés aplicando o método K₂Cr₂O₇ e comparando-o com o método Pt/Co, usando cubeta de 10,0 mm em 450,0 nm.

Amostras de água	Cor Pt/Co	Desvio Padrão	CV (%)	Cor K ₂ Cr ₂ O ₇	Desvio Padrão	CV (%)
1	34	0,082	0,243	34	1,096	3,265
2	49	0,117	0,238	48	1,306	2,743
3	41	0,839	2,050	39	1,933	4,965
4	33	1,013	3,060	32	1,162	3,667
5	19	1,464	7,588	19	0,945	4,898
6	21	1,588	7,493	21	1,612	7,826
7	46	0,344	0,753	45	2,506	5,583

Os dados da Tabela 1 e 2 mostram que os métodos Pt/Co e K₂Cr₂O₇ são semelhantes, apresentam a mesma precisão e o mesmo erro sistemático em relação ao comprimento do caminho óptico das cubetas utilizadas nas medições e por esta razão, na ausência dos reagentes do método oficial Pt/Co, pode-se usar o método alternativo para quantificar a Cor de água.

**ANEXO D – Avaliação da estabilidade das soluções de K₂Cr₂O₇
no período de 12 meses.**

Tabela 1: Dados das análises de estabilidade das soluções de K₂Cr₂O₇ no período de 12 meses, usando cubeta de 50 mm (n=3).

Mês	Padrão K ₂ Cr ₂ O ₇ (mg L ⁻¹)	Absorbância em 450 nm	Cor convertida em Pt/Co	Padrão Pt/Co (mg L ⁻¹)	Erro Relativo (%)	Desvio Padrão
Mês 1	3	0,019	16	15	7	0,0006
	10	0,069	53	50	6	0,0000
	20	0,136	102	100	2	0,0000
	30	0,208	156	150	4	0,0000
	50	0,351	262	250	5	0,0000
Mês 2	3	0,019	15	15	0	0,0006
	10	0,071	53	50	6	0,0000
	20	0,137	102	100	2	0,0006
	30	0,209	154	150	3	0,0000
	50	0,354	260	250	4	0,0000
Mês 3	3	0,020	15	15	0	0,0006
	10	0,071	53	50	6	0,0000
	20	0,140	104	100	4	0,0006
	30	0,210	156	150	4	0,0000
	50	0,348	259	250	4	0,0000
Mês 4	3	0,020	15	15	0	0,0000
	10	0,071	53	50	6	0,0000
	20	0,140	104	100	4	0,0000
	30	0,210	156	150	4	0,0000
	50	0,348	259	250	4	0,0000
Mês 5	3	0,020	15	15	0	0,0000
	10	0,071	53	50	6	0,0000
	20	0,140	104	100	4	0,0000
	30	0,210	156	150	4	0,0000
	50	0,348	259	250	4	0,0000
M «	3	0,023	19	15	27	0,0000

	10	0,074	56	50	12	0,0000
	20	0,143	106	100	6	0,0000
	30	0,215	159	150	6	0,0006
	50	0,356	262	250	5	0,0000
Mês 7	3	0,020	16	15	7	0,0006
	10	0,069	53	50	6	0,0000
	20	0,136	103	100	3	0,0010
	30	0,207	157	150	5	0,0000
	50	0,346	262	250	5	0,0000
Mês 8	3	0,020	15	15	0	0,0006
	10	0,070	52	50	4	0,0000
	20	0,139	103	100	3	0,0012
	30	0,208	155	150	3	0,0006
	50	0,347	258	250	3	0,0000
Mês 9	3	0,020	15	15	0	0,0000
	10	0,070	52	50	4	0,0006
	20	0,137	102	100	2	0,0000
	30	0,208	155	150	3	0,0000
	50	0,347	258	250	3	0,0000
Mês 10	3	0,019	16	15	7	0,0006
	10	0,068	53	50	6	0,0006
	20	0,136	104	100	4	0,0006
	30	0,206	157	150	3	0,0000
	50	0,345	262	250	5	0,0006
Mês 11	3	0,019	16	15	7	0,0000
	10	0,067	52	50	4	0,0000
	20	0,134	103	100	3	0,0006
	30	0,203	155	150	3	0,0012
	50	0,342	260	250	4	0,0012
Mês 12	3	0,020	16	15	7	0,0000
	10	0,069	53	50	6	0,0000
	20	0,135	103	100	3	0,0006
	30	0,206	156	150	4	0,0000

50 0,345 261 250 4 0,0000

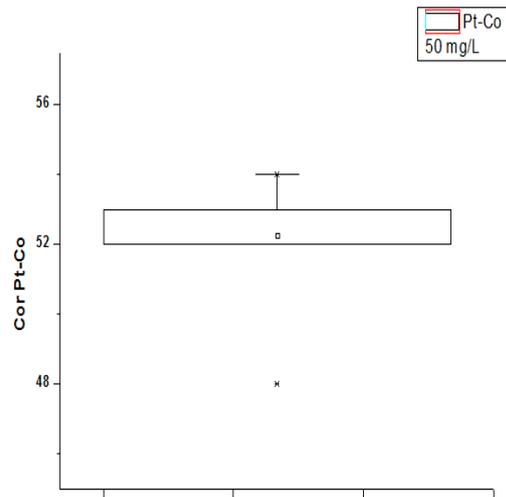
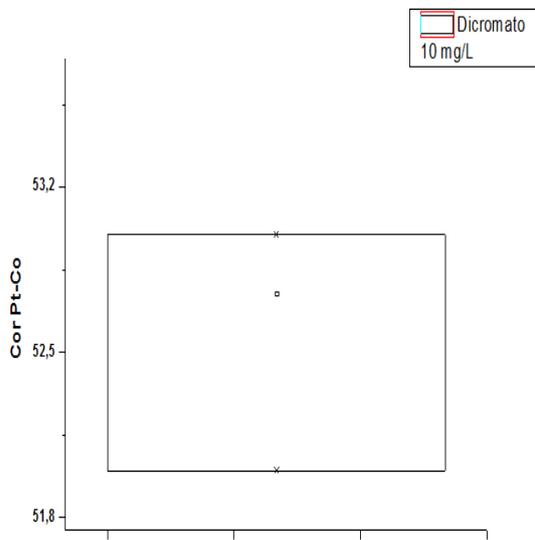
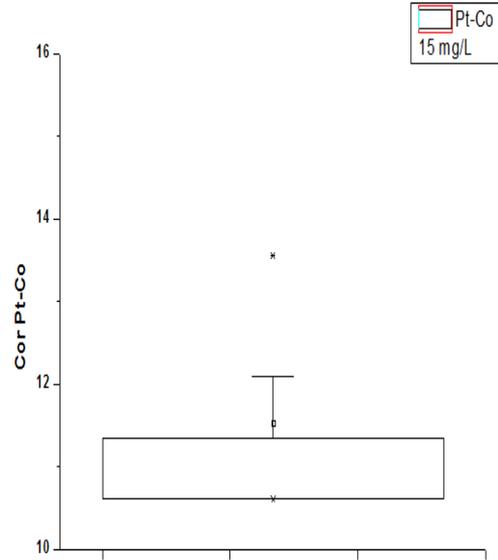
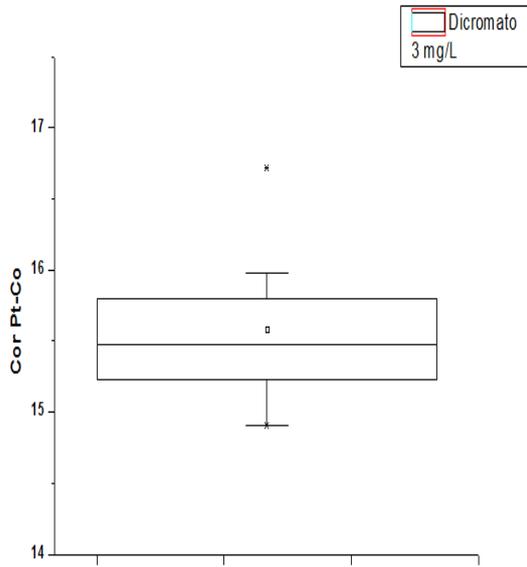
Os dados do estudo de estabilidade da solução, no período de 12 meses, mostraram que a solução é estável, pois as pequenas variações apresentadas podem ser atribuídas às oscilações da técnica utilizadas nas medições. Com isso, foi aplicado o teste T usando o software OriginPro 8.0, como mostrado na **tabela 2**.

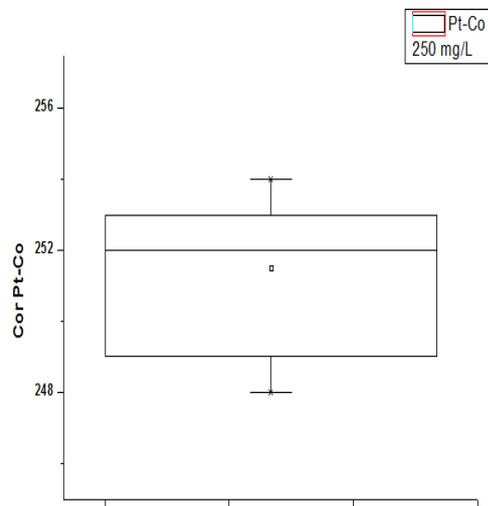
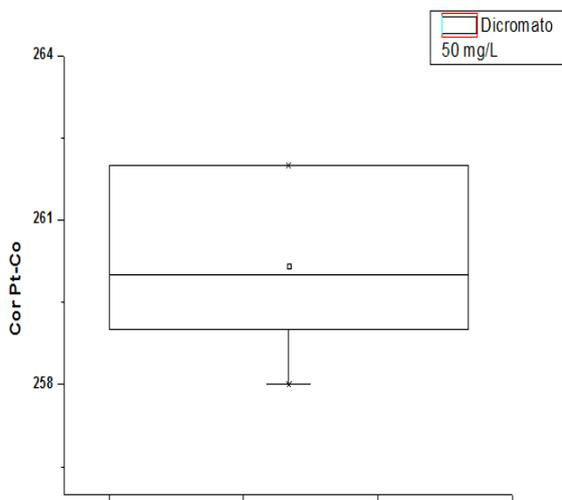
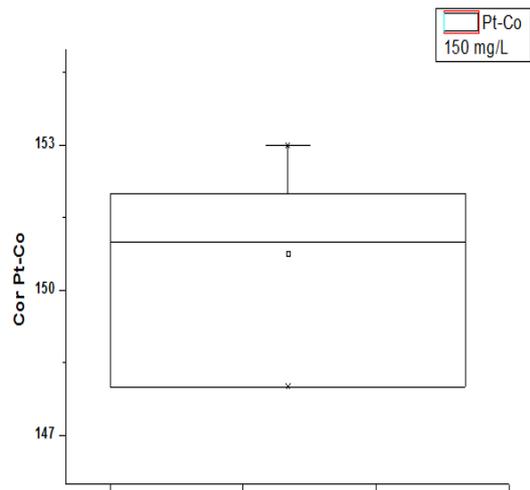
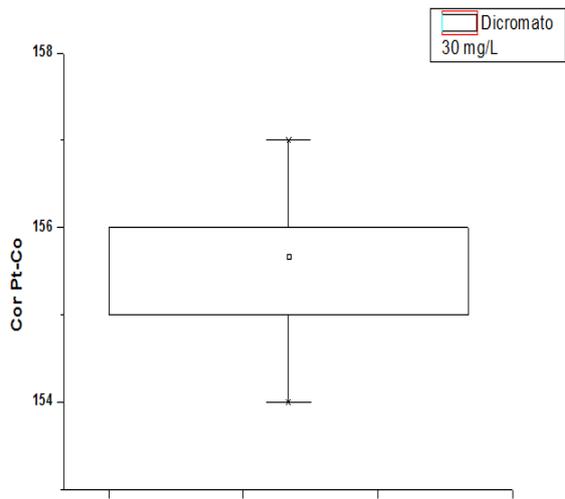
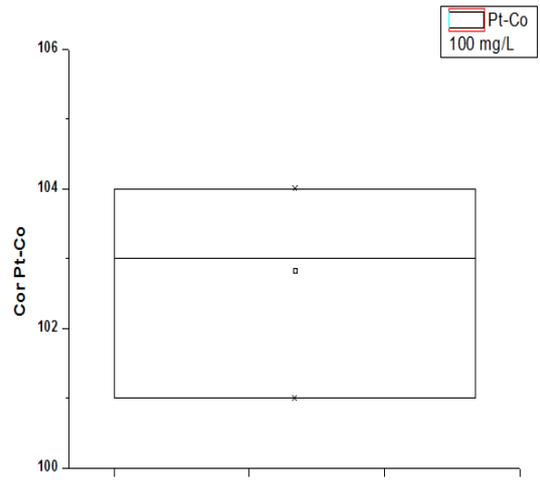
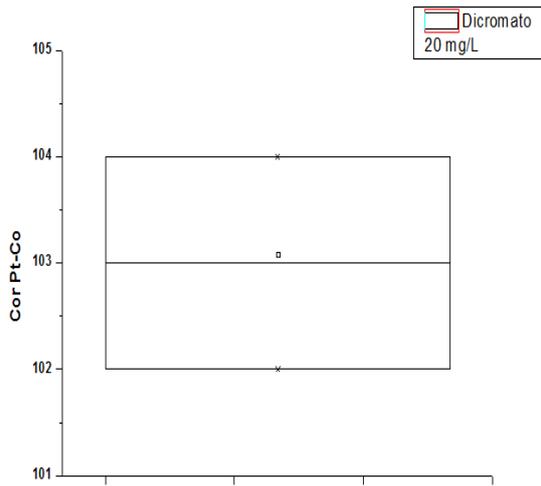
Tabela 2: Resultados do teste T com os dados obtidos nas mensurações dos 12 meses.

K₂Cr₂O₇ [] mg/L	Cores em K₂Cr₂O₇	Cores em Pt-Co	T calculado	T tabelado	p = 0,05
3	16	15	-2,89	2,22	0,80E-2
10	53	50	-1,70	2,22	0,50E-1
20	103	100	-3,21	2,22	0,21E-2
30	156	150	-2,66	2,22	2,37E-2
50	260	250	10,42	2,22	1,62E-16

O teste *t* também foi realizado com o nível de confiança de 90% para os valores de cor mais elevados, devido o aumento na variação da cor em relação ao método padrão Pt-Co. E com isso ficou comprovado que o método é robusto, compatível e as variações apresentadas confirmaram que elas podem ser utilizadas com uma tolerância de 10% no valor final da Cor, sendo que na prática é aceitável uma tolerância de até 20%, conforme indicado pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1999; 2012).

Com o auxílio do software OriginPro 8.0 foi elaborado os gráficos em *box plot* para melhor visualizar as variações entre os métodos K₂Cr₂O₇ e Pt-Co.





Com a análise dos gráficos em *Box Plot* observam-se as variações, nos valores de Cor, que já eram previstas e comprova a necessidade de manter uma tolerância de 10% no valor final da Cor.

Diante de todos os estudos apresentados comprova-se a robustez do novo método de quantificação da Cor de água, visto que, o mesmo apresenta intercambialidade com o método padrão Pt-Co.

ANEXO E – METODOLOGIA DE PREPARO DA SOLUÇÃO DE DICROMATO DE POTÁSSIO ($K_2Cr_2O_7$)

1- MATERIAL

- ✓ Balança analítica (Max. 220g e d=0,1mg);
- ✓ 1 Balão volumétrico de 500 mL;
- ✓ 1 Balão volumétrico de 50 mL;
- ✓ 5 Balão volumétrico de 25 mL;
- ✓ Espectrofotômetro de UV com cubeta de 10, 20 e 50 mm;
- ✓ Forno mufla;
- ✓ Pipeta automática (10 a 1000 μ L).

2- REAGENTES

- ✓ Todas as soluções são preparadas utilizando água desionizada (resistividade 18,2 $M\Omega.cm$).
- ✓ Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, Merck PA;
- ✓ Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$) sal, Merck PA.

3- PURIFICAÇÃO DO DICROMATO

Para garantir a exatidão na massa do dicromato de potássio e certificar-se que o mesmo não contém umidade, é necessário que seja pesado uma quantidade conhecida do sal e levá-lo à mufla a 150 °C por 2 horas. Após retirá-lo da mufla, deixar em um dessecador até atingir temperatura ambiente. Pesa-se novamente, caso ocorra mudança na massa inicial, repetir o procedimento até obter peso constante.

4- CALIBRAÇÃO

Para a garantia de medições de volumes mais exatos é essencial que antes do preparo das soluções seja feita a aferição das vidrarias e equipamentos a serem utilizados.

5- AFERIÇÃO DO ESPECTROFOTÔMETRO

Para aferição do espectrofotômetro recomenda-se proceder conforme indicado na SRM 935^a NIST publicação especial 260-54. Preparar as soluções entre 20 a 200 mg L^{-1} de $K_2Cr_2O_7$ e fazer as respectivas leituras nos comprimentos de onda como exposto na Tabela1 e realizar varredura para obtenção de espectros como mostrado na Figura 1.

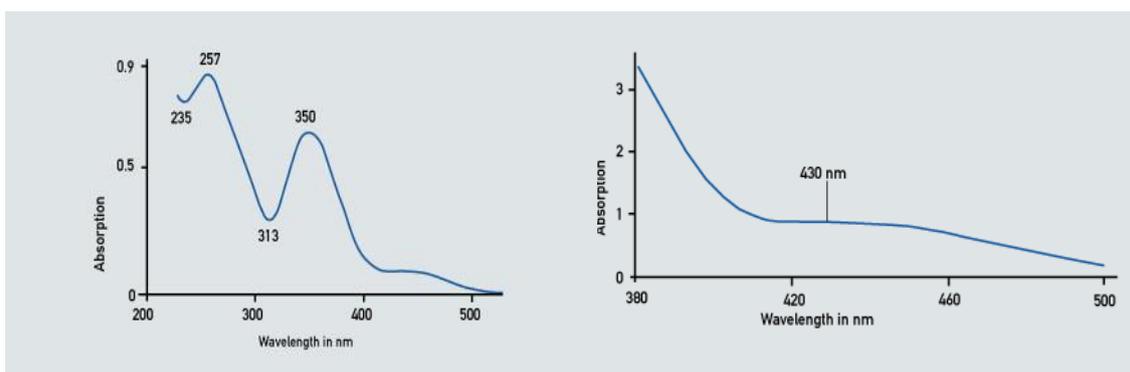
Figura 1: Espectros de calibração do UV/VIS com solução de $K_2Cr_2O_7$

Tabela1: comprimentos de onda para calibração do espectrofotômetro com solução de 60 mg L^{-1} de $K_2Cr_2O_7$

Comprimento de onda (nm)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Média
315nm				
320nm				
325 nm				
330 nm				
335 nm				
340 nm				
345 nm				
350 nm				
355 nm				
360 nm				
365 nm				
370 nm				
375 nm				
380 nm				
385 nm				
390 nm				
395 nm				

6- PROCEDIMENTO

5.1 Solução de H_2SO_4 a $0,005 \text{ mol L}^{-1}$



Dilui-se 136,0 μL do ácido concentrado (98% Merck PA) com água desionizada avolumando o balão volumétrico de 500mL até o menisco.

5.2 Solução de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (solução estoque)

Dissolvem 0,125 g do sal puro de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ em solução de ácido sulfúrico e completa-se o volume do balão de 50 mL até o menisco (obtendo-se a solução estoque de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 0,009 M). A partir da solução estoque, preparam-se cinco (5) soluções de concentrações diferentes (1 mg L^{-1} ; 2 mg L^{-1} ; 4 mg L^{-1} ; 8 mg L^{-1} e 10 mg L^{-1}) em balões volumétricos de 25 mL, usando como diluente a solução de H_2SO_4 . Após o preparo das soluções, devem ser realizadas as respectivas leituras no espectrofotômetro UV-vis ($\lambda=450\text{nm}$) em ordem crescente de concentração, utilizando branco de água destilada e cubetas de 10, 20 ou 50 mm. E, por conseguinte, traçar a curva de calibração (abs. vs conc.) e realizar as leituras das amostras de águas. Com a função inversa da equação gerada pela curva de calibração (gráfico 1), como mostrado na equação 1, será calculada a concentração em $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ das respectivas amostras. O resultado desse cálculo deverá ser aplicado na equação 2 para a devida quantificação em Pt/Co. Para facilitar os cálculos e o tratamento dos dados recomenda-se o uso de planilhas, como as do software Excel e OriginLab.

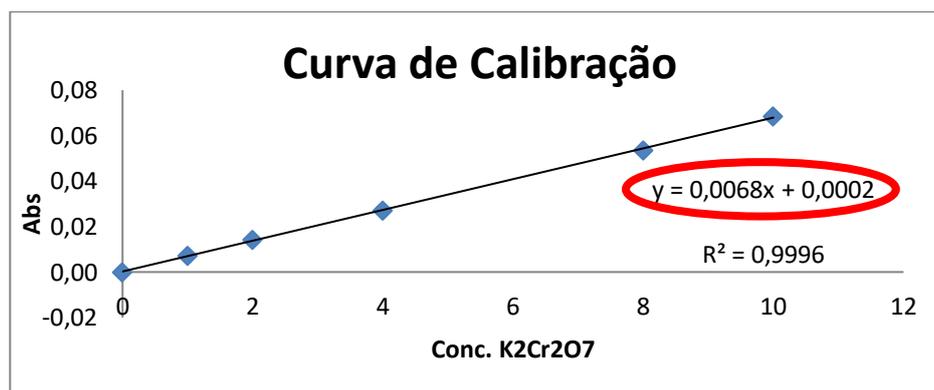


Gráfico 1: Exemplo de uma curva de calibração usando cubeta de 50mm.

Com a equação linear gerada no gráfico da curva de calibração, usa-se a inversa da função para determinar a concentração em $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ da amostra analisada, como exposto na equação 1.

$$Y = \frac{x+b}{a} \quad \Rightarrow \quad Y = 0,0068x + 0,0002 \quad \Rightarrow \quad Y = \frac{x+0,0002}{0,0068} \quad \text{equação}$$

(1)

Onde:

Y = concentração em $K_2Cr_2O_7$;
 a = coef. angular da curva de calibração;
 x = Absorbância das amostras
 b = coef. linear da curva de calibração.

O resultado da equação 1 aplica-se na equação 2 que é o fator de conversão para Pt/Co:

$$\mathbf{X = 5,2Y} \qquad \mathbf{equação (2)}$$

Onde: X = conversão obtida em Pt/Co e Y = concentração em $K_2Cr_2O_7$

