

Validação de método espectrofotométrico para determinação do teor de H₂O₂ em água de abastecimento público**Validation of the spectrophotometric method for determining the content of H₂O₂ in public supply water**

DOI:10.34117/bjdv6n8-560

Recebimento dos originais: 08/07/2020

Aceitação para publicação: 25/08/2020

Railson de Oliveira Ramos

Doutorando em Química Analítica pela Universidade Federal da Paraíba– UFPB
Endereço: Av. Jardim Cidade Universitária, Bancários - João Pessoa – PB, 58051-090
E-mail: railson_uepb@outlook.com

Maria Virgínia da Conceição Albuquerque

Doutoranda em Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB
Endereço: Av. Juvêncio Arruda, s/n - Universitário, Campina Grande - PB, 58109-790
E-mail: virginia.albuquerque@yahoo.com.br

Amanda da Silva Barbosa Cartaxo

Doutoranda em Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB
E-mail: Av. Juvêncio Arruda, s/n - Universitário, Campina Grande - PB, 58109-790
E-mail: amandauepbio@hotmail.com

Maria Célia Cavalcante de Paula e Silva

Doutoranda em Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB
Endereço: Av. Juvêncio Arruda, s/n - Universitário, Campina Grande - PB, 58109-790
E-mail: celia_romulo@hotmail.com

Josivaldo Rodrigues Sátiro

Mestrando em Engenharia Civil com ênfase em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos pela Universidade Federal de Pernambuco– UFPE
Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901
E-mail: josivaldosatiroo@gmail.com

Valderi Duarte Leite

Doutor em Hidráulica e Saneamento pela USP, Professor Associado B do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB
Endereço: Av. Juvêncio Arruda, s/n - Universitário, Campina Grande - PB, 58109-790
E-mail: mangabeiraleite@gmail.com

Mário César Ugulino De Araújo

Doutor em Química pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

Professor Titular do Departamento de Química - Centro de Ciências e Tecnologias da
Universidade Federal da Paraíba- UFPB
Endereço: Av. Jardim Cidade Universitária, Bancários - João Pessoa – PB, 58051-090
E-mail: mariougulino@gmail.com

Wilton Silva Lopes

Doutor em Química pela Universidade Federal da Paraíba – UFPB
Professor Associado B do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental do Centro de
Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB
Endereço: Av. Juvêncio Arruda, s/n - Universitário, Campina Grande - PB, 58109-790
E-mail: wiltonuepb@gmail.com

RESUMO

Neste estudo, foi validado um método espectrofotométrico para determinação do teor de peróxido de hidrogênio em águas de abastecimento público. A reação colorimétrica foi baseada na reação entre H_2O_2 e Titanium (IV) bis (ammonium lactato) dihydroxide solution, que em meio aquoso formam um complexo com absorvância máxima em 410 nm. O método desenvolvido atendeu todos os parâmetros preconizados pela Resolução nº 833 de 2003 da ANVISA, com R^2 0,99, coeficiente de variação (precisão) 3,7%, exatidão 97%, limite de quantificação de $0,65 \text{ mg L}^{-1}$ e limite de detecção de $2,17 \text{ mg L}^{-1}$, podendo ser aplicado para determinação de peróxido de hidrogênio residual, contribuindo para outras pesquisas e aplicações de tratamento de água que utilizem peróxido de hidrogênio como agente de desinfecção.

Palavras-chave: Peroxido de Hidrogênio residual, validação de método, espectrofotometria, água potável.

ABSTRACT

In this study, a spectrophotometric method for determining the hydrogen peroxide content in public water supplies was validated. The colorimetric reaction was based on the reaction between H_2O_2 and Titanium (IV) bis (ammonium lactate) dihydroxide solution, which in an aqueous medium form a complex with maximum absorbance at 410 nm. The method developed met all parameters recommended by ANVISA Resolution No. 833 of 2003, with R^2 0.99, variation coefficient (precision) 3.7%, accuracy 97%, quantification limit of 0.65 mg L^{-1} and detection limit of 2.17 mg L^{-1} , which can be applied to determine residual hydrogen peroxide, contributing to other research and water treatment applications that use hydrogen peroxide as a disinfecting agent.

Keywords: Residual hydrogen peroxide, method validation, spectrophotometry, drinking water.

1 INTRODUÇÃO

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é umas das substancias mais utilizadas em processos de oxidação para tratamento de águas e efluentes. Diversos processos oxidativos avançados como a fotoperoxidação de H_2O_2 , Fenton, Foto-fenton, dentre outros, empregam o peróxido de hidrogênio como reagente precursor. Este composto é um agente oxidante forte, com potencial padrão de 1,80 e 0,87 V, respectivamente, para pH 0 e 14. No entanto, o peróxido de hidrogênio sozinho não

possibilita a oxidação de compostos poluentes, sendo necessário combiná-lo com outros agentes químicos e físicos para geração de radicais hidroxila. Esses agentes incluem o íon ferroso, o ozônio e a radiação UV (Aoudj et al., 2018). O uso do peróxido de hidrogênio como oxidante possui inúmeras vantagens sobre outros tratamentos químicos como aqueles que utilizam cloro e ozônio: é comercialmente disponível, possui estabilidade térmica, pode ser estocado on-site, apresenta solubilidade infinita em água e não gera subprodutos em processos de desinfecção, como organoclorados, por exemplo (Ramos, 2020).

O monitoramento dos níveis deste composto é indispensável, uma vez que, a presença de peróxido residual pode causar sérios danos ao meio ambiente, no caso de águas residuais tratadas, ou sérios danos a saúde da população, no caso de água destinada ao abastecimento público. Para que uma metodologia analítica possa ser considerada segura, ela deve atender aos critérios de aceitação descritos por entidades reguladoras, permitindo uma correta interpretação dos resultados analíticos (Skoog, 2014). A validação de um método analítico é definida como um processo segundo o qual se estabelece, através de ensaios laboratoriais, que o desempenho do método obedece aos requisitos da aplicação analítica. É um aspecto crucial para garantir a qualidade analítica desse método e implementar um sistema de controle de qualidade em qualquer laboratório analítico.

A ANVISA, em sua resolução nº 899, de 29 de maio de 2003, e o INMETRO, no documento DOQCGCRE- 008, de 2006, citam os requisitos mínimos para a validação de um método analítico. Os parâmetros considerados os mais significativos para a realização de validação de método são linearidade, precisão, exatidão e limiares analíticos dos quais fazem parte, o limite de quantificação (LQ) e o limite de detecção (LD) (Skoog, 2014).

1.1 LINEARIDADE

É um parâmetro que indica a proporcionalidade entre a concentração do analito e o sinal monitorado, dentro de um intervalo especificado. Esta relação é obtida através de uma expressão matemática bem definida, que relaciona concentração do analito na amostra com uma resposta do sistema de detecção, podendo ser expressa matematicamente por uma equação de primeiro grau, conforme a Equação 1.

$$y = ax + b \text{ Equação 1}$$

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

y (coeficiente linear). Para espectroscopia UV-vis, a linearidade pode ser mensurada pela relação entre absorvância e concentração dos padrões de calibração. É importante ressaltar, que quando maior o coeficiente angular obtido, maior será a sensibilidade do método em relação ao analito em estudo. A Resolução nº 899 da ANVISA recomenda que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes. O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação deve ser = 0,98.

1.2 PRECISÃO

Este parâmetro pode ser avaliado de duas formas: através da repetitividade e da reprodutibilidade. Assim, a repetitividade expressa à precisão durante o processamento de uma sequência analítica num curto período de tempo, no mesmo laboratório, com a mesma instrumentação e condições de operação, e pelo mesmo analista. Por outro lado, a reprodutibilidade reflete a precisão em dias diferentes, podendo implicar diferentes analistas, equipamentos e reagentes (LEITE, 2013).

A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas através do desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), segundo a **Equação 2**.

$$CV\% = \frac{DP}{CMd} \times 100\% \text{ Equação 2}$$

Em que: DP é o desvio padrão e CMD; a concentração média determinada. O valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 20% (ANVISA, 2003; INMETRO, 2006). Este é um importante parâmetro porque possibilita decidir se o método analítico é confiável ou não para o objetivo da análise

1.3 EXATIDÃO

A resolução nº 899 da ANVISA determina que este parâmetro deve ser verificado a partir de, no mínimo, 9 (nove) determinações contemplando o intervalo linear do procedimento, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada. A exatidão é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente conforme a **Equação 3**:

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100\% \text{ Equação 3}$$

1.4 LIMIARES ANALÍTICOS

De acordo com a resolução nº 899 da ANVISA, em métodos instrumentais, a estimativa do limite de detecção pode ser feita com base na relação entre desvio padrão e coeficiente angular da curva de calibração, e calculado através da **Equação 4**.

$$LD = DP_a \times 3/CA \text{ Equação 4}$$

Em que: DP_a é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações próximas ao suposto limite de quantificação. CA é o coeficiente angular da curva de calibração

O limite de quantificação é estabelecido por meio da análise de soluções contendo concentrações decrescentes do analito até o menor nível determinável com precisão e exatidão aceitáveis. Pode ser expresso pela **Equação 5**.

$$LQ = DP_a \times 10/CA \text{ Equação 5}$$

Em que: DP_a é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do analito próximas ao suposto limite de quantificação. CA é o coeficiente angular da curva de calibração (ANVISA, 2003).

2 METODOLOGIA

O procedimento experimental para construção da curva analítica compreendeu o preparo de padrões com diferentes concentrações de H_2O_2 em água ultra-pura. Utilizou-se como indicador colorimétrico o Titanium (IV) bis (ammonium lactato) dihydroxide solution, da Sigma-Adrich, que ao reagir com o peróxido de hidrogênio em meio aquoso forma o ácido titânico, um sal amarelo que absorve no comprimento de onda de 410 nm. As concentrações dos padrões de calibração foram 1,25, 2,5, 5, 10, 20 e 50 $mg L^{-1}$.

O preparo de amostras para registro da absorbância envolveu a adição 0,3 ml de Titanium (IV) bis (ammonium lactato) dihydroxide em 3 ml do padrão ou amostra contendo H_2O_2 . Os padrões ou amostra foram então homogeneizados em um vortex a 300 RPM e, após 10 minutos, realizaram-se as leituras de absorbância no espectrofotômetro da FEMTO, modelo 600 plus.

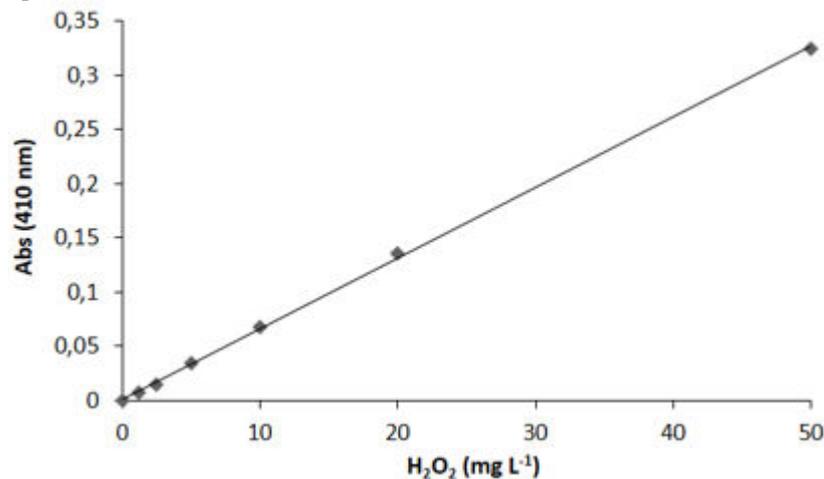
Todos as determinações das figuras de mérito seguiram as preconizações ANVISA e INMETRO. A determinação da precisão foi realizada através do método da repetitividade (precisão intra-corrída). Para análise de exatidão, utilizou-se como matriz a Água de abastecimento público da cidade de Campina Grande, que é captada no açude Epitácio Pessoa, tratada e distribuída pela Companhia de Água e Esgotos do Estado da Paraíba. Três amostras contendo concentração de 1,25, 5 e 50 mg L⁻¹ de H₂O₂ foram preparadas utilizando a água matriz.

3 RESULTADOS

3.1 LINEARIDADE

Na **Figura 1** é apresentada a curva analítica obtida para determinação da concentração de H₂O₂ pelo método proposto. O valor de absorbância plotado corresponde ao valor médio para três leituras.

Figura 1- Curva de analítica para determinação do teor de H₂O₂ em águas. A Equação 6 corresponde a regressão pelo método dos mínimos quadrados.



$$y = 0,0065x + 0,0008 \text{ Equação 6.}$$

Foi obtido um coeficiente de correlação linear de 0,999, que atende as recomendações da Resolução n° 833 de 2003 da ANVISA.

3.2 PRECISÃO

Tabela 1: Valores de concentração, absorvância, média das absorvâncias, desvio padrão e coeficiente de variação utilizada na análise da precisão em espectrofotometria.

Concentração (mg L ⁻¹)	Absorvância			Média	Desvio Padrão	CV %
	1°	2°	3°			
0	0	0	0	0	0,0000	0
1,25	0,007	0,005	0,006	0,006	0,0006	8,7
2,5	0,014	0,014	0,017	0,015	0,0017	11,5
5	0,034	0,034	0,035	0,0343	0,0006	1,7
10	0,067	0,068	0,069	0,068	0,0010	1,5
20	0,137	0,135	0,136	0,136	0,0010	0,7
50	0,32	0,325	0,33	0,325	0,0050	1,5

Verificou-se que o valor de CV para cada ponto da reta, determinados por meio da **Equação 2**, obedeceram ao limite recomendados pela Resolução n° 833 de 2003 da ANVISA, que deve ser menor que 20%. O CV médio, que equivale a 3,7 % também atende as recomendações desta resolução.

3.3 LIMITES ANALÍTICOS

O desvio padrão médio obtido pela **Tabela 1** é de 0,0014, e o coeficiente angular obtido na pela curva de calibração da **Figura 1** é de 0,0065. O limite de detecção e de quantificação foram obtidos através das Equações 4 e 5, respectivamente.

Segue: (LD = $0,0014 \times 3/0,0065$), LD = 0,65 mg L⁻¹; (LQ = $0,0014 \times 10/0,0065$), LQ= 2,17 mg L⁻¹. Deste modo, o limite de detecção foi de 0,65 mg/L e o de quantificação de LQ= 2,17 mg L⁻¹. Sobrinho (2008) na validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de Bauhinia cheilantha (Bongard) Steudel, obteve valores LD e LQ de 0,75 e 2,51 mg L⁻¹, respectivamente. Moura (2008), na validação de método analítico espectrofotométrico UV para determinação de ácido úsnico em lipossomas, obteve LD e LQ de 0,34 e 1,13 mg L⁻¹, respectivamente. Desta forma, é possível observar que os valores obtidos de LQ e LD encontrados são próximos aos descritos na literatura para métodos espectrofotométricos.

3.4 EXATIDÃO

A **Tabela 2** a seguir apresenta os valores calculados de concentração, os valores experimentais de concentração obtidos, a média, o desvio padrão e os valores de exatidão calculados.

Tabela 2: Valores calculados de concentração, os valores experimentais de concentração obtidos, média, desvio padrão e os valores de exatidão para teste de H₂O₂ residual.

Concentração Teórica (mg L ⁻¹)	Absorbância				Concentração experimental (mg L ⁻¹)	Exatidão %
	1°	2°	3°	Média		
1,25	0,008	0,008	0,008	0,008	1,108	88,62
5	0,034	0,035	0,036	0,035	5,262	105,23
50	0,31	0,32	0,31	0,313	48,082	96,16

Os valores da exatidão foram obtidos através da **Equação 3**. A média da exatidão referente às três concentrações é de 97 %, e este resultado indica o quanto os valores experimentais estão próximos dos valores teóricos.

4 CONCLUSÃO

A análise de mérito demonstrou que o método desenvolvido atende todas as preconizações estabelecidas pela ANVISA/INMETRO, para os parâmetros de validação determinados. Foram obtidos coeficiente de correlação de 0,99, coeficiente de variação de 3,7%, limite de detecção de 0,65 mg L⁻¹ e de quantificação de LQ= 2,17 mg L⁻¹ e exatidão de 97 %. O desenvolvimento do método é uma importante contribuição ambientes de pesquisas e aplicações de tratamento de água que utilizem peróxido de hidrogênio como agente de desinfecção.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil., Resolução RE n° 899 de 29/05/2003, Brasília (DF), 2003.

Aoudj, S., Khelifa, A., Zemmouri, H., Hamadas, I., Yatoui, S., Zabchi, N., & Drouiche, N. (2018). Degradação de EDTA em águas residuais contendo H₂O₂ por foto-peroxidação eletroquímica. *Chemosphere*, 208, 984–990.

IKEHATA, K.; EL-DIN, M. G. Aqueous pesticide degradation by hydrogen peroxide/ultraviolet irradiation and Fenton-type advanced oxidation processes: a review. *Journal of Environmental Engineering and Science*, v. 5, n. 2, p.81-135, 2006.

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

LEITE, M., Desenvolvimento e Optimização de uma Metodologia Analítica para a Determinação de α - e β - Amanitina em urina humana por LC-MS/MS. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências Tecnológicas da Universidade de Coimbra. 1-136. 2011.

Ramos, RO, Albuquerque, MVC, Lopes, WS, Sousa, JT, & Leite, VD (2020). Degradação do índigo carmim por foto-Fenton, Fenton, H₂O₂ / UV-C e UV-C direto: Comparação de vias, produtos e cinética. *Journal of Water Process Engineering*, 37, 101535.

Skoog, DA, Holler, FJ e West, DM, (2014). *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 9^a ed. Orlanda, Flórida, EUA: Saunders College Publications.