



# NORMA TÉCNICA

L5.128

Jan/1978  
18 PÁGINAS

Determinação de fósforo em águas: método do ácido ascórbico

RENOVADA

**Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**  
Avenida Professor Frederico Hermann Jr., 345  
Alto de Pinheiros CEP 05459-900 São Paulo SP  
Tel.: (11) 3133 3000 Fax.: (11) 3133 3402

<http://www.cetesb.sp.gov.br>

DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO EM ÁGUAS - MÉTODO DO ÁCIDO ASCÓRBICO

SUMÁRIO

	Páginas
Introdução.....	1
1 Objetivo.....	1/2
2 Definições.....	2/3
3 Aparelhagem.....	3/5
4 Execução do Ensaio.....	5/14
5 Resultados.....	14/15
Anexo A.....	a1/a2
Anexo B.....	b1

INTRODUÇÃO

O fósforo nas suas várias formas aparece em águas naturais e em efluentes domésticos e industriais, oriundo de várias fontes.

Nos sistemas de abastecimento os polifosfatos podem ser empregados como controladores da corrosão, para estabilizar carbonato de cálcio. Nas instalações industriais são empregados para controlar a formação de incrustações em caldeiras. Os esgotos domésticos são naturalmente ricos em fósforo, e a concentração de fosfatos ultimamente vem aumentando, dado o uso sempre crescente de detergentes sintéticos, que contêm fosfatos. Os organismos envolvidos nos processos biológicos de tratamento de despejos industriais e domésticos requerem fósforo para sua reprodução e sínteses.

Esgotos domésticos contêm fósforo em quantidade suficiente para a mineralização da matéria orgânica, tanto que aparece em quantidades razoáveis em efluentes de estações de tratamento de esgotos; já quando se trata de efluentes industriais pode ser necessário adicionar fosfato ao efluente a ser biologicamente tratado.

Os ortofosfatos são largamente empregados como fertilizantes comuns, e são levados pelas chuvas até os cursos d'água.

O fósforo é essencial ao crescimento dos organismos das águas superficiais, como por exemplo os microrganismos plancton, especialmente algas; pode ser o nutriente que limita a produtividade destas águas, e neste caso o lançamento de despejos tratados ou não, ou o carreamento de fertilizantes para as águas superficiais que pode estimular o desenvolvimento excessivo de organismos.

Fosfatos acumulam-se ainda em sedimentos de fundo de águas e em lodos biológicos.

Existem vários métodos colorimétricos de determinação de fósforo na forma de ortofosfato, tais como o do ácido vanadomolibdofosfórico, o da redução com clorato estânico e o do ácido ascórbico.

1 OBJETIVO

1.1 A presente Norma prescreve o método de determinação de fósforo, nas várias formas em que pode ocorrer, em amostras de águas naturais e de abastecimento, efluentes domésticos e industriais, águas de mar e lodos.

1.2 O presente método se aplica para a determinação de fósforo em concentrações de 0,01 a 6 mg/l.

## 2 DEFINIÇÕES

Para os efeitos desta Norma são adotadas as seguintes definições:

### 2.1 Fosfato total (filtrável e não filtrável)

É o conjunto de todas as porções de fósforo da amostra.

### 2.2 Fosfato total filtrável

É a porção do fósforo total da amostra que passa por um filtro de membrana de 0,45 µm de porosidade.

### 2.3 Fosfato total não filtrável

É a porção do fósforo total da amostra que fica retida num filtro de membrana de 0,45 µm de porosidade.

### 2.4 Ortofosfato total (filtrável e não filtrável)

É a porção de fósforo da amostra que responde a testes colorimétricos sem oxidação ou hidrólise ácida prévias.

### 2.5 Ortofosfato filtrável

É a porção do ortofosfato total da amostra que passa por um filtro de membrana de 0,45 µm de porosidade.

### 2.6 Ortofosfato não filtrável

É a porção do ortofosfato total da amostra que fica retida num filtro de membrana de 0,45 µm de porosidade.

### 2.7 Fosfato ácido-hidrolisável total (filtrável e não filtrável)

É a porção do fósforo da amostra que por hidrólise ácida se transforma em ortofosfato.

NOTA: O fosfato ácido-hidrolisável também é chamado de fosfato condensado.

### 2.8 Fosfato ácido-hidrolisável filtrável

É a porção de fosfato ácido-hidrolisável da amostra que passa por um filtro de membrana de 0,45 µm de porosidade.

### 2.9 Fosfato ácido-hidrolisável não filtrável

É a porção do fosfato ácido-hidrolisável da amostra que fica retida num filtro de membrana de 0,45 µm de porosidade.

### 2.10 Fosfato orgânico total (filtrável e não filtrável)

É a porção do fósforo da amostra que só se transforma em ortofosfato por destruição oxidativa da matéria orgânica a que o fósforo está ligado.

### 2.11 Fosfato orgânico filtrável

É a porção do fosfato orgânico da amostra que passa por um filtro de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade.

### 2.12 Fosfato orgânico não filtrável

É a porção do fosfato orgânico da amostra que fica retida num filtro de membrana de porosidade 0,45  $\mu\text{m}$ .

## 3 APARELHAGEM

### 3.1 Vidraria, materiais e equipamentos

NOTA: Toda a vidraria empregada na coleta e na determinação do fosfato é lavada com solução de ácido clorídrico 1 + 1, a quente, e nunca com detergente.

3.1.1 Cápsula de porcelana, 100 ml.

3.1.2 Proveta comum, tipo pyrex, 100 ml.

3.1.3 Erlenmeyers, tipo pyrex, 125 e 250 ml.

3.1.4 Vidro de relógio, diâmetro 8 cm.

3.1.5 Pérolas de ebulição, tipo pyrex.

3.1.6 Kitassato, 500 ml, tipo pyrex.

3.1.7 Balões volumétricos, classe A, volumes diversos, tipo pyrex.

3.1.8 Balões volumétricos, classe B, volumes diversos, tipo pyrex.

3.1.9 Pipetas volumétricas, classe A, volumes diversos, tipo pyrex.

3.1.10 Pipetas volumétricas, classe B, volumes diversos, tipo pyrex.

3.1.11 Pipetas graduadas, 5 e 10 ml, com subdivisões de 0,1 ml.

3.1.12 Balão Kjeldahl, tipo pyrex, 800 ml.

3.1.13 Filtro de membrana, 0,45  $\mu\text{m}$ , lavado por imersão em água destilada durante 24 horas.

3.1.14 Suporte para filtro de membrana.

3.1.15 Espectrofotômetro, para uso a 880 nm.

### 3.1.16 Acessórios do espectrofotômetro:

- tubos calibrados, 20 mm (ou 3/4") e outras medidas;
- adaptador para tubos.

NOTA: Ver em anexo, cuidados com o espectrofotômetro.

### 3.1.17 Óculos de segurança.

### 3.1.18 Sistema para digestão de amostras, constituído de chapa aquecedora e exaustor de fumos.

### 3.1.19 Chapa elétrica comum.

### 3.1.20 Autoclave, para operar a 121°C e 15-20 psi.

### 3.1.21 Vácuo.

### 3.1.22 Capela.

## 3.2 Reagentes

### 3.2.1 Ácido nítrico, $\text{HNO}_3$ , conc. p.a.

### 3.2.2 Ácido perclórico, $\text{HClO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , p.a., com 70% em $\text{HClO}_4$ .

### 3.2.3 Ácido sulfúrico, $\text{H}_2\text{SO}_4$ , conc., $D=1,84$ , p.a.

### 3.2.4 Ácido ascórbico, sólido, p.a.

### 3.2.5 Solução de hidróxido de sódio 1N:

- Dissolver 40 g NaOH, p.a., em água destilada e completar o volume a 1000 ml.

### 3.2.6 Solução de hidróxido de sódio 6N:

- Dissolver 240 g NaOH, p.a., em água destilada e completar o volume a 1000 ml.

### 3.2.7 Solução de ácido sulfúrico 30%:

- Adicionar, LENTAMENTE, 300 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , conc., p.a., a 600 ml de água destilada, e completar o volume a 1000 ml.

### 3.2.8 Solução concentrada de ácidos:

- Adicionar, LENTAMENTE, 300 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , conc., p.a., a 600 ml de água destilada, esfriar, adicionar 4,0 ml  $\text{HNO}_3$ , conc., p.a., e completar o volume a 1000 ml com água destilada.

### 3.2.9 Solução de persulfato de potássio (preparar diariamente):

- Dissolver 5 g  $K_2S_2O_8$  em água destilada, e completar a 100 ml em balão volumétrico.

### 3.2.10 Solução indicadora de fenolftaleína.

### 3.2.11 Solução indicadora de metil-orange.

### 3.2.12 Mistura combinada:

- Dissolver 0,13 g antimonil tartarato de potássio,  $KSbOC_4H_4O_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O$  em 700 ml de água destilada;
- Adicionar 5,6 g molibdato de amônio,  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$  e dissolver;
- Adicionar 70 ml  $H_2SO_4$  conc., esfriar e diluir a 1000 ml em balão volumétrico.
- Guardar em frasco plástico e em local fresco.

### 3.2.13 Reagente combinado ( estabilidade 1 semana):

- No momento do uso, adicionar 0,50 g de ácido ascórbico, p.a. a 100 ml de mistura combinada. Se se apresentar turva, deixar a mistura em repouso por alguns minutos até desaparecer a turbidez.
- Guardar em geladeira.

### 3.2.14 Solução-estoque de fosfato:

- Dissolver 219,5mg fosfato diácido de potássio anidro,  $K_2H_2PO_4$ , p.a., em água destilada e completar a 1000 ml com água destilada, em balão volumétrico. 1,00 ml = 50  $\mu g$   $PO_4^{3-}$  em P.

### 3.2.15 Solução-padrão de fosfato:

- Diluir 50,0 ml da solução-estoque de fosfato (3.2.16) a 1000 ml com água destilada, em balão volumétrico. 1,00 = 2,50  $\mu g$   $PO_4^{3-}$  em P.

## 4 EXECUÇÃO DO ENSAIO

### 4.1 Princípios gerais dos métodos

4.1.1 O fósforo na forma a ser determinada é previamente convertido em ortofosfato solúvel por processo apropriado, e o ortofosfato solúvel é determinado colorimetricamente pelo método do ácido ascórbico.

4.1.2 O método do ácido ascórbico consiste em reagir o ortofosfato com molibdato de amônio e antimonil tartarato de potássio em meio ácido, e reduzir o ácido fosfomolibdico formado a azul de molibdênio. A intensidade da cor deste composto, proporcional à concentração de ortofosfato, é lida em espectrofotômetro a 880 nm.

4.1.3 Os processos prévios que se emprega para converter fósforo, na forma a ser determinada, em ortofosfato solúvel podem ser:

4.1.3.1 Filtração preliminar: consiste em filtrar a amostra por filtro de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ , para separar as formas filtráveis de fósforo das formas não filtráveis.

4.1.3.2 Hidrólise ácida preliminar: consiste em ferver uma amostra acidificada, filtrada ou não, durante 90 minutos ou durante 30 minutos em autoclave a 1,0 - 1,4  $\text{kg/cm}^2$  de pressão, para converter fosfatos condensados em ortofosfatos solúveis. Com a hidrólise ácida são também inevitavelmente convertidos alguns fosfatos orgânicos, o que no entanto é minimizado escolhendo o ácido, o tempo e a temperatura convenientes para a hidrólise.

4.1.3.3 Digestão preliminar: consiste em aquecer a amostra em presença de oxidante forte adequado, para converter em ortofosfato solúvel as frações de fosfato orgânico em suspensão ou em combinação com matéria orgânica através de ligações C-P ou C-O-P, destruindo a matéria orgânica presente. Existem três métodos:

- a) do ácido perclórico - a mais enérgica, e se aplica especialmente para lodos;
- b) do ácido sulfúrico - ácido nítrico - é a indicada na maioria dos casos;
- c) do persulfato - a mais simples, que se emprega quando é sabido que a sua eficiência é comparável à dos processos mais enérgicos.

## 4.2 Interferentes

4.2.1 Cor e turbidez elevadas interferem na determinação colorimétrica, e a interferência é minimizada efetuando-se uma prova em branco.

4.2.2 Cromo hexavalente leva a resultados 3% mais baixos quando presente em concentrações da ordem de 1  $\text{mg/l}$ , e 10 - 15% mais baixos quando as concentrações são de 10  $\text{mg/l}$ .

4.2.3 Nitrito leva a resultados 3% mais baixos quando presente em concentrações da ordem de 1  $\text{mg/l}$ , e 10 - 15% mais baixos quando as concentrações são de 10  $\text{mg/l}$ .

4.2.4 Sulfetos não interferem quando em concentrações de até 1  $\text{mg/l}$ .

4.2.5 Silicatos não interferem quando em concentrações de até 10  $\text{mg/l}$ .

4.2.6 Arsenatos interferem positivamente na determinação colorimétrica, produzindo cor azul semelhante a cor produzida pelo fosfato.

## 4.3 Coleta de amostras

4.3.1 As amostras para determinação das várias formas de fosfato são coletadas em frascos de vidro lavado com ácido clorídrico diluído e quente, e nunca lavado com detergente. O volume necessário é de 300 ml por forma.

4.3.2 As amostras para determinação das formas filtráveis são filtradas, no mo

mento da coleta, por filtro de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ , ou de outra porosidade mencionada.

4.3.3 As amostras para determinação das várias formas de fosfato são preservadas por refrigeração a 4°C, e o prazo para análise é de 7 dias para fósforo total e de 24 horas para as formas de fosfato.

#### 4.4 Procedimentos preliminares

##### 4.4.1 Filtração preliminar, no momento da coleta.

4.4.1.1 Colocar o filtro de membrana no funil adequado, e ligar o sistema ao vácuo.

4.4.1.2 Filtrar 200 - 300 ml de amostra.

NOTA: Em casos de amostras difíceis de serem filtradas, pode ser usado um pré-filtro de fibra de vidro.

##### 4.4.2 Hidrólise ácida preliminar.

4.4.2.1 A 100 ml de amostra, ou a um volume menor diluído a 100 ml, adicionar 1 gota de solução indicadora de fenolftaleína (3.2.10); se resultar coloração rósea, adicionar solução concentrada de ácidos (3.2.8) gota a gota até desaparecer a coloração, e acrescentar 1 ml em excesso.

4.4.2.2 Ferver a mistura por pelo menos 90 minutos, adicionando água destilada para manter o volume entre 25 e 50 ml, a amostra pode também ser aquecida por 30 minutos em autoclave a pressão de 1,0 a 1,4  $\text{kg/cm}^2$  (15 a 20 psi).

4.4.2.3 Esfriar, neutralizar com solução de NaOH 6N (3.2.6), até uma coloração rósea e completar o volume original com água destilada em balão volumétrico.

##### 4.4.3 Digestão preliminar com ácido perclórico

4.4.3.1 ATENÇÃO: Misturas aquecidas de ácido perclórico e matéria orgânica podem explodir violentamente. Para evitar este perigo, observar as seguintes recomendações:

- não adicionar  $\text{HClO}_4$  a uma solução quente que possa conter matéria orgânica;
- sempre pretratar amostras que contêm matéria orgânica com  $\text{HNO}_3$  antes de adicionar  $\text{HClO}_4$ ;
- usar  $\text{HNO}_3$  e  $\text{HClO}_4$  para iniciar a digestão;
- evitar digestões repetidas com ácido perclórico;
- não deixar amostras digeridas com  $\text{HClO}_4$  evaporarem até a secura;
- operar em capela.

4.4.3.2 Tomar 100 ml ou uma alíquota adequada em 1 cápsula, acidular com ácido nítrico concentrado (3.2.1) até a viragem do metil-orange e adicionar um excesso de 5 ml.

4.4.3.3 Evaporar em banho-maria ou chapa até restarem 15 - 20 ml, cobrindo a capsula com vidro de relógio.

4.4.3.4 Transferir a amostra evaporada para um Erlenmeyer de 125 ml, usando



5 ml de ácido nítrico concentrado (3.2.1) para lavar a cápsula.

4.4.3.5 Esfriar, adicionar 5 ml de ácido nítrico concentrado e 10 ml de ácido perclórico (3.2.2). Juntar algumas pérolas de vidro, e evaporar lentamente até fumos brancos densos de ácido perclórico. Se a solução neste ponto não estiver clara, cobrir a boca do frasco com um vidro de relógio e deixar digerindo fracamente (fervura leve) até clarear. Se necessário, juntar mais 10 ml de ácido nítrico.

4.4.3.6 Esfriar e adicionar 1 gota de fenolftaleína (3.2.10). Neutralizar com solução de hidróxido de sódio 6N (3.2.6).

4.4.3.7 Filtrar se necessário, lavando o filtro com bastante água destilada. Juntar as águas de lavagem ao filtrado. Completar o volume a 100 ml com água destilada, em balão volumétrico.

#### 4.4.4 Digestão com ácido sulfúrico - ácido nítrico

4.4.4.1 Num balão Kjeldahl colocar 100 ml ou uma alíquota adequada de amostra.

4.4.4.2 Adicionar 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (3.2.3) e 10 ml de ácido nítrico concentrado (3.2.1), digerir até reduzir o volume a 1 ml, e continuar a digestão até que a solução se torne incolor, removendo assim o ácido nítrico.

4.4.4.3 Esfriar, adicionar 10 ml de ácido clorídrico concentrado, e digerir novamente até fumos.

4.4.4.4 Esfriar e adicionar cerca de 20 ml de água destilada e uma gota de solução de fenolftaleína. Adicionar solução de hidróxido de sódio 1N (3.2.5) até coloração rósea ligeira.

4.4.4.5 Neutralizar com ácido sulfúrico concentrado (3.2.3).

4.4.4.6 Transferir a mistura para um balão volumétrico de 100 ml; se necessário, filtrar para remover material em suspensão e turbidez, lavando o filtro com água destilada e juntando as águas de lavagem no balão também, completar o volume do balão com água destilada.

#### 4.4.5 Digestão preliminar com persulfato

4.4.5.1 Num Erlenmeyer de 250 ml colocar 100 ml de amostra, ou uma alíquota adequada diluída a 100 ml.

4.4.5.2 Adicionar 1 gota de solução de fenolftaleína; se a solução se colorir, descolori-la com solução de ácido sulfúrico (3.2.7) gota a gota; adicionar 1 ml de excesso de solução de ácido sulfúrico (3.2.7); adicionar 15 ml de solução de persulfato de potássio (3.2.9).

4.4.5.3 Ferver a mistura durante 30 minutos em placa pré-aquecida, mantendo o volume em 25 - 50 ml com água destilada.

ALTERNATIVA: Aquecer em autoclave por 30 minutos, 15 - 20 psi.

4.4.5.4 Esfriar, adicionar uma gota de solução de fenolftaleína e adicionar solução de hidróxido de sódio até coloração rósea.

4.4.5.5 Transferir a mistura quantitativamente para um balão volumétrico de 100 ml, e completar até a marca com água destilada.

#### 4.5 Método A - Fósforo total (filtrável e não filtrável)

##### 4.5.1 Princípio do método

A amostra total é digerida com oxidante adequado, e o ortofosfato é determinado colorimetricamente pelo método ácido ascórbico.

**NOTA:** Amostras altamente salinas precipitam sal durante a redução do volume por digestão. Neste caso determinar fosfato total filtrável (Método B) e fosfato total não filtrável (Método C) separadamente, e somar os resultados.

##### 4.5.2 Procedimento

###### 4.5.2.1 Ajuste do espectrofotômetro:

- ligar o aparelho e permitir um aquecimento durante 20 minutos;
- ajustar o comprimento de onda em 880 nm;
- ajustar o zero, colocando o ponteiro em transmitância zero, sem tubo no instrumento e com a tampa fechada.
- encher um tubo com líquido de referência;
- ajustar a transmitância em 100%.

###### 4.5.2.2 Processamento da amostra:

- proceder com 100 ml de amostra ou com uma alíquota adequada, conforme um dos itens 4.4.3, 4.4.4 ou 4.4.5.
- pipetar 50 ml de amostra assim tratada e colocar numa proveta ou Erlenmeyer de 125 ml;
- adicionar 10 ml do reagente combinado (3.2.13), agitar bem e aguardar pelo menos 10 minutos, porém não mais que 30 minutos;
- em seguida, ler a % transmitância no espectrofotômetro a 880 nm utilizando tubo de 3/4" ou de outra medida, e ajustando 100% T com a prova em branco;
- efetuar uma prova em branco, procedendo com 100 ml de água destilada conforme os itens 4.5.2.2 a) até d).

**NOTA:** Em caso de alta turbidez e cor, usar como branco a própria amostra, adicionando à mesma todos os reagentes, exceto o ácido ascórbico e o antimonil tartarato.

- correr 2 padrões com cada lote de amostras, para verificar a validade da curva padrão.

###### 4.5.2.3 Construção da curva padrão:

- preparar soluções-padrão de várias concentrações de P, fazendo diluições da solução-padrão 3.2.15 em balão volumétrico, conforme a Tabela 1.
- tratar 100 ml de cada uma destas soluções-padrão conforme os itens 4.5.2.2 a) até d), utilizando o branco para ajustar o aparelho em 100% T;
- construir uma curva % T x mg/l P, utilizando papel monolog, e a partir desta curva elaborar uma tabela % Transmitância x mg/l P.

**NOTA 1:** A curva de calibração vale para um determinado aparelho, e deve ser feita nova curva cada vez que forem preparados ou utilizados novos reagentes ou for feita alguma alteração no aparelho.

NOTA 2: Opcionalmente pode-se fazer a regressão linear dos pares absorvância x concentração, e com a equação obtida elaborar uma tabela.

#### 4.6 Método B - Fósforo total filtrável

##### 4.6.1 Princípio do método

A amostra é filtrada por filtro de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  (ou de outra porosidade), o filtrado é digerido adequadamente (em geral a digestão com persulfato é indicada no caso de amostras filtradas) e o ortofosfato é determinado colorimetricamente pelo método do ácido ascórbico.

##### 4.6.2 Procedimento

4.6.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.6.2.2 Processamento da amostra:

- a) no momento da coleta, proceder com 200 - 300 ml de amostra conforme 4.4.1;
- b) proceder com 100 ml do filtrado, ou com uma alíquota adequada, conforme um dos itens 4.4.3, 4.4.4 ou 4.4.5. (Em geral 4.4.5);
- c) pipetar 50 ml de filtrado assim tratado, e proceder conforme 4.5.2.2 b) até f).

4.6.2.3 Construção da curva-padrão: proceder como em 4.5.2.3.

#### 4.7 Método C - Fosfato total não filtrável

##### 4.7.1 Princípio do método

É determinado por diferença entre a concentração de fosfato total e a concentração de fosfato total filtrável. Também pode ser determinado diretamente, por digestão do material particulado retido na membrana filtrante. Esta é a maneira indicada no caso de amostras com baixa concentração de material particulado.

##### 4.7.2 Procedimento

4.7.2.1 Ajuste do espectrofotômetro:

- a) proceder como em 4.5.2.1.

4.7.2.2 Processamento da amostra:

- a) determinar fósforo total filtrável e não filtrável conforme Método A, 4.5.
- b) determinar fósforo total filtrável conforme Método B, 4.6.

#### 4.8 Método D - Ortofosfato total (filtrável e não filtrável)

##### 4.8.1 Princípio do método

É determinado diretamente na amostra pelo método colorimétrico do ácido ascórbico; sem qualquer tratamento preliminar.

Quantidades elevadas de material em suspensão podem alterar os resultados, dev

TABELA 1 - Preparo das soluções-padrão

Concentração de $PO_4$ em P, mg/l	ml da solução 3.2.15 a elevar a 1000 ml com água destilada, em balão volumétrico
0 (branco)	0
0,05	20
0,1	40
0,2	80
0,35	140
0,5	200

do à liberação de fosfatos do material com o correr do tempo; o resultado frequentemente varia com a agitação e com a mistura da amostra durante a execução do ensaio.

#### 4.8.2 Procedimento

4.8.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.8.2.2 Processamento da amostra: proceder com 50 ml de amostra, ou com uma alíquota adequada diluída a 50 ml, conforme 4.5.2.2 b) até f).

4.8.2.3 Construção da curva-padrão: proceder como em 4.5.2.3, itens a), b) (omitindo 4.5.2.2 a) e c).

#### 4.9 Método E - Ortofosfato filtrável

##### 4.9.1 Princípio do método

A amostra é filtrada por filtro de membrana de 0,45  $\mu m$  (ou de outra porosidade), e o ortofosfato do filtrado é determinado diretamente pelo método do ácido ascórbico.

##### 4.9.2 Procedimento

4.9.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.9.2.2 Processamento da amostra:

- a) no momento da coleta, proceder com 200 - 300 ml de amostra conforme 4.4.1;
- b) proceder com 50 ml do filtrado ou com uma alíquota adequada diluída a 50 ml, conforme 4.5.2.2 b) até f).

4.9.2.3 Construção da curva-padrão: proceder como em 4.5.2.3, itens a), b) (omitindo 4.5.2.2 a) ) e c).

#### 4.10 Método F - Ortofosfato não filtrável

##### 4.10.1 Princípio do método

É determinado por diferença entre a concentração de ortofosfato total e a concentração de ortofosfato filtrável.

##### 4.10.2 Procedimento

4.10.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.10.2.2 Processamento da amostra:

- a) determinar ortofosfato total filtrável e não filtrável conforme método D;
- b) determinar ortofosfato filtrável conforme método E.

#### 4.11 Método G - Fosfato ácido-hidrolisável total (filtrável e não filtrável)

##### 4.11.1 Princípio do método

A amostra total acidificada é hidrolisada, e o ortofosfato é determinado colorimetricamente pelo método do ácido ascórbico. Da concentração obtida subtrai-se a concentração de ortofosfato total (filtrável e não filtrável).

##### 4.11.2 Procedimento

4.11.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.11.2.2 Processamento da amostra:

- a) proceder com 100 ml da amostra, ou com uma alíquota adequada, conforme 4.4.2.
- b) pipetar 50 ml de amostra assim tratada, e proceder conforme 4.5.2.2 b) até f).
- c) numa outra porção de amostra, determinar ortofosfato total, conforme método D.

4.11.2.3 Construção da curva-padrão:

- a) preparar soluções-padrão de várias concentrações de P, fazendo diluições da solução-padrão 3.2.15 em balão volumétrico conforme a Tabela;
- b) tratar 100 ml de cada uma destas soluções-padrão conforme 4.4.2,
- c) pipetar 50 ml das soluções-padrão assim tratadas, e proceder como em 4.5.2.2, b) até d);
- d) construir uma curva % T x mg/l P, utilizando papel monolog, e a partir desta curva elaborar uma tabela % Transmitância x mg/l P.

NOTA 1: A curva de calibração vale para um determinado aparelho, e deve ser feita nova curva cada vez que forem preparados ou utilizados novos reagentes, ou for feita alguma alteração no aparelho.

NOTA 2: Opcionalmente pode-se fazer a regressão linear dos pares absorvância x concentração, e com a equação obtida elaborar uma tabela.

#### 4.12 Método H - Fosfato ácido-hidrolisável filtrável

##### 4.12.1 Princípio do método

A amostra é filtrada por filtro de membrana de 0,45  $\mu$ m (ou de outra porosidade), o filtrado é hidrolisado, e o ortofosfato é determinado colorimetricamente, pelo método do ácido ascórbico. Da concentração obtida subtrai-se a concentração de ortofosfato-filtrável.

##### 4.12.2 Procedimento

4.12.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.12.2.2 Processamento da amostra:

- a) no momento da coleta, proceder com 200 - 300 ml de amostra conforme 4.4.1.
- b) proceder com 100 ml do filtrado, ou com uma alíquota adequada, conforme 4.4.2;
- c) pipetar 50 ml de filtrado e proceder conforme 4.5.2.2 b) até f).

4.12.2.3 Construção da curva-padrão: proceder conforme 4.11.2.3.

#### 4.13 Método I - Fosfato ácido-hidrolisável não filtrável

##### 4.13.1 Princípio do método

É determinado por diferença entre a concentração de fosfato ácido-hidrolisável total e a concentração de fosfato ácido-hidrolisável filtrável.

##### 4.13.2 Procedimento

4.13.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.13.2.2 Processamento da amostra:

- a) determinar fosfato ácido-hidrolisável total conforme método G;
- b) determinar fosfato ácido-hidrolisável filtrável conforme método H.

#### 4.14 Método J - Fosfato orgânico total (filtrável e não filtrável)

##### 4.14.1 Princípio do método

É determinado subtraindo da concentração de fosfato total (filtrável e não filtrável), a concentração de ortofosfato total e a concentração de fosfato ácido-hidrolisável total.

#### 4.14.2 Procedimento

4.14.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.14.2.1 Processamento da amostra:

- a) determinar fosfato total conforme método A;
- b) determinar ortofosfato total conforme método D;
- c) determinar fosfato ácido-hidrolisável total conforme método G.

#### 4.15 Método L - Fosfato orgânico filtrável

##### 4.15.1 Princípio do método

É determinado subtraindo do fosfato total filtrável a concentração de ortofosfato filtrável e a concentração de fosfato ácido-hidrolisável filtrável.

##### 4.15.2 Procedimento

4.15.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.15.2.2 Processamento da amostra:

- a) determinar fosfato total filtrável conforme método B;
- b) determinar ortofosfato filtrável conforme método E;
- c) determinar fosfato ácido-hidrolisável filtrável conforme método H

#### 4.16 Método M - Fosfato orgânico não filtrável

##### 4.16.1 Princípio do método

É determinado por diferença entre fosfato orgânico total e fosfato orgânico filtrável.

##### 4.16.2 Procedimento

4.16.2.1 Ajuste do espectrofotômetro: proceder como em 4.5.2.1.

4.16.2.2 Processamento da amostra:

- a) determinar fosfato orgânico total conforme método J;
- b) determinar fosfato orgânico filtrável conforme método L.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Expressão dos resultados

5.1.1 Para cada forma de fosfato:

$$\text{mg/l } \text{PO}_4 \text{ em P} = \frac{\text{mg } \text{PO}_4 \text{ em P} \times V}{V_{AM}}, \text{ onde:}$$

mg  $\text{PO}_4$  em P é obtido da curva-padrão

V = volume usual de amostra, em ml  
V<sub>AM</sub> = volume de amostra empregado, em ml.

5.1.2 O resultado é expresso com 3 casas decimais.

/Anexo A

REVOGADA



ANEXO AUSO E VERIFICAÇÃO DO ESPECTROFOTÔMETROA-1 Uso adequado e cuidados com o espectrofotômetro.

A-1.1 Reajustar a Transmitância 100% cada vez que for mudado o comprimento de onda.

A-1.2 Antes de passar para outro comprimento de onda, girar o botão controle de luz em sentido anti-horário.

A-1.3 Quando se operar a um comprimento de onda fixo durante um longo período, verificar ocasionalmente o ajuste em 100%.

A-1.4 Os tubos calibrados devem ser manuseados com cuidado para não riscá-los.

A-1.5 Os tubos calibrados devem ser lavados com detergente comum, enxaguados com água e água destilada e secos na estufa. Tubos em uso há muito tempo podem ser limpos com mistura sulfocrômica.

A-2 Verificação do desempenho do espectrofotômetro.

A-2.1 Verificar ocasionalmente o seletor de comprimento de onda, procedendo conforme instruções constantes do manual do aparelho, a saber:

- Colocar o seletor em 500 nm, sem tubo no aparelho e com a tampa fechada.
- Ajustar o zero.
- Colocar no aparelho um tubo com água destilada, fechar a tampa e ajustar a Transmissão em 100%.
- Substituir a água destilada por uma solução de cobalto, e ler a % Transmissão.

Solução de cobalto: Dissolver 22-23 g  $\text{CoCl}_2$  p.a. em ácido clorídrico 1% e completar o volume até 1000 ml, em balão volumétrico com ácido clorídrico 1%.

- Repetir os itens anteriores para 505, 510, 515 e 520 nm.

O seletor está em ordem se a % Transmissão entre 505 e 515 nm for menor.

A-2.2 Verificar ocasionalmente a escala.

- Colocar o seletor em 510 nm, sem tubo no aparelho e com a tampa fechada.
- Ajustar o zero.
- Colocar no aparelho um tubo com água destilada, fechar a tampa e ajustar a Transmissão em 100%.

- Substituir a água destilada por uma solução de cobalto e ler a absorvância ( $A_1$ ).
- Diluir a amostra com igual volume de água destilada e ler a absorvância ( $A_2$ ).
- Diluir a amostra diluída com igual volume de água destilada e ler a absorvância ( $A_4$ ).

A escala está correta se  $A_4 = \frac{A_2}{2} = \frac{A_1}{4}$

/Anexo B

REVOGADA

ANEXO BREFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

B-1 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - Standard methods for the examination of water and wastewater. 14 ed. New York, APHA, AWWA, WPCF, 1975.

B-2 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - Standard methods for the examination of water and wastewater. 13 ed. New York, APHA, AWWA, WPCF, 1971.

B-3 ASTM - Annual book of ASTM standards. Philadelphia, 1976, vol. 31.

B-4 ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - Manual of methods for chemical analysis of water and wastes. Washington, EPA, Office of Technology Transfer, 1974. (EPA - 625/6 - 74-003).

B-5 BOLTZ, D.F. - Colorimetric determination of nonmetals. New York, Interscience Publishers, 1958.

B-6 SAWYER, C.N. & Mc CARTY, P.L. - Chemistry for sanitary engineers. 2 ed. New York, Mc Graw - Hill Book Co., c 1967. (Series in Sanitary Science and Water Resources Engineering).

B-7 STRICKLAND, J.D.H., & Parsons, T.R. - A practical handbook of seawater analysis. 2 ed. Ottawa, Fisheries Research Board of Canada, 1972.

---