

## VALIDAÇÃO DO MÉTODO FENANTROLINA PARA DETERMINAÇÃO DE ÍON FERROSO EM EFLUENTE LÁCTEO POR ANÁLISE COMPARATIVA.

**R. F. S. Salazar<sup>1</sup>; J. S. Carrocci<sup>2</sup>; T. K. Andrade<sup>3</sup>; Marciel, R. F.<sup>4</sup>; Brandão, J. J.<sup>5</sup>; O. L. C. Guimarães<sup>6</sup>; H. J. Izário Filho<sup>7</sup>**

<sup>1,2,3,4,5,6,7</sup> - Departamento de Engenharia Química – Escola de Engenharia de Lorena Universidade de São Paulo (EEL - USP)  
Escola de Engenharia de Lorena, Campus I, s/nº. – CEP: 12.602-810 – Lorena – SP – Brasil

Telefone: (55-12)3159-5117 – Fax: (55-12)3152-1363 – E-mail: salazar@dequi.eel.usp.br

**Resumo-** A concentração de Fe em águas subterrâneas e fluviais pode variar de 0,1 a 12,0 mg L<sup>-1</sup> e sua concentração em águas residuárias industriais variam amplamente, principalmente em função da atividade fim de uma indústria. Em alguns setores, a exemplo das indústrias de polpa celulósica e de enlatados a água de processamento não deve conter traços deste elemento. Em todos os casos, as indústrias devem atender as normas ambientais que regulam o descarte de efluentes, sendo que no Brasil a norma que regula a destinação de resíduos líquidos é o CONAMA Nº 357 de 2005 que estabelece os níveis de tolerância para uma série de elementos inorgânicos e orgânicos e parâmetros físico-químicos. Concomitantemente surgem métodos que são mais adequados ou não para avaliação de certo parâmetro que se deseja investigar. No presente trabalho fez-se a otimização de metodologia para a determinação de íon ferroso em efluente lácteo. Através de análises estatísticas obtiveram-se valores percentuais de repetibilidade e reprodutibilidade metodológica iguais a 6,66 % e 15,98 %, respectivamente e, conseqüentemente, verificou-se que as análises estatísticas adotadas para estimar a robustez do método foram satisfatórias analiticamente.

**Palavras-chave:** íon ferroso; quimiometria; laticínios.

**Área do Conhecimento:** Química

### Introdução

Metais como chumbo, cádmio, arsênio, mercúrio e ferro são amplamente encontrados em águas de poços artesianos, águas residuárias industriais ou resíduos líquido de origem doméstica devido atividades antropogênicas ou ocorrência geológica (APHA-AWWA, 1998). Entretanto qualquer quantidade excessiva destes elementos prejudica o seu uso inviabilizando ou restringindo o consumo (BRAILE e CAVALCANTI, 1993).

Com relação à presença de ferro em águas residuárias industriais ou domésticas, a principal objeção diz respeito ao problema de cor que os sais ferrosos conferem à água (BRAILE e CAVALCANTI, 1993). A solubilidade do íon ferroso é controlada pela concentração de carbonato. O fato das águas subterrâneas serem frequentemente anóxica condiciona este elemento à forma de íon ferroso, porém, ao contato com ar, este é oxidado a íon férrico e pode ser hidrolisado a óxido férrico hidratado de cor vermelha (APHA-AWWA, 1998). Elevadas concentrações de ferro pode causar manchas em encanamentos, tecidos de vestuários e em utensílios domésticos além de promover, em alguns casos, mudança no sabor e cor dos alimentos (APHA-AWWA, 1998).

Em fábricas de produção de polpa celulósica e alimentos em conserva não são toleráveis quaisquer vestígios de ferro (BRAILE e CAVALCANTI, 1993). Conforme a Environmental Protection Agency (EPA), o teor de ferro em água potável padrão não deve ser superior a 0,3 mg L<sup>-1</sup>, enquanto a United Nation for Food and Agriculture Organization (FAO) recomenda teor de ferro em água de irrigação por volta de 5,0 mg L<sup>-1</sup>. No Brasil o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece, através da resolução Nº 357, que os níveis de ferro dissolvido não devam ser superiores a 0,3 mg L<sup>-1</sup> em águas doce, salina e salobra (todas Classe 1) e lançamento de efluente não deve ultrapassar a concentração de 15,0 mg L<sup>-1</sup> (CONAMA, 2005). Em função das diversas exigências que um aquífero deve atender para determinadas atividades, bem como as normas que regulamentam as características físico-químicas para o descarte de efluentes, se faz necessário um conjunto de ferramentas metodológicas que possuam alto grau de sensibilidade, estabilidade e que gerem pouco ou quase nenhum resíduo danoso ao meio ambiente; bem como o uso de ferramentas estatísticas para a avaliação da eficiência do método (SALAZAR, 2008)

Neste contexto buscou-se avaliar a estabilidade e repetibilidade do método de fenantrolina (norma 3500 – Fe B, Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater) para a determinação de íon ferroso em efluente do setor laticinista.

## Materiais e Métodos

O ferro contido numa solução é reduzido a íon ferroso pelo aquecimento com ácido e hidroxilamina e, posteriormente é tratada com fenantrolina a pH entre 3,2 a 3,3. Para cada três moléculas de fenantrolina ocorre a quelação com um íon ferroso resultando em um complexo vermelho - alaranjado (APHA-AWWA, 1998; SALAZAR, 2008). Para verificar a eficiência do método fez-se análise estatística por sistema de medição por variável cruzada, que consiste em verificar a repetibilidade e reprodutibilidade do método empregando-se diferentes analistas e observando a interação entre estes, a metodologia e amostragem e, conseqüentemente, se a ferramenta estatística adotada é robusta à influência do ruído (variáveis aleatórias) e tender à normalidade (BARROS NETO *et al*, 2003). O desvio padrão adotado foi de 0,2 e a largura da especificação adotada foi de 0,5 (o mesmo que 95 % de confiança).

**Coleta de amostra, preservação e estocagem:** as amostras do efluente lácteo foram coletadas em bombas de 20,0 L do tanque de homogeneização da estação de tratamento de efluente de uma empresa laticinista localizada em Guaratinguetá – SP. Homogeneizaram-se as amostras, para assegurar a sua representatividade e acondicionou-as em câmara fria a 4°C da Escola de Engenharia de Lorena.

**Preparo dos reagentes:** Solução tampão de Acetato de Amônio: para a preparação do tampão de Acetato de Amônio foram adicionados 62,5 g de acetato em 37,5 mL de água deionizada e posteriormente colocados 175 mL de ácido acético concentrado. Solução de Fenantrolina: foram dissolvidos 250 mg de fenantrolina monohidratada em 250 mL de água deionizada aquecida a 80 °C, guardado em frasco âmbar e conservado em geladeira. Solução de Íon Ferroso (Padrão Secundário) a 200 mg L<sup>-1</sup>: dissolveu-se 0,9950 g do FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O com 20 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado em 50 mL de água deionizada. Em seguida, completou-se o volume para 1000 mL com água deionizada. Por ser um padrão secundário, a solução de ferro foi padronizada por dicromatometria, utilizando-se a difenilamina como indicador. Água: resistividade de 18,2 mΩ cm obtida por um sistema Millipore, modelo Simplicity.

**Aferição do padrão:** fez-se a aferição da solução de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O adicionando-se a um erlenmeyer de 250 mL uma alíquota de 100,0 mL

da solução de ferro, juntamente com 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1:1 v/v) e 3 gotas de indicador difenilamina. Esta solução é titulada com solução padrão de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (0,0167 mol L<sup>-1</sup>), através de uma bureta de 25,00 mL, até obter uma coloração do meio reacional violeta, devido a oxidação do indicador a difenilcarbazida..

**Preparação das curvas de calibração:** Em onze balões volumétricos de 100,0 mL adicionou-se 10 mL da solução padrão de acetato de amônio. Em seguida, adicionou-se 20 mL da solução de fenantrolina. A adição de padrão obedeceu a uma razão aritmética de 0,3 mL até 3,0 mL, num total de dez pontos para a elaboração de curva de calibração mais o branco analítico, conforme observado na Tabela 1. Logo após completou-se o volume do balão com água deionizada e deixou-se que a reação ocorresse na ausência total de luz por 15 a 20 minutos. Por fim as medidas espectrofotométricas foram realizadas.

Tabela 1: Elaboração da curva de calibração para determinação de íon ferroso.

Pontos	m Fe <sup>2+</sup> (µg)	V (mL) Padrão
Branco	0	0,0
1	60	0,3
2	120	0,6
3	180	0,9
4	240	1,2
5	300	1,5
6	360	1,8
7	420	2,1
8	480	2,4
9	540	2,7
10	600	3,0

Para o preparo de amostras de efluente seguiu-se a seqüência analítica adota para o preparo das curvas de calibração, porém adicionou-se 10,0 mL da amostra ao invés de padrão.

Para a obtenção do melhor comprimento de onda para a análise do complexo ferro – fenantrolina fez-se a varredura para obter o espectro de absorção entre 410 a 560 nm.

## Resultados

**Otimização do comprimento de onda:** para a obtenção do melhor comprimento de onda para a análise do complexo ferro – fenantrolina fez-se a varredura do espectro de absorção entre 410 a 560 nm, conforme mostrado na figura 1.

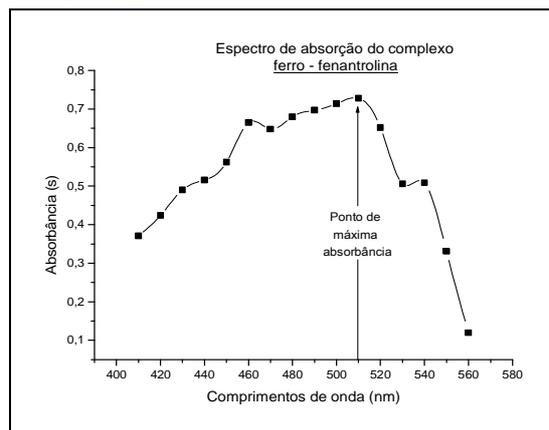


FIGURA 1 – Espectro de absorção do complexo ferro-fenantrolina.

**Determinação da repetibilidade do método:** Uma vez selecionado o comprimento de onda para a determinação do íon ferroso, fez-se um estudo para verificar e medir a confiabilidade e robustez do método. Dois analistas realizaram duplicatas da curva de calibração e um terceiro analista realizou somente uma curva de calibração, para todos os ensaios empregou-se padrão de íon ferroso. Cada curva de calibração elaborada apresentou 10 pontos de diferentes concentrações, num total de 50 amostras analisadas. A análise de variância para verificar a estabilidade dos dados obtidos e, conseqüentemente, a robustez do método foi apresentada na tabela 2. O tratamento estatístico para avaliar os erros sistemáticos e aleatórios em função dos analistas é apresentado na tabela 3.

Tabela 2: Análise de variância dos resultados obtidos para as curvas de calibração para íon ferroso.

FV	gl	SQ	MQ	F	P
Amostra	9	6,0665	0,6740517	8572,41	$8,2 \times 10^{-31}$
Analista	2	0,0024	0,0012021	15,287	$1,3174 \times 10^{-4}$
Interação	18	0,0014	$7,863 \times 10^{-5}$	1,734	0,11706873
Repet.	20	0,0009	$4,533 \times 10^{-5}$		
Total	49	6,0712			

Tabela 3 – Resultados fornecidos pela análise de medição (Variável Cruzada) dos dados obtidos para a elaboração das curvas de calibração para íon ferroso.

	Var	%	Desvio
RR total	0,000133	0,10	0,01152
Repetibilidade	0,000045	0,03	0,006732
Reprodutibilidade	0,000087	0,06	0,009348
Operador	0,000067	0,05	0,00821
Interação	0,000020	0,01	0,00447
Amostra	0,13479	99,90	0,367144
Total	0,134927	100,00	0,367325

## Discussão

Em função da análise da figura 1 verifica-se que, para a maior absorção do complexo do íon ferroso nas amostras analisadas, o melhor comprimento de onda foi de 510 nm.

Em função dos resultados apresentados nas tabelas 2 e 3, pode-se observar que a natureza das amostras analisadas foi o fator de maior variância dos resultados ( $\pm 99,90\%$ ). O teor de sólidos totais, bem como o teor de óleos e graxas podem interferir em uma série de análise físico-químicas como DBO, DQO, fósforo, nitrogênio orgânico e amoniacal e (FARIA *et al*, 2004; MENDES *et al*, 2006, RIBEIRO *et al*, 2005), possivelmente, esteja interferindo de algum modo sobre a sensibilidade da metodologia estudada para a variância metodológica deva, principalmente, à natureza da amostra. Possivelmente, para minimizar o efeito da amostra sobre a variação do resultado e melhorar os valores de repetibilidade e reprodutibilidade do método, deva ser necessário um pré-tratamento, químico e/ou físico para reduzir os efeitos da matriz orgânica (APHA-AWWA, 1998; KRUG, 2008).

Conforme o *Standard Methods* (APHA – AWWA, 1998), se o teor de polifosfato e ortofosfato forem dez vezes superiores ao de íon ferroso na mesma amostra o sinal analítico do elemento sofre depreciação, porém a possibilidade de interferência devido ao orto ou polifosfato são pequenas devido à concentração de fósforo total no efluente de trabalho que oscilou entre 2,76 a 12,63 mg L<sup>-1</sup> (SALAZAR, 2008), teores que estão na mesma ordem de grandeza que os teores de íon ferroso determinados nas amostras investigadas (1,23 a 8,97 mg L<sup>-1</sup>). Confirmando esta hipótese, ao analisar a repetibilidade dos dados obtidos de cada analista, obteve-se percentual de aproximadamente 0,03%; resultado que remete ao controle sob os erros sistemáticos e minimização sob os erros aleatórios. Porcentagens de repetibilidade e reprodutibilidade que sejam menores que 10% são considerados satisfatórios analiticamente; e são aceitáveis valores de repetibilidade e/ou reprodutibilidade que oscilem entre 10% a 20% devido ao intervalo de confiança adotado que foi de 99,5% (DOMENECH, 2007). Em função destas análises obtiveram-se para a metodologia empregada um percentual de repetibilidade global de 6,66%, resultado satisfatório analiticamente e reprodutibilidade de 15,98%, resultado aceitável analiticamente. Estas análises estatísticas atestam a confiabilidade e robustez do método para o efluente estudado.

Os valores obtidos em amostras de efluente lácteo obtidos de 3 coletas variaram entre 1,23 mg

$L^{-1}$  a  $8,97 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 6$ ). A partir destes resultados pode-se observar a sensibilidade do método de fenantrolina em complexar íon  $\text{Fe}^{2+}$  em concentrações relativamente baixas (ordem de ppm).

### Conclusão

A partir dos resultados obtidos verificou-se a eficiência, sensibilidade e estabilidade da metodologia para determinação íon ferroso em efluente lácteo pelo método de fenantrolina – norma 3500 Fe – B do método padrão (APHA – AWWA, 1998), com valores percentuais de repetibilidade e reprodutibilidade metodológica iguais a 6,66 % e 15,98 %, respectivamente e, conseqüentemente, verificou-se que análise estatística adotada para a estimar a robustez do método foi analiticamente satisfatório.

### Referências

- APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20<sup>th</sup> Edition. American Public Health Association, Washington, DC, 1998. (CD-ROM)

- BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais**. São Paulo: CETESB, 1993.

- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos/ Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Ed.: Unicamp, 2003.

- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. CONAMA Nº 357: disposição sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelecimento das condições e padrões de lançamento de efluentes. Disponível em: [www.mma.gov.br/port/conama](http://www.mma.gov.br/port/conama) . Acesso em 28 jul. 2007.

- DOMENECH, M. I. “Soluções Seis Sigma”. Disponível em: <http://www.statistical.com.br/index.asp>. Acesso em: 15 de maio de 2007.

- FARIA, E. A.; RODRIGUES, I. C.; BORGES, R. V. Estudo do impacto ambiental gerado nos corpos d’água pelo efluente da indústria de laticínio em Minas Gerais. 2004. 75f. Monografia (Especialização em Engenharia Sanitária e Meio Ambiente) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2004.

- KRUG, F. J. **Métodos de Preparo de Amostras / Fundamentos sobre preparo de amostras**

**orgânicas e inorgânicas para análise elementar 1ª ed.** Piracicaba: Ed.: CENA/USP, 2008.

- MENDES, A. A.; PEREIRA, E. B.; CASTRO, H. F. Biodegradação de Águas Residuárias do Laticínios Provenientemente Tratadas por Lipases (artigo). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 2, p. 143-149, 2006.

- RIBEIRO, A. C. P.; CONCEIÇÃO Jr., J. C.; ROSA, D. R.; FREIRE, D. M. G.; CAMMAROTA, M. C. Aplicação de Enzimas Hidrolíticas no Tratamento Aeróbio de Efluentes de Laticínios. In: **Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 6, Julho 24 – 27, 2005, Campinas, Brasil. (CD-ROM)

- SALAZAR, R. F. S. Aplicação de processos oxidativos avançados (POAs) como pré-tratamento de efluentes de laticínios para posterior tratamento biológico. 2008. 140f. Qualificação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2008.

### Agradecimentos

