



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS TRINDADE
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA -
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA

Lucas Heitor Mattos Galvão Valadares

**Desenvolvimento de um kit para determinação espectrofotométrica de fluoreto
em amostras
de água e efluentes utilizando o método SPADNS**

Florianópolis – SC

2023

Lucas Heitor Mattos Galvão Valadares

**Desenvolvimento de um kit para determinação espectrofotométrica de fluoreto
em amostras
de água e efluentes utilizando o método SPADNS**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de graduação em Química Tecnológica do Campus Trindade da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Química Tecnológica

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Camila Fabiano de Freitas Marin

Coorientador: Marco Aurélio Ronchi

Florianópolis

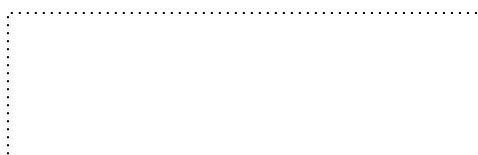
01 de Dezembro de 2023

Lucas Heitor Mattos Galvão Valadares

Título:

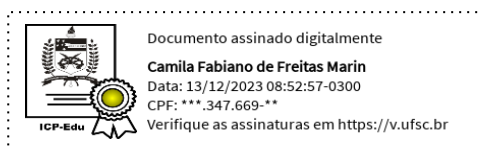
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharelado e aprovado em sua forma final pelo Curso de Química Tecnológica

Florianópolis, 01 de Dezembro de 2023



Coordenação do Curso

Banca examinadora



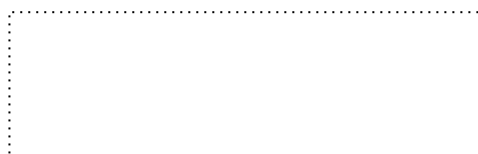
Prof.(a) Dr.(a)

Orientador(a)



Prof.(a) Dr.(a)

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.(a) Dr.(a)

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis 2023

AGRADECIMENTOS

- Primeiramente agradeço ao núcleo de energia, que se manifesta como uma força verdadeiramente boa nesse universo. Anjos, que com vozes femininas, ecoam diariamente em meus pensamentos. Me presenteiam com ideias, soluções e visualizações que jamais conseguiria explicar.
- Ao Heitor Willians, que lapidou em mim conceitos como: honra, caráter, disciplina e acima de tudo, me ensinou a nunca ceder para o mal.
- A Profa.Dra. Camila Fabiano de Freitas Marin. Por ter aceitado ser minha orientadora, pela enorme paciência que tem com minha pessoa e por ter me dado a oportunidade de participar em um de seus projetos.
- Isabela Ronchi, pela paciência, por ter me acolhido com uma imensa boa vontade em sua empresa e por me influenciar com seu espírito empreendedor.
- Marco Aurélio Ronchi e Ariane Ronchi. O primeiro por ter aceito ser meu orientador, e a segunda por ter me aceito em sua empresa.
- Nayara Pacheco, pela boa vontade e por todo suporte prático e teórico durante a confecção do meu estágio.
- Eduardo Vanildo, por ter me acolhido com amistosidade na empresa.
- A profa.Dra. Danielle Marranquiel Henriques, por todo suporte que me deu quando era coordenadora do curso de química.
- Ao Prof.Dr. Alexandre Parize, pelas primeiras aulas que tive de química e pelo suporte quando era coordenador do curso de química.

“Meu cérebro é apenas um receptor, no universo existe um
núcleo a partir do qual obtemos conhecimento,
força e inspiração. Eu não penetrei nos segredos
desse núcleo, mas sei que ele existe”

Nikola Tesla

RESUMO

A SorenLab é uma empresa que faz análises de parâmetros químicos e microbiológicos em vários tipos de amostras, tais como água, alimentos, sucos, refrigerantes e até mesmo solo. No estágio realizado na empresa foi desenvolvido um kit contendo reagentes e equipamentos para que se possa determinar íons fluoreto em amostras de água e efluentes. O projeto foi realizado através de uma adaptação disponível no compêndio Standard Methods, via método SPADNS. Partindo de reagentes de fácil obtenção, baixa periculosidade e que respeitam os princípios da “química verde”, ou seja, não agredem o meio ambiente. O método empregado para fabricação do kit é prático, de fácil operação e capaz de determinar com precisão quantidades de fluoreto nos tipos de amostras mencionadas. É muito importante ressaltar que, devido a questões de confidencialidade e sigilo estabelecidas pelo laboratório onde foi produzido o kit, parâmetros como: precisão, os limites de quantificação mínimo e máximo, equipamentos adicionais que acompanham o kit e mais alguns outros resultados não podem ser demonstrados no presente trabalho. Mas, em comparação com outros métodos convencionais para determinação de fluoreto, esse sistema apresenta boa precisão e confiabilidade nos resultados, com uma precisão relativamente aceitável. Porém, dada à natureza adaptada do método, testes mais rigorosos devem ser feitos para validar a credibilidade dos reagentes e do procedimento são necessários. A adaptação do método baseado no SPADNS do Standard Methods mostra-se promissora, oferecendo uma alternativa viável e prática para análise de fluoreto em amostras de água e efluentes. Futuras investigações devem focar também na busca por acreditação com a ISO / IEC 17025, a fim de aprimorar a confiabilidade e credibilidade de kits desse tipo no mercado.

Palavras-chave: Fluoreto; SPADNS; Standard Methods, ISO17025

ABSTRACT

In SorenLab, a company specializing in chemical and microbiological parameter analyses across various sample types such as water, food, juices, soft drinks, and even soil, a kit has been developed for determining fluoride ions in water and effluent samples. The project involved adapting a method from the Standard Methods compendium, specifically the SPADNS method, using readily available reagents and equipment. Emphasizing principles of green chemistry, the chosen reagents are easily obtainable, pose low risk, and adhere to environmentally friendly practices. The employed method for kit production is user-friendly, practical, and accurately determines fluoride quantities in the aforementioned sample types. Notably, due to confidentiality regulations at the laboratory developing the kit, certain parameters like precision, minimum and maximum quantification limits, accompanying equipment, and additional outcomes cannot be disclosed herein. Nonetheless, compared to conventional fluoride determination methods, this system demonstrates good precision and result reliability with relatively acceptable accuracy. However, considering the adapted nature of the method, further rigorous testing is required to validate the credibility of both reagents and procedures. The adaptation of the SPADNS-based method from the Standard Methods proves promising, providing a viable and practical alternative for fluoride analysis in water and effluent samples. Future investigations should also focus on seeking accreditation with ISO/IEC 17025 to enhance market credibility and reliability of such kits.

Keywords: Fluoride; SPADNS; Standard Methods; ISO17025

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANA	Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico
APHA	American Public Health Association
AWWA	American Water Works Association
IEC	International Electrotechnical Commission
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISE	Eletrodo Íon Seletivo
ISO	International Organization for Standardization
MS	Ministério da Saúde
NIST	National Institute of Standards and Technology
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
RBC	Rede Brasileira de Calibração
SM	Standard Methods
SPADNS	(Ácido 1-(2-piridilazo)-2-naftol-4,6-disulfônico)
UV-vis	Ultravioleta-Vsível
VMP	Valor Máximo Permitido
WEF	Water Environment Federation

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	DESENVOLVIMENTO	19
2.1.1	Fluoreto.....	19
2.1.2	Fluoretos em água e efluentes.....	20
2.1.3	Standard Methods.....	22
2.1.4	Fundamentos do Método SPADNS.....	23
2.1.5	Reações de Complexação	25
2.1.6	Reação de Complexação dos Íons Fluoreto com o Complexo Zr-SPADNS.....	25
2.1.7	Agentes Interferentes.....	27
2.1.8	Espectrofotometria	28
2.1.9	Lei de Lambert-Beer	29
2.1.10	Reagentes e Meio Ambiente (Química Verde).....	32
3	METODOLOGIA	33
3.1.1	Equipamentos e Materiais.....	33
3.1.2	Reagentes e Soluções	34
3.1.3	Inibidor de Cloro.....	35
3.1.4	Solução Ácida de Zirconila.....	35
3.1.5	Solução SPADNS	35
3.1.6	Solução – Sistema Flúor / Complexo Zr-SPADNS.....	35
3.1.7	Padrão de Flúor com rastreabilidade ao NIST	36
3.1.8	Teste e Liberação dos Reagentes	36
3.1.9	Envase e Conservação dos Reagentes	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1.1	Tratamento de dados	39
4.1.2	Uma adaptação do Standard Methods.....	40
4.1.3	Método Adaptado, Standard Methods e a ISO/IEC 17025.....	41
4.1.4	Avaliando Eficiência e Precisão do Método SPADNS.....	42
5	CONCLUSÃO	43

1 INTRODUÇÃO

O flúor, elemento químico presente na tabela periódica com o símbolo F e número atômico 9, desempenha um papel significativo em inúmeras áreas, abrangendo desde a saúde pública até processos industriais e ambientais. Sua presença e aplicação reverberam de maneira marcante na sociedade contemporânea, suscitando a necessidade premente de compreender sua importância multifacetada e os métodos analíticos para sua determinação precisa.^{1,2}

A presença do flúor na saúde humana é crucial, principalmente no âmbito odontológico. A inclusão de flúor em pastas de dentes e enxaguantes bucais se destaca como uma medida preventiva contra cáries, fortalecendo o esmalte dentário e inibindo a desmineralização. Além disso, a fluoretação da água potável tem sido uma prática comum em muitas regiões, demonstrando resultados positivos na redução da incidência de cáries em populações que têm acesso a água fluoretada.¹

No entanto, o flúor também apresenta vários desafios quando a exposição ocorre em níveis inadequados. Em concentrações excessivas, pode resultar em fluorose dental, um efeito colateral indesejado caracterizado por manchas e enfraquecimento do esmalte dentário. A gestão adequada das concentrações de flúor na água e no ambiente é, portanto, crucial para manter um equilíbrio entre seus benefícios e possíveis riscos à saúde.^{1,2}

Além do seu papel na saúde, o flúor tem implicações significativas no meio ambiente e na indústria. Na natureza, por exemplo, o flúor pode ser encontrado em minerais como a fluorita, podendo ser liberado na atmosfera por atividades vulcânicas.^{1,2}

Na indústria, o flúor é frequentemente utilizado na produção de compostos químicos, como o ácido fluorídrico, essencial em diversas aplicações, como a fabricação de vidro, cerâmica e produtos químicos. Sua presença em processos industriais ressalta a importância de monitorar e controlar cuidadosamente as emissões e os resíduos para evitar impactos negativos no meio ambiente e na saúde humana.^{1,2}

O aumento das concentrações de flúor na atmosfera tem preocupado cientistas devido aos potenciais impactos na saúde humana, vegetação e ecossistema aquáticos.¹

Diante desse cenário, a análise precisa e regular do teor de flúor em amostras

de água e efluentes torna-se essencial para garantir a segurança e a qualidade da água para consumo humano. Identificar e monitorar os níveis de flúor nessas amostras é fundamental para prevenir a ocorrência de problemas de saúde associados à fluorose, promovendo assim a saúde bucal e a saúde óssea da população. Essa análise possibilita a implementação de medidas adequadas de tratamento e controle para assegurar que os níveis de flúor estejam dentro dos limites aceitáveis, contribuindo para a preservação da saúde pública e o bem-estar da comunidade.¹

Entre os métodos clássicos para detecção e quantificação de fluoreto, a técnica do eletrodo de íon seletivo (ISE) tem sido amplamente utilizada. Esta técnica baseia-se na medição do potencial elétrico em uma membrana seletiva de flúor em contato com a amostra. Embora seja uma técnica direta e sensível, a interferência de outros ânions pode comprometer sua precisão. O eletrodo íon-seletivo (ISE) é um dispositivo eletroquímico que transforma a atividade de um íon específico em uma força eletromotriz mensurável, permitindo a avaliação da concentração iônica. Os primeiros estudos sobre ISEs remontam à descoberta de Cremer no início do século 20. Ele observou que variações de potencial através de uma membrana de vidro refletiam mudanças na atividade dos íons de hidrogênio, desencadeando uma série de investigações aprofundadas sobre o assunto. O surgimento do eletrodo de vidro nos anos 1930 foi um marco importante, estimulando uma investigação mais ampla. Durante as décadas de 1960 e 1970, houve avanços notáveis, como o desenvolvimento do ISE com membrana de prata, a capacidade seletiva do óxido de zinco em relação a gases combustíveis e o aparecimento dos modernos ISEs baseados em transportadores específicos.³

Outro método clássico é a titulação potenciométrica com solução padrão de íon fluoreto. Esse método envolve a adição de uma solução padrão de íon fluoreto à amostra até que ocorra uma mudança de potencial detectada por um eletrodo. No entanto, da mesma forma que no método (ISE), a complexidade de alguns sistemas amostrais e a presença de interferentes podem afetar a exatidão dessa técnica.²

Avanços na instrumentação analítica levaram ao desenvolvimento de métodos mais sensíveis e seletivos para a determinação de flúor. Entre eles, a espectrofotometria é um dos métodos mais utilizados. A espectrofotometria de absorção molecular na região ultravioleta-visível (UV-vis) utiliza a absorção da luz por complexos formados entre o flúor e um reagente específico para quantificação do

mesmo.

No entanto, destaca-se o método SPADNS (ácido 1-(2-piridilazo)-2-naftol-4,6-disulfônico) como uma alternativa promissora. Este método se baseia na formação de um complexo colorido entre o flúor e o reagente SPADNS, permitindo a quantificação por meio da medida da absorbância em uma determinada faixa de comprimento de onda.⁴

O método SPADNS apresenta diversas vantagens sobre outros métodos. Sua seletividade específica para o íon fluoreto minimiza interferências de outros íons, resultando em resultados mais precisos. Além disso, sua sensibilidade permite a detecção de concentrações de flúor em níveis muito baixos, tornando-o adequado para uma ampla gama de aplicações analíticas.⁴

A simplicidade operacional do método SPADNS é outro fator que representa tamanha vantagem, pois juntamente com sua precisão e custo relativamente baixo, o torna uma escolha viável e atraente para a determinação de flúor em diversas amostras. Portanto, seu estudo e aplicação merecem atenção, especialmente considerando sua utilidade em campos como a saúde pública, a monitorização ambiental e o controle de qualidade industrial.⁴

O presente estudo tem como objetivo apresentar o processo de criação e produção de um kit contendo reagentes e equipamentos para determinação espectrofotométrica de fluoreto em amostras de água e efluentes baseado no método SPADNS, que por sua vez está disponível no manual *Standard Methods (SM)*. Bem como, apresentar os materiais e reagentes utilizados, procedimento experimental e discutir a metodologia empregada para a fabricação do kit. Por fim, analisar os resultados obtidos. A escolha de se criar esse tipo de kit para determinação de fluoreto se deve ao fato de que, diversas agências regulamentadoras no Brasil exigem a quantificação precisa desse íon em amostras de água e efluentes e ainda estabelecem diretrizes para quantidade mínimas e máximas permitidas nessas amostras.

A Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) é a principal responsável por monitorar e regular a qualidade da água no Brasil, implementando políticas nacionais de recursos hídricos, diretrizes e legislações sobre o tema. Junto com o Ministério da Saúde (MS) estabelece uma portaria, denominada Portaria MS nº 2.914/2011, que determina padrões de potabilidade da água para o consumo humano.⁵

O Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater é um compêndio abrangente e internacionalmente reconhecido usado para análise de água e efluentes. Ele foi publicado inicialmente em 1905 pela American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) e Water Environment Federation (WEF), ele oferece procedimentos padronizados para uma ampla gama de parâmetros de análise, incluindo físicos, químicos e biológicos.⁴ Organizado em seções bastante detalhadas, fornece instruções precisas para métodos de testes, reagentes necessários, equipamentos e interpretação de resultados, sendo um guia essencial para laboratórios e profissionais na garantia da qualidade de amostras de água e efluentes.⁴

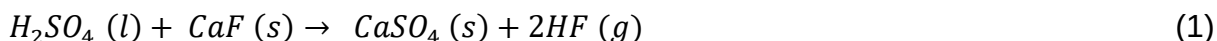
2 DESENVOLVIMENTO

2.1.1 Fluoreto

O flúor é um elemento relativamente raro no universo, classificado como o 24º em abundância (0,00004%). Entretanto, na crosta terrestre, sua presença é mais significativa, sendo o 13º elemento mais abundante em massa (0,054%), ligeiramente superior ao carbono (0,02%). Esse enriquecimento ocorre devido à afinidade do flúor com elementos comuns na crosta terrestre e no universo, como Si, Al, Ca e Mg, presentes em percentuais de 28,2 / 0,07%, 8,1 / 0,005%, 4,1 / 0,007% e 2,3 / 0,06%, respectivamente. Essa afinidade tende a unir o flúor a substâncias estáveis, principalmente fora de condições líquidas.⁶

Em termos químicos, o flúor é reconhecido como o elemento mais eletronegativo na tabela periódica e é considerado como um substituto alternativo ao oxigênio. No entanto, o oxigênio é significativamente mais abundante, sendo cinco ordens de magnitude mais comum no universo e três ordens de magnitude mais presente na crosta terrestre. Essa disparidade na abundância torna-se ainda mais evidente ao analisar a composição dos elementos nos organismos terrestres: hidrogênio e oxigênio são os mais comuns, enquanto o flúor é apenas um raro elemento traço, aparentemente não essencial para a vida. Na crosta terrestre, o flúor é comumente encontrado como fluoreto de cálcio, um componente principal de minerais como fluoroapatita, criolita e topázio.⁶

Contudo, na natureza, o flúor é encontrado exclusivamente na forma iônica como fluoreto, geralmente em combinação com mineral fluorita ou hidrogênio. O ácido fluorídrico (HF) é um gás ou líquido incolor que possui um odor pungente e é altamente solúvel em água, sua formação se dá através da equação química 1 abaixo:



Os compostos inorgânicos de flúor são amplamente utilizados na produção de diversos produtos, como herbicidas, fármacos, gasolina de alta octanagem, plásticos, componentes elétricos, lâmpadas fluorescentes, alumínio, vidro e aço. De maneira intencional, compostos como fluoreto de sódio, ácido fluorsilícico e hexafluorsilicato de sódio são adicionados à água de abastecimento em um processo conhecido como fluoretação. Esse procedimento visa fortalecer a saúde bucal, auxiliando na prevenção da cárie dentária.^{1,2}

Os fluoretos são substâncias presentes na atmosfera tanto em áreas urbanas quanto rurais, podendo existir sob a forma gasosa ou de partículas. Estes, possuem a capacidade de viajar longas distâncias e são removidos da atmosfera por meio de processos como deposição seca ou úmida, além da hidrólise. Na água, os fluoretos são um componente comum, cuja concentração varia de acordo com os índices de precipitação que afetam a lavagem de depósitos naturais. Quando presentes na água, esses fluoretos formam entidades de coordenação com o alumínio e seu movimento é influenciado por fatores como pH, dureza da água e a presença de materiais de troca iônica, como a argilominerais.¹

No solo, os níveis de fluoretos aumentam com a profundidade. Na camada superficial, a presença desses elementos pode ser potencializada pela aplicação de fertilizantes à base de fosfato contendo fluoreto, por pesticidas, água de irrigação ou pela deposição de gases e partículas atmosféricas. Além disso, o fluoreto tende a acumular-se em algumas plantas e nos ossos de animais terrestres que se alimentam de folhas contendo essa substância.^{1,2}

2.1.2 Fluoretos em água e efluentes

A adição controlada de flúor à água destinada ao consumo humano é uma estratégia preventiva altamente eficaz, comprovadamente capaz de reduzir em até

50% a 65% a ocorrência de cárie dental em populações expostas desde os primeiros anos de vida por um período de aproximadamente dez anos de ingestão na dose recomendada.¹ Esse método é reconhecido pela sua segurança, custo acessível e eficácia.^{1,2}

Além de ser economicamente viável, a fluoretação da água beneficia toda a população, independentemente de diferenças econômicas, sociais ou educacionais. A proteção contra a cárie dental proporcionada pelo flúor, ao longo da vida do indivíduo, gera impactos positivos duradouros para a saúde bucal.²

Nas áreas de clima mais quente, são utilizadas concentrações menores de íons fluoretos, enquanto nas regiões de clima mais frio as concentrações são maiores. Isso ocorre devido ao aumento da ingestão de água em regiões mais quentes, sendo o oposto observado em áreas de temperaturas mais baixas.^{1,2}

É fundamental observar o Valor Máximo Permitido (VMP) estabelecido na Portaria do ministério da saúde (MS), a MS nº 2.914/2011, que determina os padrões de potabilidade da água para consumo humano relacionados aos fluoretos, estabelecendo esse valor em 1,5 mg.L⁻¹. Essa referência também é recomendada nos Guias de Controle da Qualidade da Água da Organização Pan-americana de Saúde (OPAS), edição de 1996.²

Tabela 1. Relação entre as Médias das Temperaturas Máximas Diárias do Ar e os Limites Recomendados para a Concentração de Íons Fluoreto na Água. Fonte: adaptada de ²

Médias das temperaturas máximas diárias do ar (°C)	Limites recomendados para a concentração do íon fluoreto (mg.L ⁻¹)		
	Mínimo	Máximo	Ótimo
10,0 - 12,1	0,9	1,7	1,2
12,2 - 14,6	0,8	1,5	1,1
14,7 - 17,7	0,8	1,3	1,0
17,8 - 21,4	0,7	1,2	0,9
21,5 - 26,3	0,7	1,0	0,8
26,4 - 32,5	0,6	0,8	0,6

Dentre os compostos de flúor mais utilizados para a fluoretação nas águas, destacam-se: Fluoreto de Cálcio ou Fluorita (CaF₂), Fluossilicato de Sódio (Na₂SiF₆), Fluoreto de Sódio (NaF) e Ácido Fluossilícico (H₂SiF₆).¹

2.1.3 Standard Methods (SM)

O Standard Methods (SM) representa um marco essencial na área de análises e testes relacionados à qualidade da água, efluentes e amostras ambientais. Reconhecido globalmente como uma fonte autoritativa, este guia oferece um extenso compêndio de protocolos e normas minuciosamente detalhados para análises químicas, físicas e biológicas. Sua relevância é notável na garantia da precisão e confiabilidade dos resultados obtidos em laboratórios e instituições de pesquisa dedicados ao monitoramento e preservação dos recursos hídricos e ambientais.⁷

Este compêndio, tornou-se um ponto de referência indispensável para profissionais e organizações envolvidos na análise e avaliação da qualidade da água e efluentes. Ao disponibilizar métodos padronizados e procedimentos uniformes, o Standard Methods promove a consistência e comparabilidade dos resultados obtidos em diferentes locais e por diferentes laboratórios ao redor do mundo. Sua aplicação transcende fronteiras, sendo adotado por agências reguladoras, instituições de pesquisa, laboratórios de análises ambientais e profissionais da área, assegurando a conformidade com padrões internacionais e o cumprimento de regulamentações voltadas à proteção e preservação dos recursos naturais.⁷

Destaca-se pela sua abrangência extensa, oferecendo uma diversidade de métodos e procedimentos para a análise minuciosa de água, solos, sedimentos, efluentes e diversos materiais correlacionados ao meio ambiente. Essa ampla gama de técnicas torna-o uma referência indispensável para profissionais que atuam em áreas fundamentais como engenharia ambiental, química e biologia. A inclusão de métodos detalhados (como no caso do método SPADNS) e específicos para diferentes tipos de amostras ambientais garante uma base sólida e abrangente para a análise e monitoramento dos recursos naturais, fornecendo orientações precisas para os especialistas que buscam avaliar e preservar a qualidade ambiental.⁷

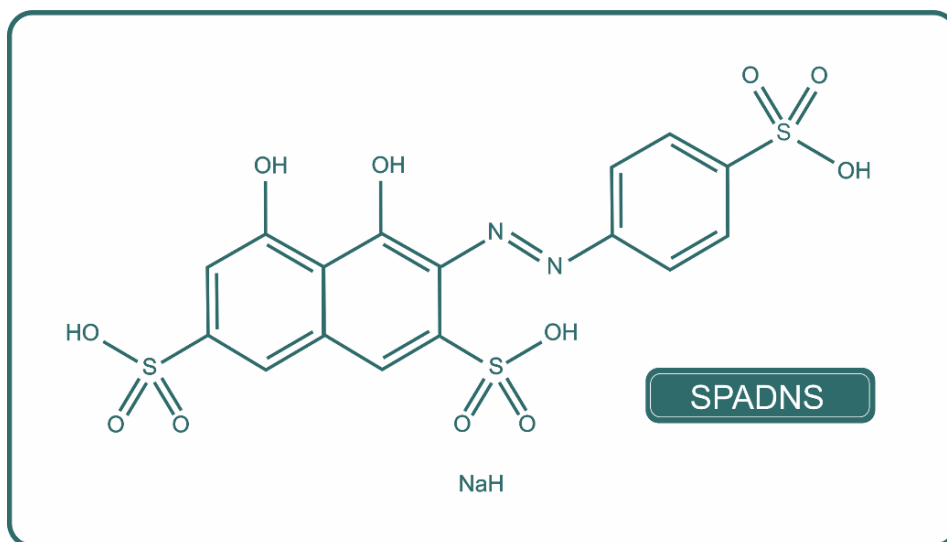
A constante atualização do Standard Methods é um aspecto crucial que assegura a sua relevância contínua. Essas atualizações refletem os avanços científicos e tecnológicos mais recentes, integrando novos conhecimentos e metodologias para manter os métodos de análise alinhados com as normas ambientais e de qualidade. Ao se manter atualizado, o Standard Methods garante a aplicação de métodos confiáveis e precisos, proporcionando aos profissionais da área

as ferramentas mais atualizadas e eficazes para conduzir análises e testes que atendam aos mais altos padrões de qualidade e exatidão.⁷

2.1.4 Fundamentos do Método SPADNS

O método colorimétrico SPADNS é um procedimento analítico baseado na interação entre o íon flúor presente na amostra e um corante composto por laca de zircônio. Nesse processo, o flúor reage com o corante de laca, resultando na dissociação parcial do corante em uma entidade de coordenação aniônica incolor denominada hexafluorozirconato (ZrF_6^{2-}) e na própria molécula do corante. À medida que a concentração de flúor aumenta na solução, a cor gerada pelo composto de coordenação (avermelhado) formado se torna progressivamente mais leve, diminuindo a absorbância e permitindo a mensuração da concentração de flúor presente na amostra.⁴

Figura 1. Estrutura Química do Indicador SPADNS. Fonte: adaptado de ⁸



A velocidade da reação entre o flúor e os íons de zircônio é consideravelmente influenciada pelo nível de acidez da mistura reacional. Ao aumentar a proporção de ácido no reagente, é possível acelerar quase que instantaneamente a reação entre o flúor e os íons de zircônio. Isso ocorre porque a cinética da reação é bastante sensível em pH ácido, favorecendo, assim, a formação do composto de coordenação entre o

zircônio e SPADNS. Entretanto, sob essas condições, a resposta de diversos íons pode diferir do método convencional que utiliza alizarina. A seleção do corante adequado para este método rápido de análise de flúor é predominantemente baseada na tolerância resultante aos diferentes íons presentes na amostra, visando garantir a precisão e confiabilidade dos resultados obtidos.⁴

Este procedimento, por sua sensibilidade à acidez do meio e à escolha adequada do corante, destaca-se como uma ferramenta analítica valiosa para a determinação precisa de concentrações de flúor em amostras. Diante disso, proporcionando uma abordagem confiável e eficaz na análise de fluoretos em diversas aplicações, como em estudos ambientais, monitoramento de águas e processos industriais.⁴ A sensibilidade à acidez pode ser considerado um ponto positivo, pois além de favorecer a formação do complexo avermelhado, como mencionado anteriormente, confere uma certa estabilidade ao meio reacional, permitindo a mensuração do complexo colorido.

A espectrofotometria é a técnica instrumental que permite a quantificação da concentração de flúor na amostra através da medida da absorbância da solução do complexo incolor Zr-SPADNS em um comprimento de onda específico, geralmente na faixa do vermelho. A intensidade da cor formada está diretamente relacionada à concentração de flúor na amostra (inversamente proporcional), permitindo a construção de uma curva padrão para a determinação precisa da quantidade de flúor presente.⁴

A aplicação do método SPADNS é bastante disseminada para análises de águas potáveis, águas naturais, efluentes industriais, entre outras amostras que exigem a determinação precisa do teor de flúor.

A síntese da molécula do corante SPADNS foi desenvolvida com o intuito de criar um agente específico capaz de formar um complexo estável e incolor com íons flúor, no caso, o ânion hexafluorozirconato, (ZrF_6^{2-}). A molécula do corante SPADNS apresenta grupos funcionais, como os grupos nitro e diazônio, ligados a um anel aromático de anilina, os quais desempenham um papel essencial na interação e formação do complexo Zr-SPADNS. Além de sua aplicação principal na determinação de flúor, o reagente SPADNS tem relevância em estudos de complexação com outros íons e em análises espectrofotométricas. Sua importância na medicina e química analítica, especialmente na precisão das medições de flúor, destaca seu papel vital em laboratórios de controle de qualidade, monitoramento ambiental e pesquisas

científicas associadas ao estudo de íons em soluções aquosas.⁴

2.1.5 Reações de Complexação

Os ácidos de Lewis são identificados como substâncias químicas que recebem um par de elétrons de uma base de Lewis, originando assim um composto de Lewis. Dessa forma, a acidez e a basicidade de Lewis são avaliadas pela estabilidade dos compostos formados, um ácido de Lewis mais robusto ou uma base de Lewis mais resistente resultam na formação de complexos de Lewis mais estáveis. Desde então, a química dos ácidos e bases de Lewis tem avançado de maneira significativa, principalmente para explicar as reações de complexação ⁹

É importantes salientar que, teoria ácido/base de Lewis é uma interação bastante complexa que depende de todo o sistema e não apenas das moléculas isoladas.⁹

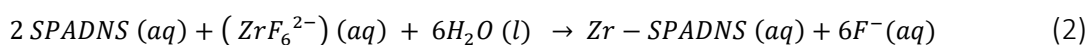
Como exemplos de bases de lewis, podem ser citados: NH_3 , H_2O , CN^- , S^{2-} e F^- . Por outro lado, os ácidos de Lewis são íons como Cd^{2+} , Ag^+ e moléculas como BF_3 . Compostos de coordenação são formados por um átomo metálico central (ácido de Lewis), ao qual estão ligadas várias moléculas ou ânions (bases de Lewis).¹⁰ Nos compostos de coordenação, as ligações entre os ligantes e o átomo central são predominantemente coordenadas, isso porque os cátions metálicos tendem a ser eletropositivos, atraindo moléculas polares e íons carregados negativamente com pares isolados de elétrons. Metais de transição como Co^{3+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} e Ag^+ apresentam orbitais d parcialmente preenchidos, formando ligações covalentes com o ligante. O Al^{3+} , mesmo não sendo um metal de transição, também é um exemplo de íon que possui um orbital p incompleto.¹⁰

2.1.6 Reação de Complexação dos Íons Fluoreto com o Complexo Zr-SPADNS

Na presença de íons flúor, Oxicloreto de Zircônio e meio ácido, o reagente corante SPADNS realiza uma reação de complexação, resultando na formação de um complexo colorido conhecido como complexo Zr-SPADNS. Esse complexo é notavelmente caracterizado por uma coloração vermelha/rosa intensa. Outro

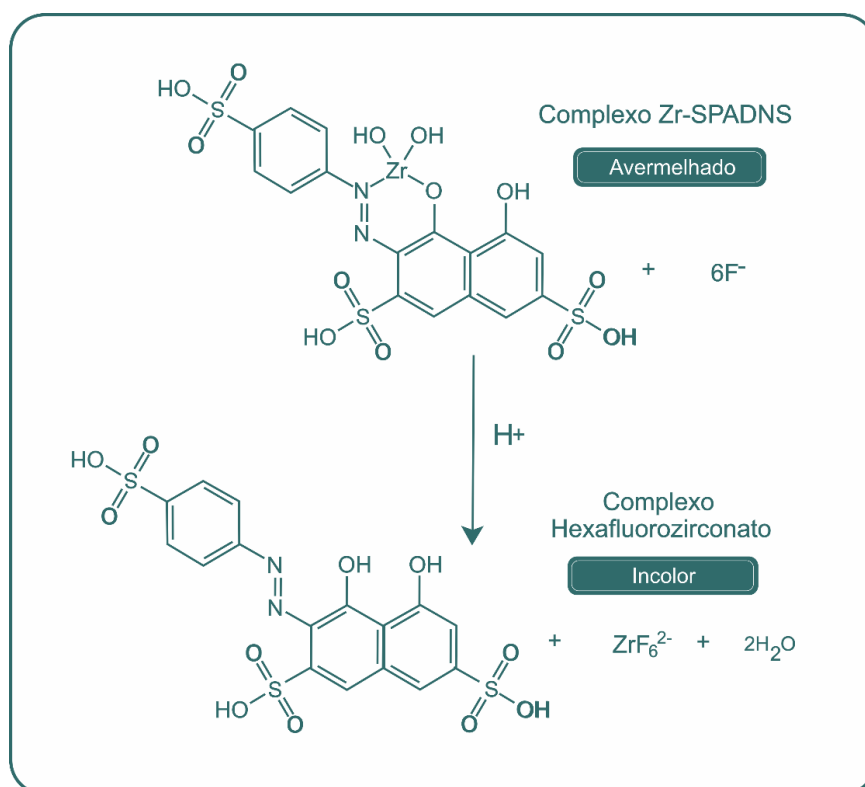
fenômeno de complexação também ocorre quando o íon flúor, presente na amostra, interage com os íons zirconila (Zr^{4+}) proveniente do complexo Zr-SPADNS, originando um complexo estável e incolor, que serve como indicador visual da presença do flúor na solução.⁴

A interação entre o fluoreto e a laca de corante induz à dissociação da laca, resultando na formação de um outro complexo, o complexo incolor, o ânion hexafluorozirconato (IV) (ZrF_6^{2-}). A reação química envolvida pode ser representada pela equação 2 abaixo:⁴



Essa reação, que ocorre em meio ácido, promove uma mudança visual na solução, resultando em uma diminuição da coloração do corante SPADNS. Devido a diminuição na intensidade da cor vermelha/rosa do complexo Zr-SPADNS, é possível quantificar a concentração de flúor na solução original através da espectrofotometria. A determinação quantitativa do fluoreto na solução é alcançada ao medir o grau de descoloração da solução contendo o corante SPADNS. Quanto maior a concentração de flúor na amostra, maior será a formação do ânion complexo incolor (ZrF_6^{2-}) e, conseqüentemente, menor a intensidade da coloração vermelha/rosa. Assim, a análise do grau de descoloração da solução é um método eficaz para determinar a concentração de fluoreto na amostra original, utilizando o reagente SPADNS como indicador da presença desse íon.⁴

Figura 2. Reação dos íons Fluoreto com o Complexo Zr-SPADNS. Fonte: adaptado de ¹¹



2.1.7 Agentes Interferentes

A tabela abaixo apresenta algumas substâncias que, caso estejam presentes no meio reacional, tornam-se potenciais interferentes na determinação de Fluoreto via método SPADNS.⁴

Devido a natureza não-linear e não cumulativa desses possíveis agentes interferentes, é inviável corrigi-las por métodos matemáticos. Se uma substância individual estiver presente em quantidade suficiente para gerar um erro de **0,1 mg.L⁻¹** a amostra deve ser destilada, até que a concentração de interferentes seja a menor possível.⁴

Tabela 2. Agentes Interferentes na Determinação de Fluoreto pelo Método SPADNS. ⁴

Substância	Concentração (mg.L ⁻¹)	Tipo de Erro
Alcalinidade (CaCO ₃)	5000	–
Alumínio (Al ³⁺)	0,1	–
Íons Cloro (Cl ⁻)	7000	+
Cloro	ND	
Cor e Turbidez	ND	Removido com Arsenito de Sódio
Ferro	10	Removido com Repouso
Hexametáfosfato ([NaPO ₃] ₆)	10	–
Fosfato PO ₄ ²⁻	1.6	+
Sulfato SO ₄ ²⁻	200	+
		–

Alguns dos ânions citados na tabela acima, como fosfato e sulfato, podem formar complexos incolores com o zircônio. Ao passo que, cátions como alumínio e ferro, podem formar complexos incolores com o próprio fluor, na forma de hexafluoroaluminato ([AlF₆]³⁻) e hexafluoroferrato ([FeF₆]³⁻).³ Íons cloro são facilmente inibidos com a adição de arsenito de sódio (Na₂HAsO₄). Caso as amostras fiquem em repouso, ou seja, caso não tenha necessidade de se realizar uma leitura imediata, íons ferro e alumínio tornam-se interferentes devido ao fenômeno de precipitação.⁴

2.1.8 Espectrofotometria

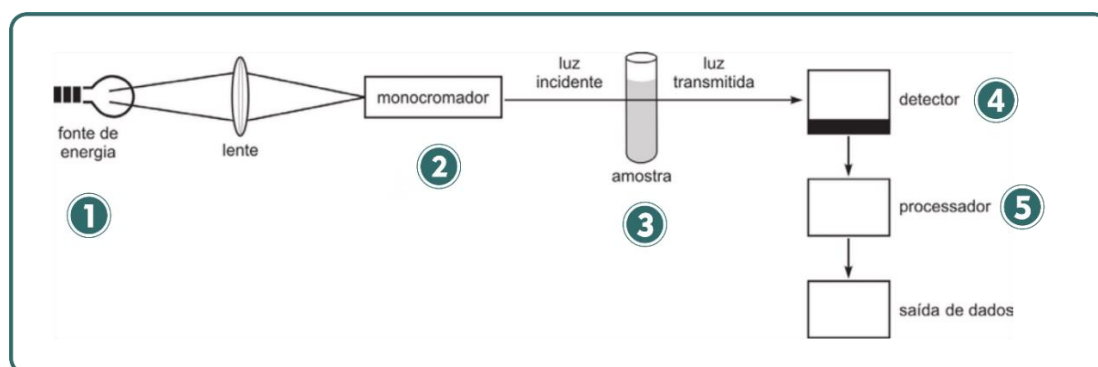
Todo elemento ou composto químico tem a capacidade de absorver, transmitir ou refletir luz em diferentes comprimentos de onda. A espectrofotometria é uma técnica que mede essa capacidade de absorção ou transmissão da luz por uma substância. É uma ferramenta amplamente utilizada em diversas áreas da ciência e até mesmo engenharia para análises qualitativas e quantitativas. Em campos como bioquímica, é empregada para analisar reações catalisadas por enzimas, enquanto na medicina clínica, é usada para investigar amostras de sangue ou tecidos para diagnósticos. Além disso, existem variações específicas da técnica, como a espectrofotometria de absorção e de emissão atômica, adotadas em ambientes

hospitais, na indústria petroquímica, alimentícia, laboratórios de controle de qualidade da água, plantas químicas e biológicas, entre outros setores.¹²

De acordo com a faixa do comprimento de onda da fonte luminosa utilizada, os espectrofotômetros podem ser divididos em dois tipos: o primeiro, espectrofotômetro UV-Visível, usa luz nos espectros ultravioleta (185 - 400 nm) e visível (400-700 nm) do espectro eletromagnético. O segundo, conhecido como espectrofotômetro de infravermelho (IV), utiliza luz sobre a faixa infravermelha (700-1300 nm) do espectro eletromagnético.¹²

De maneira geral, os instrumentos ópticos para UV-VIS e IV consistem em cinco elementos principais: 1) uma fonte de energia radiante estável; 2) um seletor de comprimento de onda que isola uma região específica do espectro para análise; 3) recipientes destinados à amostra ou amostras a serem analisadas; 4) um detector capaz de registrar a radiação que passa pela amostra; e 5) uma unidade para processar e ler os sinais captados pelo detector. Estes componentes essenciais são fundamentais para a análise precisa e confiável de amostras utilizando técnicas espectroscópicas.^{10,12}

Figura 3. Esquema Geral para uma Análise Espectroscópica. Fonte: adaptado de ¹⁰



2.1.9 Lei de Lambert-Beer

As fontes mais frequentemente utilizadas de radiação eletromagnética compreendem lâmpadas de H₂ e D₂ (com faixa de 160 a 380 nm), tungstênio (com faixa de 320 a 2400 nm) e xenônio (com faixa de 200 a 1000 nm). Em casos específicos, fontes térmicas e químicas também são empregadas. Quando um

composto está no seu estado fundamental e é exposto à radiação eletromagnética, absorve fótons, resultando em uma transição para um estado de maior energia, conhecido como estado excitado.¹⁰ Um composto em seu estado fundamental significa que seus elétrons encontram-se nos níveis de menor energia possível. Essa é a configuração estável do sistema. Dessa forma, quando um átomo ou molécula absorve energia suficiente, geralmente na forma de luz ou calor, um ou mais elétrons podem ser excitados para níveis de energia mais altos, resultando no que chamamos de estado excitado. Nesse estado, o átomo ou molécula é temporariamente menos estável do que no estado fundamental.¹⁰

A transição de um estado excitado para o estado fundamental ocorre quando o átomo ou molécula libera essa energia absorvida. Esse processo pode acontecer de várias maneiras, e uma delas é a emissão de luz, resultando em uma linha espectral específica, ou através de colisões com outras partículas.¹⁰

Esse processo oferece informações valiosas sobre um composto analisado, seja pela medição da radiação eletromagnética emitida quando o composto retorna ao estado fundamental (espectroscopia de fotoluminescência ou emissão) ou até mesmo pela avaliação da quantidade de radiação eletromagnética absorvida durante a excitação. A parte da molécula que é responsável por essa absorção de luz é denominada cromóforo. Esses dois processos são conhecidos como espectroscopia de fotoluminescência ou emissão (quando há emissão de radiação) e espectroscopia de absorção (quando há absorção de radiação).¹⁰

Lambert, em 1760, apresentou expressões afirmando que a relação entre a absorbância (A) e a distância percorrida pela luz (d) é proporcional em um meio homogêneo. Isso significa que, em um ambiente homogêneo, à medida que a luz passa por um meio absorvente, sua intensidade é reduzida.¹³

Posteriormente, Beer expandiu essa ideia, introduzindo a concentração das soluções (massa do material absorvente) no coeficiente de absorção. Segundo a Lei de Beer, a absorbância da luz em um meio homogêneo é diretamente ligada à concentração da substância analisada.¹³

A Lei de Beer-Lambert, resultante da combinação das leis de Lambert e Beer, descreve que a quantidade de luz absorvida por uma substância dissolvida em um solvente transparente é proporcional à concentração da substância e à espessura do meio onde a luz passa. Essa relação entre a absorbância, o coeficiente de extinção,

a espessura do meio e a concentração molar é essencial para análises espectroscópicas.¹³

Essa lei é expressa por meio de uma equação que permite calcular a absorbância de uma solução, indicando como a quantidade de luz absorvida é proporcional à concentração da substância presente na solução e à espessura do percurso que a luz percorre através dessa solução. Essa lei é fundamental na espectroscopia de absorção, fornecendo um método quantitativo para determinar a concentração de substâncias absorventes em solução.^{10,13}

O símbolo ϵ (epsílon) representa a absortividade molar, medida em $\text{L.mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, o que torna a Absorbância uma grandeza adimensional. A absortividade molar indica a quantidade de luz absorvida por uma determinada concentração de substância em um comprimento específico de onda. O caminho óptico (representado por "b") é expresso em centímetros (cm), enquanto a concentração (denotada por "C") é medida em mol por litro (mol.L^{-1}).¹⁰

Esses parâmetros são fundamentais na Lei de Beer-Lambert, permitindo calcular a absorbância de uma solução em função da concentração da substância absorvente e do comprimento do trajeto percorrido pela luz na solução (equações 3 a 7). A absortividade molar é uma característica específica de cada substância e fornece informações valiosas sobre a capacidade de absorção da luz em diferentes comprimentos de onda.¹⁰

$$A = -\log T \quad (3)$$

$$T = \frac{I}{I^0} \quad (4)$$

$$\%T = \frac{I}{I^0} 100 \quad (5)$$

$$A = \epsilon bc \quad (6)$$

$$A = \log \frac{I^0}{I} \quad (7)$$

Onde T representa a transmitância, I a intensidade de luz transmitida, I_0 a intensidade de luz incidente.

2.1.10 Reagentes e Meio Ambiente (“Química Verde”)

A ideia da "química verde" surgiu nos anos 90, apresentada por John Warner e Paul Anastas, químicos da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. O conceito de “química verde” é amplo, ele engloba desde a educação, a indústria, o meio ambiente até a comunidade científica como um todo. O foco é fazer produtos químicos e monitorar processos que não sejam nocivos a saúde humana nem ao meio ambiente, mas ainda assim, seja possível obter lucros significativos em cima dos mesmos. Existem 12 princípios que regem a química verde. Esses princípios foram desenvolvidos em 1998, por Paul Anastas e John Warner, visando oferecer uma estrutura direcionadora para criar produtos químicos e processos inovadores. Eles abrangem todas as etapas do ciclo de vida do processo, desde a seleção de matérias-primas até a eficiência e segurança das transformações, considerando a toxicidade e biodegradabilidade dos produtos e reagentes utilizados.¹⁴

Dentro os 12 princípios da química verde, um dos mais importantes é o do design molecular. Esse termo busca projetar produtos químicos para as mais variadas funções e levar em consideração todos os riscos no processo de design. O objetivo é compreender todas as propriedades da molécula que podem possivelmente impactar a saúde humana e meio ambiente e através disso, projetar uma molécula mais sustentável, porém, com as mesmas funções químicas da molécula inicialmente estudada.¹⁴

As moléculas envolvidas no processo de confecção do kit para determinação de fluoreto, obedecem todos os 12 princípios estabelecidos pelos dois cientistas da química verde. De todos os reagentes utilizados no método SPADNS, disponível no Standard Methods, cabe uma atenção maior ao próprio corante SPADNS e ao oxiclreto de zircônio. O primeiro, embora não seja tóxico para humanos, pode ser nocivo a peixes e algumas aves que habitam em certos ambientes marinhos (a depender do teor de cálcio e magnésio nas águas). Isso acontece porque o SPADNS, da mesma forma que possui a capacidade de formar entidade de coordenação com Zircônio, também a possui para formar com íons cálcio e magnésio. Quanto ao oxiclreto de zircônio, assim como ácido clorídrico, arsenito de sódio e o próprio padrão de flúor com rastreabilidade utilizados, apenas apresentam um baixo grau de periculosidade e toxicidade a humanos.⁴

Com base nisso, é possível afirmar que os reagentes envolvidos no presente estudo se enquadram perfeitamente nos princípios da química verde e consequentemente podem ser considerados seguros para que se possa seguir com o projeto adiante, desde que sejam tomadas todas as medidas cabíveis para o descarte adequados e resíduos gerados pelos mesmos.¹⁴

3 METODOLOGIA

3.1.1 Equipamentos e Materiais

Os seguintes materiais foram utilizados para se preparar os reagentes e produzir os kits para determinação de fluoreto:

- Balança analítica com precisão de quatro casas decimais;
- Balança semi-analítica com precisão de duas casas decimais;
- Balão de vidro volumétrico com certificado de calibração RBC;
- Banho de gelo;
- Bastão de vidro;
- Copo de plástico de 5 L com volume aferido;
- Copo de vidro;
- Capela de exaustão;
- Espectrofotômetro;
- Cubeta para espectrofotômetro;
- Pipeta automática;
- Proveta de vidro de 1000 mL com certificado de calibração RBC;
- Tubos de ensaio;
- Suporte para tubos de ensaio;

3.1.2 Certificado de calibração RBC (Rede Brasileira de Calibração)

O Certificado de Calibração, um documento decorrente da atividade de calibração, que por sua vez é emitido por um Laboratório creditado de Calibração que atenda às diretrizes da norma NBR ISO/IEC 17025. Esse certificado é produzido com base em padrões de referência rastreados a órgãos nacionais (Inmetro/RBC) ou

internacionais. Em termos de medição, a calibração consiste em determinar a diferença entre a medição realizada por um instrumento e o valor de referência correspondente. Diferentemente do ajuste, a calibração INMETRO não envolve qualquer modificação no instrumento. Para medições de materiais, como massas, por exemplo, é calculada a diferença entre o valor indicado pelo instrumento e o valor de referência estabelecido. Nas cadeias de medição, o desvio é avaliado entre o sinal de saída e o valor esperado, considerando uma característica de transmissão ideal e um valor predefinido de entrada.¹⁵

3.1.3 Reagentes e Soluções

- Água reagente tipo 1 (água ultrapura deionizada);
- Ácido Clorídrico PA (44PF) – HCl;
- Arsenito de Sódio (127 RQ) – NaAsO₂;
- Padrão de Flúor com rastreabilidade ao NIST;
- Oxicloreto de Zircônio IV Octahidratado (102 RQ) – ZrOCl₂ x 8H₂O;
- SPADNS (111 IND) – C₆H₉N₂Na₃O₁₁S₃

Todos os reagentes foram utilizados em alto grau de pureza e todas as diluições / dissoluções dos mesmos foram feitas com água ultrapura. A água ultrapura foi obtida a partir de um sistema sofisticado de purificação denominado Milii-Q. É importante ressaltar também que, todas as vidrarias utilizadas durante a produção dos reagentes, foram previamente lavadas com água ultrapura e secadas em temperatura ambiente. O pH e condutividade da água ultrapura Milii-Q foi medido com auxílio de um pHmetro e condutivímetro, registrando-se valores correspondentes a: pH = 6,69 e condutividade = 0,065 µS.cm⁻¹.

Com o intuito de se minimizar erros, todos os reagentes foram obtidos a partir de mesmo fornecedor: a marca Neon Reagentes. A escolha do fornecedor foi pautada na agilidade no fornecimento da matéria prima, alto grau de pureza dos reagentes e credibilidade no mercado, pois a mesma está atuando desde 1994 no setor de produtos de química fina.

3.1.4 Inibidor de Cloro

Foi realizado o procedimento de pesagem de 5,00 g de Arsenito de Sódio, seguido da dissolução em Água Reagente Tipo 1 dentro de uma capela de exaustão, utilizando um copo de vidro. Posteriormente, foi feito o ajuste do volume para 1000 mL em uma proveta de vidro, também com Água Reagente Tipo 1, e realizada a homogeneização. Esse reagente, caracterizado por sua incoloração e conforme consta no Standard Methods, dispensa a necessidade de testes adicionais.

3.1.5 Solução Ácida de Zirconila

Foi realizado o procedimento de pesagem de 0,266 g de Oxicloreto de Zircônio IV Octahidratado, seguido da dissolução em aproximadamente 200 mL de Água Reagente Tipo 1, utilizando um béquer de vidro. Em seguida, foi adicionado, sob banho de gelo e dentro de uma capela de exaustão, 700 mL de Ácido Clorídrico utilizando uma proveta de vidro. Após aguardar a solução esfriar, foi realizado o ajuste do volume para 1000 mL em uma proveta de vidro, com Água Reagente Tipo 1, e, posteriormente, realizada a homogeneização. Essa solução, caracterizada pela sua incoloração, não necessita de testes adicionais.

3.1.6 Solução SPADNS

O procedimento consistiu na pesagem de 1,916 g de SPADNS, seguida pela dissolução em uma pequena quantidade de Água Reagente Tipo 1, protegendo o recipiente de vidro da exposição à luz utilizando papel alumínio (devido a fotossensibilidade do corante SPADNS). O volume foi ajustado para 1000 mL em uma proveta de vidro com Água Reagente Tipo 1, e a solução foi homogeneizada. Esta solução, caracterizada por sua coloração vermelha, não necessita de testes adicionais.

3.1.7 Solução Complexo Zr-SPADNS

A operação consistiu na mistura de volumes equivalentes da Solução ácida de zirconila e da Solução SPADNS em um becker de plástico, realizada sob capela de exaustão. A solução resultante foi cuidadosamente homogeneizada usando um bastão de vidro. Este reagente, caracterizado por sua coloração vermelha, requer testes para validação e liberação, os quais serão abordados adiante.

3.1.8 Padrão de Flúor com rastreabilidade ao NIST (National Institute of Standards and Technology)

Nessa etapa, utilizou-se de um padrão de flúor pronto e obtido comercialmente (com a Neon Reagentes). A ideia de se usar um padrão de flúor pronto para fabricação dos kits e não produzir a partir de fluoreto de sódio se deve ao fato de minimizar o máximo de erros possíveis. A utilização de um padrão rastreável também é favorável caso haja inconsistências na curva de calibração (testes dos reagentes produzidos), permitindo uma maior precisão e rastreabilidade de erros, caso hajam.

3.1.9 Teste e Liberação dos Reagentes

No procedimento, foram preparadas soluções padrão de Flúor em diferentes concentrações ($0,10 \text{ mg.L}^{-1}$, $0,50 \text{ mg.L}^{-1}$, $1,00 \text{ mg.L}^{-1}$, $1,50 \text{ mg.L}^{-1}$ e $1,8 \text{ mg.L}^{-1}$) a partir do padrão rastreado de Flúor obtido comercialmente. Em seguida, uma prova em branco foi realizada em triplicata, utilizando Água Reagente Tipo 1, sem a adição de quaisquer reagentes. Posteriormente, foram transferidos volumes de 10,0 mL da prova em branco e dos padrões para tubos de ensaio, seguindo o protocolo de triplicata para cada padrão.

Após essa etapa, foi adicionado 2,00 mL da solução “Complexo Zr-SPADNS” a cada tubo de ensaio e agitado. As leituras foram imediatamente realizadas no Espectrofotômetro, selecionando o comprimento de onda em 595 nm. Esse comprimento de onda corresponde a faixa de comprimento em que o complexo Zr-SPADNS absorve radiação eletromagnética.

É recomendado pelo Standard Methods que, caso os reagentes obedeçam a linearidade da lei de Lambert-Beer, eles podem ser liberados e envasados para o

consumidor dos kits. O teste consiste em plotar a curva de absorbância x concentração para os padrões de fluor anteriormente preparados e medir o valor de R^2 (coeficiente de determinação). Com o valor de $R^2 \geq 0,995$ os reagentes podem ser liberados.

3.1.10 Envase e Conservação dos Reagentes

Após todos os reagentes produzidos terem sido testados, eles finalmente estavam prontos para envase. Durante o procedimento de envase, os reagentes foram transferidos de grandes recipientes para embalagens menores. A tabela a seguir apresenta o recipiente adequado para armazenar cada reagente, bem como prazo de validade e modo de conservação.

Tabela 3. Envase, Reposição e Conservação dos Reagentes produzidos

Reagente	Volume envase	Frasco	Kit	Validade	Conservação
Ácida Zirconila	100 mL	Frasco PEAD branco	Confidencial	1 ano	Refrigeração
Ácida Zirconila 2.0	210 mL	Frasco de Vidro Âmbar	Confidencial	2 anos	(20°C ± 5°C)
Inibidor de Cloro	10 mL	Frasco de Vidro Âmbar	Confidencial	2 anos	(20°C ± 5°C)
Isoinibidor de Cloro 2.0	53 mL	Frasco de Vidro Âmbar	Confidencial	2 anos	(20°C ± 5°C)
SPADNS	500 mL	Frasco PEAD branco	Confidencial	2 anos	(20°C ± 5°C)

- Contraprova - Ácida Zirconila / Ácida Zirconila 2.0: Foram armazenados 30 mL em outro frasco, identificados e guardados durante prazo de validade;
- Contraprova - Inibidor de Cloro / Inibidor de Cloro 2.0: Foram armazenados 15 mL em outro frasco, identificados e guardados durante prazo de validade;
- Contraprova - SPADNS: Foram armazenados 50 mL em outro frasco, identificados e guardados durante prazo de validade;

Menciona-se contraprova no envase de produtos químicos os reagentes em que futuramente pode-se haver necessidade de um procedimento adicional realizado

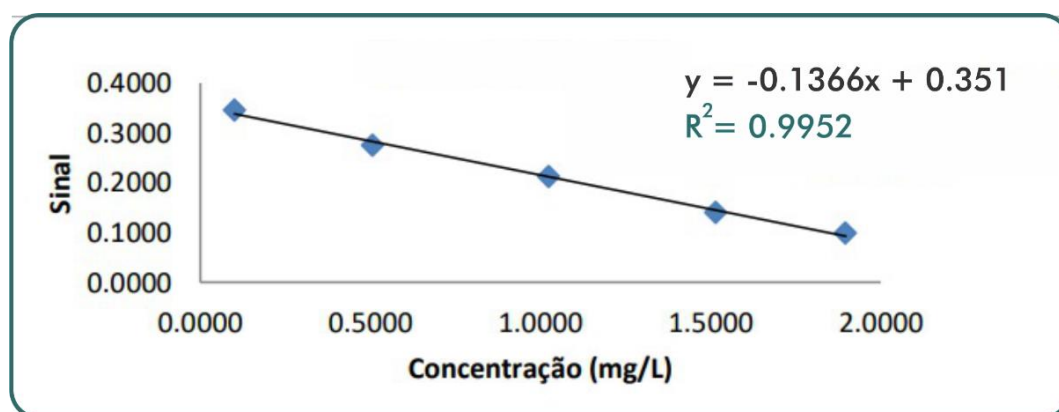
para verificar a precisão e a qualidade do envase. Esse processo consiste em realizar uma segunda medida (caso necessário), geralmente utilizando métodos diferentes ou por meio de um operador diferente, para confirmar os resultados obtidos na operação inicial de envase.

4 RESULTATOS E DISCUSSÃO

4.1.1 Teste e liberação dos reagentes

A figura a seguir representa a curva plotada de absorbância em função da concentração para os diferentes padrões de flúor anteriormente preparados e reagentes testados conforme mencionados na seção 3.1.9.

Figura 4. Gráfico de Absorbância em Função da Concentração para os Padrões de Flúor



Para o flúor, a curva apresenta comportamento linear descendente. Isso ocorre porque à medida que a concentração de íons fluoreto na amostra aumenta, tem-se a formação do complexo incolor hexafluorozirconato (ZrF_6^-). Sendo assim, um aumento de fluoretos presente no sistema indica uma diminuição na absorbância.

O valor de R^2 , conhecido como coeficiente de determinação, é uma medida estatística que indica o quão bem os pontos de dados se ajustam a uma linha ou curva de regressão. Ele varia de 0 a 1 e fornece uma indicação da proximidade dos pontos de dados em relação à linha de melhor ajuste (a linha de regressão). O valor obtido de $R^2 \geq 0.995$, representa que os reagentes obedecem muito bem a linearidade da lei de Lambert-Beer e podem eventualmente ser envasados e liberados para venda ao consumidor.

Em outras palavras, a maior parte da variabilidade dos dados é explicada pelo modelo estatístico utilizado para fazer o ajuste, o que sugere que o modelo é altamente preciso para prever e explicar os resultados observados. Isso é um indicativo de boa precisão e confiabilidade dos reagentes preparados e também do próprio método em questão durante os testes e validação.

4.1.2 Tratamento de dados

A fórmula para calcular a concentração de fluoreto em mg.L^{-1} é dada pela equação 8 abaixo:⁴

$$\text{mg.L}^{-1} . F^{-} = \frac{A}{\text{mL sample}} x \frac{B}{C} \quad (8)$$

Onde:

- A = μg de F^{-} determinados a partir da curva traçada;
- B = volume final da amostra diluída (mL);
- C = volume da amostra diluída usado para o desenvolvimento da cor (mL).³

A equação acima é derivada da curva de calibração plotada, onde os valores de absorvância são relacionados às concentrações conhecidas de fluoreto. A equação relaciona a absorvância medida (A) com o volume final da amostra diluída (B) e o volume da amostra usado para o desenvolvimento da cor (C).⁴

Quando o padrão preparado de $0 \text{ mg/L } F^{-}$ é utilizado para configurar o fotômetro, a concentração de fluoreto pode ser alternativamente calculada usando a equação 9 abaixo:⁴

$$\text{mg.L}^{-1} . F^{-} = \frac{A_0 - A_x}{A_0 - A_1} \quad (9)$$

Onde:

- A_0 = Absorvância do padrão preparado de 0 mg.L^{-1} de fluoreto;
- A_x = Absorvância da amostra preparada;

- A_1 = Absorbância do padrão preparado de 1,0 mg.L⁻¹ de fluoreto.⁴

A equação acima, tirada do Standard Methods, representa uma forma alternativa de calcular a concentração de fluoreto, mas com base na utilização das diferenças entre as absorvâncias de diferentes soluções-padrão. Ela compara a absorvância da amostra (A_x) com a absorvância do padrão de 0 mg.L⁻¹ de fluoreto (A_0) e do padrão de 1,0 mg.L⁻¹ de fluoreto (A_1). Dessa forma, é possível calcular a concentração desconhecida da amostra utilizando as diferenças entre as absorvâncias medidas nos padrões conhecidos.⁴ A tabela a seguir apresenta as concentrações, incertezas nas concentrações e os valores de absorvância para os diferentes padrões de flúor preparados de forma gravimétrica.

Tabela 4. Concentrações, Incerteza nas Concentrações e Valores de Absorbância para os Diferentes Padrões de Flúor Preparados.

Concentração nominal (mg.L ⁻¹)	Concentração informada (mg.L ⁻¹)	Incerteza na concentração (mg.L ⁻¹)	Sinal do Equipamento Absorbância
0,1	0,1005	0,0006	0,3457
0,5	0,5068	0,0030	0,2742
1,0	1,0245	0,0002	0,2114
1,5	1,5159	0,0016	0,1395
1,8	1,8974	0,0110	0,0987

As leituras de absorvância dos reagentes produzidos e que precisavam ser testados, no caso a “Solução Complexo Zr-SPADNS” (de coloração avermelhada) foram lineares e compatíveis com a lei de Lambert-Beer. Dessa forma, todos os reagentes foram liberados para envase, conforme explicitado anteriormente.

4.1.3 Uma adaptação do Standard Methods

O método utilizado no presente estudo para confecção dos kits para se determinar fluoreto em amostras de água e efluentes é uma adaptação do método original do (SM). Algumas adaptações foram feitas devido a limitações no laboratório

de operação e reagentes disponíveis. A primeira delas diz respeito aos reagentes: quase todos os reagentes utilizados no método adaptado são semelhantes ao original do compêndio Standard, com exceção ao padrão de flúor. No caso do presente estudo, utilizou-se de um padrão pronto comercializado pela Neon Reagentes como padrão de flúor. Conforme explicitado anteriormente, a escolha foi feita para minimizar o máximo de erros possíveis.⁴

Uma outra diferença do presente método para o original disponível no compêndio é a detecção de possíveis interferentes (conforme explicitado na seção “2.1.7 Agentes interferentes”)⁴. O Standard Methods recomenda que sempre que uma única substância estiver presente em quantidade suficiente para produzir um erro de 0,1 mg.L⁻¹ ou sempre que o efeito total da interferência estiver em dúvida, a amostra deve ser destilada. Nesse estudo, não foi possível medir os interferentes e consequentemente realizar esse tipo de operação (destilação), caso fosse necessário.⁴

No entanto, embora seja uma adaptação ainda em estudo, o método disponível nesse trabalho seguiu os padrões e procedimentos estabelecidos pelo compêndio original Standard Methods⁴, respeitando quase todos os princípios fundamentais para a determinação de fluoreto em amostras de água e efluentes (principalmente a linearidade da Lei de Lambert-Beer). Embora tenham sido realizadas adaptações necessárias para contornar limitações laboratoriais, a análise se manteve dentro dos critérios de exatidão e precisão requeridos para a avaliação confiável da concentração de fluoreto nas amostras.⁴

4.1.4 Método Adaptado, Standard Methods e a ISO/IEC 17025

A norma ISO/IEC 17025 é uma referência internacional criada pela colaboração da International Organization for Standardization (ISO) e da International Electrotechnical Commission (IEC). Seu foco está na definição dos requisitos que laboratórios de ensaio e calibração devem atender para garantir sua competência técnica.¹⁶

Essa norma abrange áreas fundamentais, desde a gestão da qualidade até a validação de métodos e rastreabilidade das medições, assegurando que os laboratórios possam realizar ensaios e calibrações de forma consistente e confiável. A adesão aos parâmetros da ISO/IEC 17025 é essencial para demonstrar a qualidade,

precisão e confiabilidade dos resultados gerados por esses laboratórios em setores variados, como saneamento, alimentos, meio ambiente e indústria.¹⁶

Os laboratórios que utilizam os procedimentos descritos no Standard Methods podem adotar a ISO/IEC 17025 para certificar sua competência técnica e qualidade dos resultados analíticos, demonstrando conformidade com os padrões internacionais de gestão da qualidade e competência técnica exigidos pela ISO/IEC 17025. Isso contribui para a credibilidade e reconhecimento global das análises realizadas pelos laboratórios de acordo com os métodos descritos no Standard Methods.¹⁶

É de extrema importância ressaltar que, por ser um projeto que ainda está amadurecendo, o método adaptado nesse estudo para fabricação dos kits de determinação de fluoreto, não possui a ISO/IEC 17025 reconhecida pelo INMETRO. Porém, vale reconhecer que essa seria uma forma eficaz de dar ainda mais credibilidade aos kits disponibilizados aos potenciais clientes.¹⁶

4.1.5 Avaliando Eficiência e Precisão do Método SPADNS

De acordo com Standard Methods, uma amostra sintética com uma concentração aproximada de $0,830 \text{ mg.L}^{-1}$ de fluoreto e sem nenhuma interferência em água destilada foi examinada em 53 laboratórios por meio do método SPADNS, com um desvio padrão relativo de 8,0% e um erro relativo de 1,2%. Após a destilação direta dessa amostra, o desvio padrão relativo aumentou para 11,0%, e o erro relativo foi de 2,4%.⁴

Quanto menor a variação entre os resultados obtidos em diferentes medições do mesmo item, maior é a precisão. No exemplo fornecido pelo compêndio, a porcentagem do desvio padrão relativo (8,0% para 11,0%) indica uma diminuição na precisão após a destilação direta da amostra. Quanto menor a porcentagem do desvio padrão relativo, maior é a precisão dos resultados.⁴

Ainda segundo o Standard Methods, uma outra amostra sintética contendo $0,570 \text{ mg.L}^{-1}$ de Fluoreto, 10 mg.L^{-1} de interferente alumínio (III), 200 mg.L^{-1} de sulfato e 300 mg de alcalinidade proveniente de carbonato de cálcio total por litro foi analisada em 53 laboratórios pelo método SPADNS, sem destilação, com um desvio

padrão relativo de 16,2% e um erro relativo de 7,0%. Após destilação direta da amostra, o desvio padrão relativo foi de 17,2% e o erro relativo foi de 5,3%.⁴

Um desvio padrão relativo de 16,2% indica uma maior dispersão dos resultados em comparação com um desvio de 17,2%, o que sugere uma maior variabilidade nos resultados após a destilação direta da amostra (eliminando os interferentes). Nesse caso, o desvio padrão menor é diretamente associado a uma maior precisão, enquanto um desvio padrão maior, indica uma maior variação nos resultados.⁴

Analisando o erro relativo, que para esse caso em particular é de 7,0% antes da destilação e depois registrado 5,3% após a destilação, fornece a diferença percentual entre o valor obtido experimentalmente e o valor considerado como verdadeiro ou aceito. Isso quer dizer que um erro relativo menor indica uma menor discrepância entre os resultados obtidos de forma experimental e o valor teoricamente correto, sugerindo uma precisão relativamente melhor.⁴

Dessa forma, menores desvios padrão relativos e menores erros relativos indicam uma precisão maior entre as medições, demonstrando um certo grau de concordância e aceitação entre os resultados obtidos nos diferentes laboratórios que utilizaram do o método SPADNS para determinação de fluoreto em amostras de águas e efluentes.⁴

Por fim, vale a pena ressaltar um último caso mencionado no Standard Methods, onde um exemplo simulado contendo 0,680 mg.L⁻¹ de fluoreto, 2 mg.L⁻¹ de alumínio, 2,5 mg.L⁻¹ de (NaPO₃)⁶, 200 mg.L⁻¹ de sulfato e 300 mg de alcalinidade total por litro foi testado em 53 laboratórios utilizando métodos de destilação direta e SPADNS. Esse teste revelou um desvio padrão relativo de 2,8% e um erro relativo de 5,9%. Esses valores sugerem uma maior consistência entre os resultados dos laboratórios, mesmo que o erro relativo tenha sido mais alto do que no primeiro caso. Indicando, assim, um certo grau de eficiência e precisão do método SPADNS.⁴

5 CONCLUSÃO

A produção do kit contendo reagentes para à determinação de fluoreto em amostras de água e efluentes foi realizada seguindo diretrizes adaptadas do método padrão, conforme descrito no Standard Methods. A adaptação exigiu uma meticulosa seleção de reagentes e alguns procedimentos alternativos, visando superar as

limitações do laboratório e garantir a viabilidade dos testes. O processo de adaptação, embora desafiador a princípio, foi concluído conforme as expectativas, permitindo a obtenção dos reagentes necessários para a realização dos testes de maneira eficiente e confiável. Todos os reagentes testados obedeceram a linearidade estabelecida pela lei de Lambert-Beer e puderam ser liberados, envasados e vendidos para os consumidores.

Devido ao método adaptado no presente estudo ser uma derivação do Standard Methods, a própria realização de testes mais exaustivos e abrangentes dos reagentes produzidos tornou-se inviável. Este projeto, ainda em fase de desenvolvimento, não permitiu a condução de testes laboratoriais detalhados, em conformidade com a rigidez dos padrões exigidos pela ISO/IEC 17025. Por esta razão, não foi possível obter a creditação do kit produzido junto ao INMETRO de acordo com esta norma reconhecida internacionalmente.

A seleção para adaptação do método SPADNS, presente no Standard Methods, se deu pela sua reconhecida confiabilidade globalmente. Este método é amplamente adotado em laboratórios de diversos países, refletindo uma escolha que se fundamenta na sua comprovada eficácia. A relevância intrínseca de determinar os níveis de fluoreto em amostras de água é um fator preponderante, considerando sua significativa influência na saúde pública e também no meio ambiente. Dentro desse contexto, os kits desenvolvidos podem desempenhar um papel crucial no mercado, destacando-se pela importância de garantir a qualidade e segurança dos recursos hídricos consumidos pela população.

A adaptação dos kits para o mercado indicam uma promissora alternativa para análises de fluoreto, uma vez que buscou-se ao máximo simplificar o procedimento, tornando-o mais acessível, em conformidade com o padrão original. Entretanto, para futuros trabalhos associados ao tema, sugere-se que busque a acreditação conforme a ISO / IEC 17025. Tal creditação é de tamanha importância, pois poderia conferir uma maior credibilidade aos kits produzidos, fortalecendo sua confiabilidade e reconhecimento no mercado, reforçando, assim, a importância de realizar estudos que busquem validar e assegurar a qualidade desses produtos para sua aplicação industrial em larga escala.

Ainda é importante ressaltar que, todos os reagentes utilizados para a confecção do kit obedeceram os 12 princípios da química verde. Sendo assim, é

correto afirmar que o projeto é viável e ambientalmente amigável, permitindo oportunidades para estudos futuros.

Por fim, vale mencionar que, devido a questões de sigilo e confidencialidade estabelecidas pela própria SorenLab, alguns dos resultados associados com a validação, exatidão e eficiência dos kit preparados não puderam ser expressos no presente trabalho.

REFERÊNCIAS

1. CETESB. Fluor - Fluoretos [online]. Disponível em: <http://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2013/11/fluor-fluoretos.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2023.
2. FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/mnl_fluoretacao_2.pdf. Acesso em: 23 nov. 2023.
3. WANG, P. et al. A Review of the Carbon-Based Solid Transducing Layer for Ion-Selective Electrodes. *Molecules*, v. 28, n. 14, p. 5503, 1 jan. 2023.
4. STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 23º Ed. 2017. Método SPADNS.
5. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO — Português (Brasil). Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/orgaos/agencia-nacional-de-aguas>. Acesso em: 23 nov. 2023
6. BUDISA, N.; KUBYSHKIN, V.; SCHULZE-MAKUCH, D. Fluorine-Rich Planetary Environments as Possible Habitats for Life. *Life*, v. 4, n. 3, p. 374–385, 18 ago. 2014.
7. STANDARD METHODS. Disponível em: <https://www.standardmethods.org/about/>. Acesso em: 23 nov. 2023.
8. BELLACK, E.; SCHOUBOE, P.J. Rapid Photometric Determination of Fluoride in Water. Use of Sodium 2-(parasulfophenylazo)-1,8-dihydroxy-3,6-naphthalenedisulfonate–Zirconium Lake. *Analytical Chemistry*, v. 30, n. 12, p. 2032–2034, Dec. 1958.
9. SILVA, DANIELA & DE AZEVEDO SANTOS, LUCAS & FREITAS, MATHEUS & FONSECA GUERRA, CÉLIA & HANLIM, TREVOR. (2020). Nature and Strength of Lewis Acid/Base Interaction in Boron and Nitrogen Trihalides. *Chemistry - An Asian Journal*. 10.1002/asia.202001127.
10. CESAD/UFBA. Métodos Instrumentais de Análise - Aula 02 [online]. Disponível em: http://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalago/18025316022012Metodos_Instrumentais_de_Analise_-_Aula_02.pdf. Acesso em: 23 nov. 2023.
11. PAUL, E. D.; GIMBA, C. E.; KAGBU, J. A.; NDUKWE G. I. Investigation into a Novel Method for Fluoride Monitoring - The BIMI Method. *Journal of Basic and Applied Chemistry*, v. 1, n. 8, p. 52-57, Aug. 2011.
12. DILEEP, D. SPECTROPHOTOMETRY AND SPECTROMETRY -CONCEPT AND APPLICATIONS. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://ijariie.com/AdminUploadPdf/SPECTROPHOTOMETRY_AND_SPECTROMETRY_CONCEPT_AND_APPLICATIONS_1528.pdf.

13. OSHINA, I.; SPIGULIS, J. Beer–Lambert law for optical tissue diagnostics: current state of the art and the main limitations. *Journal of Biomedical Optics*, v. 26, n. 10, p. 100901, 1 out. 2021.
14. ANASTAS, P.; EGHBALI, N. *Green Chemistry: Principles and Practice*. Chem. Soc. Rev., v. 39, n. 1, p. 301–312, 2010.
15. CALIBRAÇÃO RBC. QUÍMICA BRASILEIRA. Disponível em: <https://www.quimicabrasileira.com.br/equipamentos/calibracao-rcb/>. Acesso em: 12 dez. 2023.
16. MONTEIRO BASTOS DA SILVA, J. et al. Improving Exposure Assessment Using Non-Targeted and Suspect Screening: The ISO/IEC 17025: 2017 Quality Standard as a Guideline. *Journal of Xenobiotics*, v. 11, n. 1, p. 1–15, 26 jan. 2021.