

1º SEMESTRE DE 2024

Prof. Dr. Davi Gasparini Fernandes Cunha

**Estagiários PAE (monitores)**

João Miguel Merces Bega (joamiguelbega@gmail.com), José Antonio Calvetty Ayllón (ja.calvetty@usp.br)

**Técnica de laboratório**

Juliana Gonçalves dos Santos Custódio (jucust@sc.usp.br)

## **AULA PRÁTICA 4: “Espectrofotometria para determinação de sulfetos, diferentes formas de nitrogênio, cloretos, sulfatos e fluoretos”**

**Entrega do questionário: 06/06/2024 (Turma 1) e 13/06/2024 (Turma 2)**

**Objetivos:** Sulfetos, diferentes formas de nitrogênio (como nitrito e nitrogênio amoniacal), cloretos, sulfatos e fluoretos são variáveis importantes para a caracterização e controle da qualidade das águas e efluentes. Assim, os objetivos principais da aula são: 1) familiarizar os alunos com os princípios da espectrofotometria e a possibilidade de realizar varredura de comprimentos de onda ( $\lambda$ ) no espectrofotômetro com vistas a escolher o  $\lambda$  mais adequado para procedimentos analíticos; 2) determinar as concentrações de sulfeto, nitrito e nitrogênio amoniacal em amostras de esgoto sanitário, curso d'água e efluente industrial; 3) determinar as concentrações de sulfatos, cloretos e fluoretos em amostras de água engarrafada.

### **1 Escolher o comprimento de onda mais adequado para determinação de sulfetos por espectrofotometria**

A espectrofotometria é uma técnica amplamente utilizada para análises laboratoriais qualitativas e quantitativas. Para análise da qualidade das águas, as variáveis mais comumente determinadas por esse método são cor, ferro, manganês, fósforo, nitrito, nitrato e DQO.

Os métodos espectrofotométricos baseiam-se na interação entre a substância química (variável) a ser quantificada e a energia radiante. A substância a ser analisada absorve essa energia e, com base na intensidade de luz incidente e na intensidade de luz transmitida, após atravessar a solução, é possível determinar a concentração da substância de interesse. Os tipos mais aplicados de energia radiante são: ultravioleta (comprimento de onda entre 190-380 nm), visível (380-780 nm) e infravermelho (2.500-16.000 nm). A absorvância pode ser entendida como a capacidade dos materiais em absorver radiações em comprimentos de onda específicos.

A Lei de Lambert-Beer resultou da combinação de dois princípios:

- Princípio de Lambert (1729) – a absorvância é linear e diretamente proporcional ao caminho percorrido pela energia radiante, ou seja, a espessura da cubeta utilizada no espectrofotômetro;
- Princípio de Beer (1852) – a absorvância é diretamente proporcional à concentração da substância de interesse na solução.

Assim, pode-se definir absorvância e transmitância da solução:

$$A = (I_0/I) \quad T = (I/I_0)$$

*A: absorvância da solução; T: transmitância da solução; I<sub>0</sub>: intensidade de luz incidente; I: intensidade de luz transmitida*

**Método:** Varredura de comprimentos de onda no espectrofotômetro HACH

**Material:**

- Béquer
- Pipeta volumétrica
- Pisseta
- Proveta com capacidade para 25 mL com tampa
- Espectrofotômetro HACH
- Reagente Sulfeto 1 (*sulfide 1 reagent*)
- Reagente Sulfeto 2 (*sulfide 2 reagent*)

**Procedimentos:**

Para a amostra de esgoto sanitário:

- Usar, como branco, volume de 25 mL de água deionizada em proveta de 25 mL com tampa;
- Transferir 25 mL da amostra para proveta de 25 mL com tampa;
- Tanto para a amostra como para o branco:
  - Adicionar 1 mL do Reagente Sulfeto 1 e misturar;
  - Adicionar 1 mL do Reagente Sulfeto 2 e misturar;
  - Aguardar 5 minutos para que ocorra reação química e desenvolvimento de cor;
- Efetuar a leitura de absorvância em diferentes comprimentos de onda, conforme Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores de absorvância em diferentes comprimentos de onda

Amostra de esgoto sanitário	Absorvância nos diferentes comprimentos de onda					
	605 nm	625 nm	645 nm	665 nm	685 nm	705 nm
Com reagentes						

**2****Determinar a concentração de sulfetos nas amostras****Método: HACH 2500 (Programa 690 – Sulfide)****Procedimentos:**

Para cada uma das amostras (esgoto sanitário, curso d'água e efluente industrial):

- Usar, como branco, volume de 25 mL de água deionizada em proveta de 25 mL com tampa;
- Transferir 25 mL da amostra para proveta de 25 mL com tampa;
- Tanto para a amostra como para o branco:
  - Adicionar 1 mL do Reagente Sulfeto 1 e misturar;
  - Adicionar 1 mL do Reagente Sulfeto 2 e misturar;
  - Aguardar 5 minutos para que ocorra reação química e desenvolvimento de cor;
- Ler no espectrofotômetro e anotar o resultado em  $\mu\text{g S}^{2-}/\text{L}$  (Tabela 2).

**Tabela 2.** Concentração de sulfetos ( $\mu\text{g S}^{2-}/\text{L}$ ) na amostra

Matriz/amostra	Diluição	Concentração de sulfetos ( $\mu\text{g S}^{2-}/\text{L}$ )	Concentração de sulfetos corrigida ( $\mu\text{g S}^{2-}/\text{L}$ )

**3****Determinar as concentrações de nitrogênio amoniacal e nitrito nas amostras ambientais****Nitrogênio amoniacal - Método: HACH 2500 (Método 8038, Programa 380) (0,02 a 2,50 mg  $\text{NH}_3\text{-N/L}$ )****Procedimentos:**

Para cada uma das amostras (esgoto sanitário, curso d'água e efluente industrial):

- Em uma proveta, transferir 25 mL da amostra a ser analisada;
- Para o branco, em uma proveta transferir 25 mL de água deionizada;

Tanto para a amostra como para o branco, proceder como segue:

- Adicionar três gotas do Mineral Stabilizer. Agitar para homogeneizar;
- Adicionar três gotas do Polivinyl Alcohol. Agitar para homogeneizar;
- Adicionar 1 mL do Nessler Reagent. Agitar para homogeneizar;
- Aguardar tempo de reação de um minuto para fazer a leitura;
- Transferir o volume necessário da proveta que está com o branco para a cubeta e limpar a sua superfície com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar ZERO;
- Transferir o volume necessário da proveta que está com a amostra para a cubeta e limpar a sua superfície com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar READ;

- Ler no espectrofotômetro e anotar o resultado em mg NH<sub>3</sub>-N/L (Tabela 3).

**Tabela 3.** Concentrações de nitrogênio amoniacal (mg NH<sub>3</sub>-N/L) e nitrito (mg NO<sub>2</sub>-N/L) nas amostras

Matriz/ amostra	Diluição	Concentração de nitrogênio amoniacal (mg NH <sub>3</sub> -N/L)	Concentração de nitrogênio amoniacal corrigida (mg NH <sub>3</sub> -N/L)	Concentração de nitrito (mg NO <sub>2</sub> -N/L)	Concentração de nitrito corrigida (mg NO <sub>2</sub> -N/L)

**Nitrito - Método: HACH 2500 (Programa 956) (0,01 a 0,10 mg NO<sub>2</sub>-N/L)**

**Procedimentos:**

Para cada uma das amostras (esgoto sanitário, curso d'água e efluente industrial):

- Em uma proveta, transferir 25 mL da amostra a ser analisada;
- Para o branco, em uma proveta transferir 25 mL de água deionizada;

Tanto para a amostra como para o branco, proceder como segue:

- Adicionar 0,5 mL da solução de Sulfanilamida. Agitar para homogeneizar. Esperar cinco minutos;
- Adicionar 0,5 mL de Solução de N-Naftil. Agitar para homogeneizar. Esperar 10 minutos;
- Transferir o volume necessário da proveta que está com o branco para a cubeta e limpar a sua superfície com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar ZERO;
- Transferir o volume necessário da proveta que está com a amostra para a cubeta e limpar a sua superfície com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar READ;
- Ler no espectrofotômetro e anotar o resultado em mg NO<sub>2</sub>-N/L (Tabela 3).

## **4 Determinar as concentrações de cloretos em amostras de água engarrafada**

**Método: HACH 2500 (Método 9113, Programa 70) (0,1 a 25,0 mg/L)**

**Procedimentos:**

- Em uma proveta, transferir 25 mL da amostra a ser analisada;
- Para o branco, em uma proveta transferir 25 mL de água deionizada;

Tanto para a amostra como para o branco, proceder como segue:

- Adicionar 2 mL da solução de Tiocianato de Mercúrio na amostra. Agitar para homogeneizar;
- Adicionar 1 mL da solução de Íon Ferrico. Agitar para homogeneizar;
- Aguardar o tempo de reação de dois minutos para leitura;
- Transferir o volume necessário da proveta que está com o branco para a cubeta e limpar a sua superfície com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar ZERO;

- Transferir o volume necessário da proveta que está com a amostra para a cubeta e limpar a sua superfície com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar READ;
- Ler no espectrofotômetro e anotar o resultado em mg Cl<sup>-</sup>/L (Tabela 4).

**Tabela 4.** Concentrações de cloretos (mg Cl<sup>-</sup>/L) nas amostras

Matriz/amostra	Diluição	Concentração de cloretos (mg Cl <sup>-</sup> /L)	Concentração de cloretos corrigida (mg Cl <sup>-</sup> /L)

## 5 Determinar as concentrações de sulfatos em amostras de água engarrafada

**Método:** HACH 2500 (Método 8051, Programa 680) (2 a 70 mg SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/L)

### Procedimentos:

- Transferir 10 mL da amostra a ser analisada com o auxílio de uma pipeta para a cubeta de leitura do espectrofotômetro;
- Transferir 10 mL de água deionizada para o branco com o auxílio de uma pipeta para a cubeta de leitura do espectrofotômetro;

Para a amostra a ser analisada proceder como segue:

- Adicionar o conteúdo total do sachê (pó) de Sulfa Ver 4 na amostra. Agitar até dissolver totalmente o reagente;
- Aguardar o tempo de reação de cinco minutos para leitura;
- Após o tempo de reação, pegar a cubeta que está com o branco e limpar a sua superfície com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar ZERO;
- Limpar a cubeta que está com a amostra a ser analisada com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar READ;
- Ler no espectrofotômetro e anotar o resultado em mg SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/L (Tabela 5)

**Tabela 5.** Concentrações de sulfatos (mg SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/L) nas amostras

Matriz/amostra	Diluição	Concentração de sulfatos (mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> /L)	Concentração de sulfatos corrigida (mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> /L)

## 6 Determinar as concentrações de fluoretos em amostras de água engarrafada

**Método:** HACH 2500 (Método 8029, Programa 190) (0,02 a 2,00 mg F<sup>-</sup>/L)

### Procedimentos:

- Transferir 10 mL da amostra a ser analisada com o auxílio de uma pipeta para um béquer;

- Transferir 10 mL de água deionizada para o branco com o auxílio de uma pipeta para a cubeta de leitura do espectrofotômetro;

Tanto para a amostra a ser utilizada como para o branco, proceder como segue:

- Adicionar com o auxílio de uma pipeta 1 mL da solução de SPADNS a cada um dos béqueres (amostra e branco). Agitar com cuidado para homogeneizar;

- Aguardar o tempo de reação de um minuto para leitura;

- Após o tempo de reação, transferir a amostra do béquer onde está o branco para a cubeta do espectrofotômetro e limpar a sua superfície com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar ZERO;

- Transferir a amostra do béquer onde está a amostra a ser analisada para a cubeta do espectrofotômetro e limpar a sua superfície com papel higiênico absorvente. Inserir a cubeta no espectrofotômetro na posição correta e pressionar READ;

- Ler no espectrofotômetro e anotar o resultado em mg F<sup>-</sup>/L (Tabela 6).

**Tabela 6.** Concentrações de fluoretos (mg F<sup>-</sup>/L) nas amostras

<b>Matriz/amostra</b>	<b>Diluição</b>	<b>Concentração de fluoretos (mg F<sup>-</sup>/L)</b>	<b>Concentração de fluoretos corrigida (mg F<sup>-</sup>/L)</b>

### Questionário

- Qual a importância das variáveis estudadas para a Engenharia Ambiental? Cite e explique aspectos de cada variável que estejam relacionados à qualidade das águas (superficiais ou subterrâneas) ou aos processos de tratamento de águas de abastecimento e águas residuárias.
- Compare as diferenças observadas entre os resultados de sulfetos, nitrito e nitrogênio amoniacal para as diferentes amostras ambientais (esgoto sanitário, curso d'água e efluente industrial).
- Em relação aos sulfetos, compare os resultados com a legislação ambiental federal. No caso do efluente industrial, caso as indústrias encaminhassem seu efluente a uma estação de tratamento para, entre outros benefícios, remover os sulfetos, qual deveria ser a eficiência de remoção (%) dessa variável para que não houvesse conflito com os Padrões de Emissão definidos pelo CONAMA?
- Compare as diferenças observadas entre os resultados de sulfatos, cloretos e fluoretos para as águas engarrafadas.