

**UNIVERSIDADE SANTA CECÍLIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AUDITORIA AMBIENTAL**  
**MESTRADO EM AUDITORIA AMBIENTAL**

**ALINE CARDOSO DINIZ**

**AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA RAMAN APLICADA AO  
MONITORAMENTO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS EM  
ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE EFLUENTES**

**SANTOS/SP**

**2019**

**ALINE CARDOSO DINIZ**

**AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA RAMAN APLICADA AO  
MONITORAMENTO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS EM  
ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE EFLUENTES**

Dissertação apresentada à Universidade Santa Cecília como parte dos requisitos para obtenção de título de mestre no Programa de Pós-Graduação em Auditoria Ambiental, sob orientação da Profa. Dra. Luciana Lopes Guimarães e coorientação do Prof. Dr. Landulfo Silveira Jr.

**SANTOS/SP**

**2019**

Autorizo a reprodução parcial ou total deste trabalho, por qualquer que seja o processo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos.

543.57 Diniz, Aline Cardoso  
D61a Avaliação da técnica de espectroscopia Raman aplicada ao monitoramento de compostos orgânicos e inorgânicos em estações de tratamento de efluentes.  
Aline Cardoso Diniz - 2019.  
55 f.: il.

Orientador: Luciana Lopes Guimarães.  
Coorientador: Landulfo Silveira Jr.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Santa Cecília, Programa de Pós-Graduação em Auditoria Ambiental, Santos, SP, 2019.

1. Espectroscopia Raman. 2. Monitoramento de água. 3. Estação de Tratamento de Efluentes. 4. Poluente aquático. 5. Qualidade da água.

I. Lopes Guimarães, Luciana. II. Silveira Jr., Landulfo. III. Avaliação da técnica de espectroscopia Raman aplicada ao monitoramento de compostos orgânicos e inorgânicos em estações de tratamento de efluentes.

Elaborada pelo SIBi – Sistema Integrado de Bibliotecas – Unisanta

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho à minha família e ao meu namorado  
que me apoiaram incondicionalmente durante esta  
importante etapa da minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha família, em especial ao meu pai e ao meu namorado Victor Eduardo, por todo apoio e incentivo dado durante essa jornada.

Ao meu colega mestrando, Alessandro Alves Almeida, por toda colaboração e incentivo, sempre disposto a ajudar.

Aos colaboradores e estagiários do Laboratório Central de Biologia da Universidade Santa Cecília, pela colaboração e disposição que foi me dada.

Aos meus orientadores Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Luciana Lopes Guimarães e Prof. Dr. Landulfo Silveira Jr., pela colaboração, disponibilidade e esclarecimentos que tornaram possível a conclusão desta pesquisa.

À Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo, pelo apoio na obtenção de dados técnicos, bem como aos funcionários da Estação de Tratamento de Efluentes Cidade das Flores, pelo apoio dado durante as coletas de amostras.

Ao Centro de Inovação, Tecnologia e Educação, da Universidade Anhembimorumbi, por ter disponibilizado o Laboratório de Espectroscopia Raman para a realização de análises de espectroscopia.

E por fim, à Universidade Santa Cecília, que disponibilizou o Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais para a realização de análises, bibliotecas, professores e funcionários que de uma maneira ou de outra colaboraram para a realização desta pesquisa.

## RESUMO

A poluição da água é perigosa para a saúde dos diversos organismos, devendo assim ser respeitados os padrões de lançamento de efluentes em corpos de água. Desta forma, a detecção de poluentes em ambientes aquáticos é de grande importância para o monitoramento da qualidade da água. A espectroscopia Raman tem sido estudada para a identificação de diferentes compostos, fornecendo os resultados em um menor tempo e por um menor custo operacional, além de não gerar resíduos. Este trabalho objetivou o estudo da aplicação de uma nova técnica para o monitoramento de compostos orgânicos e inorgânicos em amostras de água provenientes de Estações de Tratamento de Efluentes, através do emprego da espectroscopia Raman. Com isso, busca-se propiciar a implantação de melhorias no sistema de monitoramento ambiental, incentivando a adoção de programas governamentais regulares, identificando soluções para a redução da carga destes compostos para o meio ambiente. Especificamente, o objetivo foi realizar a detecção e quantificação de compostos orgânicos e inorgânicos em amostras líquidas coletadas em quatro períodos diferentes, em uma Estação de Tratamento de Efluentes, localizada na cidade de Peruíbe, litoral de São Paulo. As amostras foram coletadas em triplicatas, armazenadas em frascos de vidro âmbar sob refrigeração até o momento da análise, e filtradas em sistema a vácuo, com papel filtro de 0,45  $\mu\text{m}$  para a retirada de interferentes. As análises das amostras e de padrões de referência de nitrato, fosfato dentre outros contaminantes foram realizadas num sistema Raman dispersivo portátil com excitação de 830 nm. Os espectros brutos foram calibrados, pré-processados e analisados utilizando o *software* Microsoft Excel. Nos espectros Raman das amostras, foram encontrados picos na região de 1050  $\text{cm}^{-1}$ , característicos do íon nitrato, compatível com dados previamente descritos na literatura e também com os padrões de nitrato. Picos entre 683 e 1532  $\text{cm}^{-1}$  também foram encontrados, compatíveis com o padrão de fosfato. Foi possível identificar também picos nas regiões de 483 e 1111  $\text{cm}^{-1}$ , característicos de deformação e estiramento esquelético C-C, respectivamente, possivelmente a partir de alcanos de cadeia normal nestas amostras, descritos na literatura. Outro pico encontrado, baseado na literatura foi na região de 1310  $\text{cm}^{-1}$ , possivelmente ligado ao enxofre (S), derivado de deformação simétrica de S-CH<sub>3</sub>. Por fim, o pico na região de 1471  $\text{cm}^{-1}$ , característico de deformações CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>, possivelmente a partir de alcanos de cadeia normal, também comparados com a literatura. Foi realizada a quantificação do íon nitrato nas amostras coletadas, através do método adição-padrão, com a preparação de padrões de referência e utilização do *software* Origin®. Os valores de concentração obtidos encontraram-se abaixo de 10 mg/L, limite das legislações utilizadas pela SABESP para o íon nitrato. Os resultados obtidos abrem novas perspectivas para a utilização da espectroscopia Raman em análises ambientais.

**Palavras-chave:** Espectroscopia Raman. Monitoramento de água. Estação de Tratamento de Efluentes. Poluente aquático. Qualidade da água.

## ABSTRACT

Water pollution is hazardous to the health of the various organisms, and the standards for launching effluent in water bodies should be respected. Thus, the detection of pollutants in aquatic environments is of great importance for the monitoring of water quality. Raman spectroscopy has been studied for the identification of different compounds, providing the results in a shorter time and for a lower operating cost, besides not generating residues. This work aimed to study the application of a new technique for the monitoring of organic and inorganic compounds in water samples from Wastewater Treatment Plants, through the use of Raman spectroscopy. Thus, it seeks to promote the implementation of improvements in the environmental monitoring system, encouraging the adoption of regular governmental programs, identifying solutions to reduce the load of these compounds to the environment. Specifically, the objective was to perform the detection and quantification of organic and inorganic compounds in liquid samples collected in four different periods, in an Effluent Treatment Plant, located in the city of Peruíbe, coastal São Paulo. The samples were collected in triplicate, stored in amber glass bottles under refrigeration until the moment of the analysis, and filtered in a vacuum system, with a filter paper of 0.45  $\mu\text{m}$  for the removal of interferents. The analyses of the samples and authentic patterns of nitrate, phosphate among other contaminants were performed in a portable dispersive Raman system with excitation of 830 nm. The Raw spectra were calibrated, pre-processed and analyzed using Microsoft Excel software. In the Raman spectra of the samples, peaks were found in the region of 1050  $\text{cm}^{-1}$ , characteristic of the nitrate ion, compatible with data previously described in the literature and also with the standards of nitrate. Peaks between 683 and 1532  $\text{cm}^{-1}$  were also found, compatible with the phosphate standard. It was also possible to identify peaks in the regions of 483 and 1111  $\text{cm}^{-1}$ , characteristic of deformation and skeletal strain C-C, respectively, possibly from alkanes of normal chain in these samples, described in the literature. Another Peak found, based on the literature, was in the region of 1310  $\text{cm}^{-1}$ , possibly linked to sulfur (S), derived from symmetrical deformation of S-CH<sub>3</sub>. Finally, the peak in the region of 1471  $\text{cm}^{-1}$ , characteristic of CH<sub>3</sub> and CH<sub>2</sub> deformities, possibly from alkanes of normal chain, also compared with the literature. The nitrate ion was quantified in the samples collected, using the standard addition method, with the preparation of reference standards and use of the Origin® software. The concentration values obtained were below 10 mg/L, limit of the legislations used by SABESP for the nitrate ion. The results obtained open new perspectives for the use of Raman spectroscopy in environmental analyses.

**Keywords:** Raman spectroscopy. Water monitoring. Wastewater Treatment Plant. Aquatic pollutant. Water quality.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Espalhamentos inelástico e elástico.....	19
Figura 2 – Espectrômetro Raman comum.....	20
Figura 3 – Fluxograma do tratamento de esgoto a nível preliminar. ....	23
Figura 4 – Transformações do N em processos biológicos de tratamento.....	24
Figura 5 – Sistema Raman dispersivo portátil utilizado no estudo. ....	26
Figura 6 – Porta amostras de alumínio e sonda, utilizados no estudo. ....	27
Figura 7 – Pontos de coleta na ETE Cidade das Flores, em Peruíbe. ....	29
Figura 8 – Exemplo de cálculo da área do pico pelo <i>software</i> Origin®, obtido no estudo. .....	32
Figura 9 – Reta obtida com os valores de área para cálculo da concentração inicial de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> na amostra.....	33
Figura 10 – Espectrofotômetro UV-Visível utilizado no estudo.....	34
Figura 11 – (a) Espectro Raman do padrão de NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 100 mg/L da Alfakit Ltda e (b) Espectro Raman do padrão de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 100 mg/L, obtidos no estudo. ....	35
Figura 12 – (a) Espectro Raman do padrão de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 100 mg/L da Alfakit Ltda e (b) Espectro Raman do padrão de verificação de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 100 mg/L, obtidos no estudo. ...	35
Figura 13 – (a) Espectro Raman do padrão de clorofórmio P.A. e (b) Espectro Raman do padrão de diclorometano P.A., obtidos no estudo.....	36
Figura 14 – (a) Espectro Raman do padrão de tolueno P.A. e (b) Espectro Raman do padrão de xileno P.A., obtidos no estudo. ....	36
Figura 15 – (a) Espectro Raman do padrão de LAS 100 mg/L e (b) Espectro Raman do padrão de cafeína 0,1%, obtidos no estudo. ....	36
Figura 16 – (a) Espectro Raman do score 1 das amostras da 1 <sup>a</sup> coleta e (b) Espectro Raman do score 2 das amostras da 1 <sup>a</sup> coleta, obtidos no estudo.....	37
Figura 17 – (a) Espectro Raman do score 1 das amostras da 2 <sup>a</sup> coleta e (b) Espectro Raman do score 2 das amostras da 2 <sup>a</sup> coleta, obtidos no estudo.....	38
Figura 18 – Espectro Raman do score 1 das amostras da 3 <sup>a</sup> coleta, obtido no estudo .....	39
Figura 19 – Espectro Raman do score 2 das amostras da 3 <sup>a</sup> coleta, obtido no estudo. .....	39
Figura 20 – Espectro Raman do score 3 das amostras da 3 <sup>a</sup> coleta, obtido no estudo. .....	40

Figura 21 – Espectro Raman do score 4 das amostras da 3ª coleta, obtido no estudo. ....	40
Figura 22 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 1, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 1, obtidos no estudo. ....	41
Figura 23 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 2, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 2, obtidos no estudo. ....	41
Figura 24 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 2ª coleta, provenientes do score 1, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 1, obtidos no estudo. ....	42
Figura 25 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 2ª coleta, provenientes do score 2, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 2ª coleta, provenientes do score 2, obtidos no estudo. ....	42
Figura 26 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 1, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 1, obtidos no estudo. ....	43
Figura 27 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 2, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 2, obtidos no estudo. ....	43
Figura 28 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 3, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 3, obtidos no estudo. ....	44
Figura 29 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 4, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 4, obtidos no estudo. ....	44

Figura 30 - Espectro Raman do ponto mais alto da curva, obtido no estudo. ....	45
Figura 31 - Espectro Raman do ponto mais alto da curva, obtido no estudo. ....	46
Figura 32 – Curva de calibração preparada a partir do padrão de $\text{PO}_4^{3-}$ 100 mg/L da Alfakit Ltda.....	47
Figura 33 – Curva de calibração preparada a partir do padrão de $\text{NO}_3^-$ 100mg/L da Alfakit Ltda.....	47

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Alguns dos principais constituintes do esgoto de um sistema de esgoto urbano. ....	17
Tabela 2 - Poluentes em água que podem ser detectados por espectroscopia Raman .....	22
Tabela 3 – Padrões de referência inorgânicos utilizados no estudo .....	28
Tabela 4 – Padrões de referência orgânicos utilizados no estudo .....	28
Tabela 5 – Pontos e profundidades de amostras coletadas na ETE Cidade das Flores .....	29
Tabela 6 – Cores de identificação dos grupos analisados, representados nos gráficos de PCA.....	30
Tabela 7 – Exemplo de tabela de dados para experimento de adição-padrão .....	32
Tabela 8 – Comprimentos de onda dos picos encontrados na literatura e nos padrões analisados no estudo. ....	37
Tabela 9 – Compostos encontrados nas amostras de efluente das 3 coletas, obtidos no estudo.....	45
Tabela 10 – Valores de concentração de $\text{NO}_3^-$ nas amostras da 3ª coleta analisadas por espectroscopia Raman, obtidos no estudo. ....	46
Tabela 11 – Comparação entre os valores de concentração de $\text{NO}_3^-$ das amostras analisadas por espectroscopia Raman, e por espectrofotometria, obtidos no estudo. ....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APHA	-	<i>American Public Health Association</i>
CCD	-	<i>Charge-Coupled Device</i> (Dispositivo de Carga Acoplada)
CETESB	-	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CITE	-	Centro de Inovação, Tecnologia e Educação
CONAMA	-	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CRQ	-	Cromato Produtos Químicos
C.V.	-	Chandrasekhara Venkata
ETE	-	Estação de Tratamento de Efluentes
FT	-	<i>Fourier transform</i> (Transformada de Fourier)
LAS	-	<i>Linear Alkylbenzene Sulphonate</i> (Sulfonato de Alquilbenzeno Linear)
P.A.	-	Para Análise
PCA	-	<i>Principal Component Analysis</i> (Análise de Componentes Principais)
PC	-	<i>Principal Component</i> (Componente Principal)
pH	-	Potencial Hidrogeniônico
RRS	-	<i>Resonance Raman Scattering</i> (Espalhamento Raman por Ressonância)
SABESP	-	Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
SERS	-	<i>Surface Enhanced Raman Spectroscopy</i> (Espectroscopia Raman Amplificada por Superfície)
UAM	-	Universidade Anhembi Morumbi
UV	-	Ultravioleta

## LISTA DE SÍMBOLOS

s	-	segundos
$\lambda$	-	comprimento de onda
P	-	fósforo
S	-	enxofre
N	-	nitrogênio
N <sub>2</sub>	-	nitrogênio molecular
R <sup>2</sup>	-	coeficiente de determinação
L	-	litro
$\mu$ L	-	microlitro
mg	-	miligrama
$\mu$ g	-	micrograma

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
1.1	Qualidade da Água.....	17
1.2	Espectroscopia Raman .....	18
1.2.1	Espectroscopia Raman para análises das águas.....	21
1.3	Estações de Tratamento de Efluentes.....	22
1.4	Objetivo geral .....	25
1.5	Objetivos específicos.....	25
<b>2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
2.1	Características do sistema .....	26
2.2	Padronização da técnica .....	28
2.2.1	Detecção de substâncias inorgânicas .....	28
2.2.2	Detecção de substâncias orgânicas .....	28
2.2.3	Amostragem .....	28
2.3	Análise dos dados .....	30
2.4	Quantificação.....	31
2.4.1	Leitura direta dos padrões no Espectrômetro Raman .....	31
2.4.2	Método da adição-padrão.....	31
2.4.3	Método de Espectrofotometria.....	33
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
3.1	Padronização da técnica .....	35
3.1.1	Detecção de substâncias inorgânicas .....	35
3.1.2	Detecção de substâncias orgânicas .....	36
3.2	Análise dos dados .....	37
3.3	Quantificação.....	45
3.3.1	Leitura direta dos padrões no Espectrômetro Raman .....	45
3.3.2	Método da adição-padrão.....	46
3.3.3	Método de Espectrofotometria.....	46
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>51</b>
<b>5</b>	<b>TRABALHO SUBMETIDO .....</b>	<b>52</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>
	<b>ANEXO A – Localização geográfica da ETE Cidade das Flores, na cidade de Peruíbe.....</b>	<b>56</b>
	<b>ANEXO B – Espectros Raman das amostras analisadas referente à 1ª coleta, sendo: (a) Afluente, (b) Tanque de aeração 1, (c) Tanque de aeração 2 e (d) Efluente.....</b>	<b>57</b>

**ANEXO C – Espectros Raman das amostras analisadas referente à 2ª coleta, sendo: (a) Afluente, (b) Tanque de aeração 1, (c) Tanque de aeração 2 e (d) Efluente.....58**

**ANEXO D – Espectros Raman das amostras analisadas referente à 3ª coleta, sendo: (a) Afluente, (b) Tanque de aeração 1, (c) Tanque de aeração 2 e (d) Efluente.....59**

## 1 INTRODUÇÃO

Uma água contaminada tem influências negativas sobre a saúde dos seres humanos e de outros organismos e a detecção de contaminantes em ambientes aquáticos é primordial para o monitoramento da qualidade da água (LI, WANG e LI, 2016). Contaminantes orgânicos e inorgânicos são geralmente encontrados em águas residuais. A demanda por menor tempo de análise e detecção *on-line* de contaminantes na água tem sido um desafio nos últimos tempos (LI, CHEN e WEI, 2009).

Os nutrientes são essenciais para o crescimento dos microrganismos responsáveis pela degradação da matéria orgânica e para o crescimento de plantas aquáticas (algas), podendo em certas condições conduzir a fenômenos de eutrofização de lagos e represas, reduzindo o oxigênio dissolvido disponível para os organismos aquáticos, como é o caso do nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) (CHERNICHARO *et al.*, 2008). Por este motivo, os padrões de lançamento de efluentes devem ser respeitados. A Resolução nº. 430 (CONAMA, 2011), dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes.

O monitoramento dos efluentes em estações de tratamento de efluentes (ETE's) da Baixada Santista é realizado pela própria SABESP e periodicamente, pela CETESB, que realiza amostragens do esgoto após o tratamento (CETESB, 2018). Ao contrário de alguns métodos tradicionais que são empregados para o monitoramento de compostos orgânicos e inorgânicos em ETE's, a espectroscopia Raman não gera resíduos, pois não utiliza solventes/reagentes no processo. Outro item de destaque é a obtenção dos resultados, que é rápida (cerca de 30 s), além das análises possuírem baixos custos. De acordo com a tabela de custo das análises fornecida pelo Instituto de Química de São Carlos, o custo por amostra analisada pela espectroscopia Raman é 15 vezes menor do que o custo por amostra analisada no cromatógrafo gasoso, por exemplo. E por fim, a espectroscopia Raman requer pouca ou nenhuma preparação de amostra.

Com isso, a hipótese do trabalho é que seja possível a utilização da espectroscopia Raman para o monitoramento ambiental, uma área ainda sendo estudada, já que é uma técnica que não gera mais resíduos para tratamento posterior.

## 1.1 Qualidade da Água

Em geral, a qualidade da água pode ser caracterizada por concentrações de contaminantes microbiológicos, orgânicos e inorgânicos, bem como indicadores como pH, condutividade, oxigênio dissolvido, entre outros (GOWEN *et al.*, 2012). Recentemente, as influências negativas da poluição da água sobre o corpo humano e o desenvolvimento sustentável da sociedade humana atraem uma atenção crescente. Portanto, uma variedade de metodologias surgiu para a detecção de poluentes em um ambiente aquático (HASAN *et al.*, 2005). A Tabela 1 apresenta alguns dos principais constituintes de esgoto urbano, as fontes em potencial e os efeitos que causam na água.

**Tabela 1 - Alguns dos principais constituintes do esgoto de um sistema de esgoto urbano.**

<b>Constituinte</b>	<b>Fonte em potencial</b>	<b>Efeitos na água</b>
Substâncias com demanda de oxigênio	Sobretudo materiais orgânicos, em especial fezes e urina humanas	Consumem oxigênio dissolvido
Orgânicos refratários	Resíduos industriais, produtos de limpeza	Tóxicos à vida aquática
Vírus	Resíduos humanos	Causam doenças (possivelmente câncer); principal obstáculo na reciclagem de esgotos
Detergentes	Detergentes domésticos	Alteram as propriedades organolépticas da água, impedem a remoção de graxas e óleos, tóxicos à vida aquática
Fosfatos	Detergentes	Nutrientes de algas (eutrofização)
Graxas e óleos	Cozinha, processamento de alimentos, resíduos industriais	Alteram as propriedades organolépticas da água, prejudiciais à vida aquática
Sais	Resíduos humanos e industriais, abrandadores de água	Aumentam a salinidade da água
Metais	Resíduos industriais, laboratórios químicos	Toxicidade
Agentes quelantes	Alguns detergentes, resíduos industriais	Solubilização e transporte de metais
Sólidos	Todas as fontes	Alteram as propriedades organolépticas da água, prejudiciais à vida aquática

Fonte: Adaptado de Manahan (2013)

Conforme citado no artigo de Li, Wang e Li (2016), os métodos tradicionais aplicados para a detecção da qualidade da água envolvem análises de enriquecimento, análises volumétricas, análises eletroquímicas, espectrofotometria, espectroscopia de absorção atômica, espectroscopia no infravermelho e cromatografia. A espectroscopia de infravermelho é amplamente aplicada para analisar contaminantes orgânicos (SHI, FENG e SUN, 2005). Contudo, a absorção do solvente aquoso é tão intensa que se torna difícil analisar o soluto na água por absorção no infravermelho (YANG, ZENG e LIAO, 2008).

## 1.2 Espectroscopia Raman

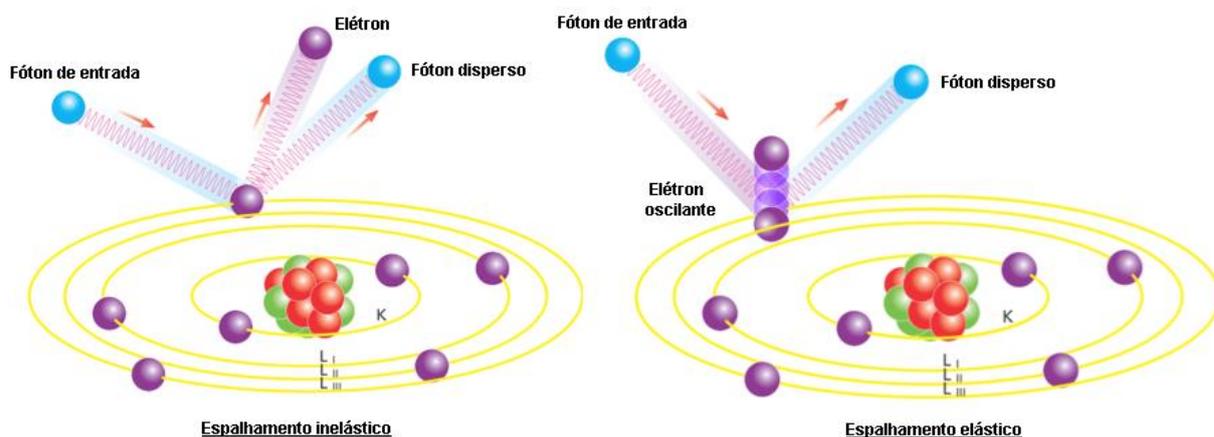
A espectroscopia Raman surgiu como um método progressivo para a detecção de materiais em ambientes hídricos e pode compensar as deficiências das outras tecnologias de detecção (LI, WANG e LI, 2016). O espectro Raman é capaz de fornecer a característica da molécula, especialmente os espectros dos solutos, que possuem fraca dispersão de luz na água. Por isso, a técnica se torna adequada para analisar contaminantes (LI, CHEN e WEI, 2009).

A espectroscopia Raman baseia-se na descoberta do Físico indiano C.V. Raman em 1928, de que o comprimento de onda ( $\lambda$ ) de uma pequena fração da radiação espalhada por certas moléculas difere daquela do feixe incidente e, além disso, que os deslocamentos em  $\lambda$  dependem das vibrações moleculares das moléculas responsáveis pelo espalhamento. O espectro Raman, originado pelo espalhamento inelástico de uma luz monocromática de alta intensidade, adequa-se à identificação de compostos orgânicos, permitindo a identificação concomitante de diferentes compostos mesmo dissolvidos ou dispersos em água (HOLLER *et al.*, 2009).

O método Raman não foi amplamente investigado antes da década de 1980, devido à baixa eficiência de espalhamento Raman. Recentemente, a espectroscopia Raman combinou uma variedade de técnicas avançadas e se desenvolveu como uma ferramenta eficaz para a detecção de poluentes em um ambiente aquático devido a sua alta precisão e eficiência de detecção, capacidade de amostragem não destrutiva e uma mínima preparação das amostras (POTGIETER-VERMAAK, POTGIETER e VAN GRIEKEN, 2006).

Talari *et al.* (2015), explicam que a luz monocromática cria espalhamento elástico e inelástico quando é usada para iluminar amostras (Figura 1). No espalhamento inelástico, quando a luz encontra moléculas na amostra, eles podem interagir de tal forma que a energia pode ser perdida ou adquirida pelos fótons (partículas elementares da luz). Envolve algum tipo de mudança de energia e, portanto, uma mudança no  $\lambda$  de excitação, e este fenômeno é conhecido como efeitos Raman.

Quando este processo ocorre em espalhamento elástico (espalhamento Rayleigh), nenhuma energia é trocada entre moléculas e fótons (TALARI *et al.*, 2015). Neste caso, a luz não perde ou ganha energia durante o processo de espalhamento e, portanto, a luz dispersa tem o mesmo  $\lambda$  que a fonte de excitação.



**Figura 1 – Espalhamentos inelástico e elástico.**

Fonte: Adaptado de Brouwer (2010).

Geralmente, um espectrômetro Raman consiste em cinco componentes, como mostrado na Figura 2: uma fonte de excitação, sistema de coleta de luz, monocromador, detector e sistema de processamento de dados (LUO e LIN, 2008).

Como componente do espectrômetro, a fonte de excitação fornece um laser monocromático, e um importante parâmetro é a sua potência (LI, WANG e LI, 2016).

O monocromador é usado para separar a luz de espalhamento Raman por  $\lambda$  e é o componente mais crítico em um espectrômetro Raman, sendo a grade de difração, a mais utilizada para os espectrômetros Raman dispersivos (LI *et al.*, 2014). Um espectrômetro Raman requer um alto nível de dispersão devido à fraca intensidade da espectroscopia Raman (LEWIS e EDWARDS, 2001). Quando a luz incidente interage com uma amostra, apenas uma pequena quantidade de luz é dispersa. Em

consequência disto, os sinais que pertencem ao espalhamento Raman são relativamente fracos, e assim podem ser facilmente mascarados pela fluorescência (fração de luz absorvida) e por outras interferências.

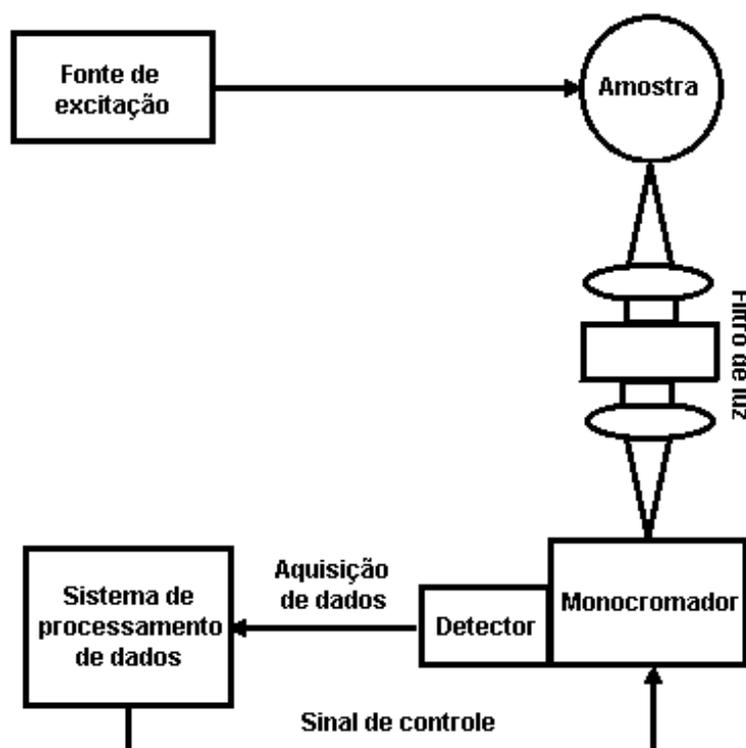


Figura 2 – Espectrômetro Raman comum.  
Fonte: Adaptado de Luo e Lin (2008).

A função do detector é coletar as informações do espectro, e os dados são inseridos em série no computador via aquisição de dados. O detector deve ser sensível devido à baixa eficiência de espalhamento Raman, o que poderia ter um efeito negativo na detecção do sinal Raman (LI *et al.*, 2014). As vantagens dos detectores com dispositivo de carga acoplada (CCD) são sua função específica de detecção de imagem e auto varredura, alta sensibilidade, baixo ruído de detecção, característica multicanal, e alta eficiência quântica (KUMAR e DEEN, 2014).

Li, Wang e Li (2016), explicam em seu artigo que o processamento de dados pode ser um processo complicado e a tecnologia de processamento de dados é crucial à grande quantidade de dados coletados pelos detectores em espectrômetros Raman. Comumente, os métodos de processamento eletrônico aplicados para a extração da informação do espalhamento Raman incluem amplificação e contagem de fótons, e o espectro é desenhado por um *software* de computador (LI, WANG e LI, 2016). Além disso, Li, Wang e Li (2016) acrescentam que informações úteis não podem ser

extraídas dos dados coletados nas análises do espectro caso haja quantidade significativa de ruído, e, portanto, o processamento de dados é essencial para a qualidade de um sinal Raman.

Dentre as tecnologias de espectroscopia Raman existentes atualmente, incluem espectroscopia Raman normal, espalhamento Raman por ressonância (RRS) (ROBERT, 2009), espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS), espectroscopia FT-Raman, e sua tecnologia combinada (LI, WANG e LI, 2016).

A técnica Raman mais eficiente para detecção em concentrações muito baixas é a SERS, que tem sido amplamente pesquisada e o número de artigos publicados anualmente sobre este tema está crescendo rapidamente (LI *et al.*, 2014). São utilizadas nanopartículas para realçar a intensidade do pico, sendo a prata o metal mais comumente usado, seguido pelo ouro e cobre (LI *et al.*, 2014).

### **1.2.1 Espectroscopia Raman para análises das águas**

Li, Chen e Wei (2009) analisaram soluções aquosas contendo contaminantes orgânicos através da espectroscopia Raman, com o objetivo de verificar se esta técnica é mais precisa do que a técnica de espectroscopia por infravermelho. Obtiveram resultados satisfatórios e concluíram que, o espectro Raman é uma impressão digital espectral precisa da molécula, podendo assim, ser utilizada para análise de contaminantes orgânicos em água residuárias.

Yang, Shi e Yuan (2014) estudaram o índice de dureza de quatro amostras diferentes de água, através da espectroscopia Raman, e concluíram que a técnica pode ser eficaz para análise da qualidade da água, em relação à dureza (presença de cálcio e magnésio).

Stewart, Maier e Patrick (2005), detectaram a presença de um patógeno em uma amostra de água através da técnica de espectroscopia Raman e após estudos, chegaram à conclusão de que o método é útil para detectar os patógenos que são difíceis de detectar usando outros métodos, tais como protozoários do gênero *Cryptosporidium*.

A Tabela 2 apresenta os poluentes no meio aquático que podem ser detectados usando espectroscopia Raman de acordo com o artigo de revisão de Li, Wang e Li (2016).

**Tabela 2 - Poluentes em água que podem ser detectados por espectroscopia Raman**

<b>Tipos de Poluentes</b>	<b>Poluentes</b>
Orgânicos	Benzeno, fenol, aldeído, tetracloreto de carbono, hidrocarboneto aromático policíclico, quinolina, derivados de metila, compostos aromáticos com nitrogênio, óleos comestíveis, pesticida, corante orgânico, detergente sintético, gasolina e seus derivados.
Inorgânicos	Cloreto, hipoclorito e percloratos, metais pesados (por exemplo, mercúrio, chumbo, cromo e arsênio), cianeto, ferrocianeto, nitrato, nitrito, amianto e sulfato.
Outros	Bactérias, vírus e patógenos microbianos.

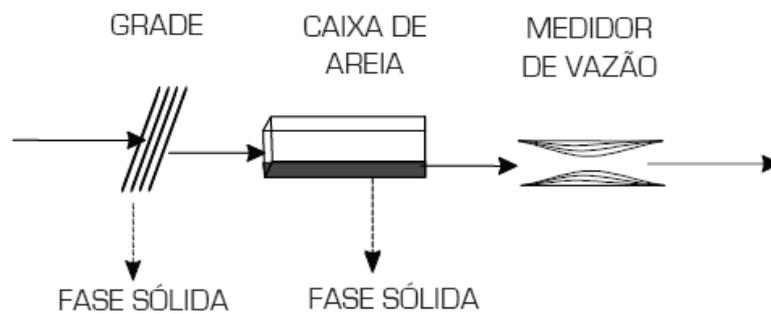
Fonte: Adaptado de Li, Wang e Li (2016, p. 318).

### 1.3 Estações de Tratamento de Efluentes

Sperling (2005) descreve que o impacto do lançamento de efluentes originados de uma ETE em corpos d'água é motivo de grande preocupação para muitos países. Dessa forma, é necessário o estabelecimento de políticas e normas ambientais para definir critérios para locais de descarga e nível de tratamento exigido a fim de garantir que os impactos ambientais da disposição desses efluentes tratados não comprometam a qualidade dos recursos hídricos.

A finalidade das técnicas de tratamento é a de remover os poluentes dos esgotos, os quais viriam a causar uma deterioração da qualidade dos corpos de água e a possibilidade de transmissão de doenças (CHERNICHARO *et al.*, 2008). Dentre elas, encontram-se a remoção da matéria orgânica, remoção de sólidos em suspensão, remoção de organismos patogênicos e remoção de nutrientes, sendo que cada uma delas ocorre em níveis diferentes de tratamento.

Conforme Chernicharo *et al.* (2008), o esgoto pode ser tratado nos níveis preliminar, primário, secundário e terciário, sendo que o tratamento preliminar deve estar presente em todas as ETE's. No Brasil, em quase todas as ETE's, o esgoto é tratado até o nível secundário. Em relação ao nível terciário, pouquíssimas estações adotam esse nível de tratamento devido ao custo elevado. A Figura 3 apresenta o fluxograma do tratamento preliminar.



**Figura 3 – Fluxograma do tratamento de esgoto a nível preliminar.**  
 Fonte: Sperling (2005).

O tratamento preliminar destina-se principalmente à remoção de sólidos grosseiros e areia. A remoção dos sólidos grosseiros é feita por meio de grades, que podem ser grossas, médias e finas, dependendo do espaçamento entre as barras. A remoção da areia contida nos esgotos é feita através de desarenadores (caixas de areia) (CHERNICHARO *et al.*, 2008). A calha Parshall destina-se à medição da vazão.

Os esgotos, após passarem pelas unidades do tratamento preliminar, contêm ainda os sólidos em suspensão não grosseiros, os quais podem ser parcialmente removidos em unidades de sedimentação (decantadores primários), que por possuírem uma densidade maior que a do líquido, sedimenta-se gradualmente no fundo (CHERNICHARO *et al.*, 2008). Os óleos e graxas, por possuírem uma densidade menor que do líquido, sobem para a superfície dos decantadores, onde são coletados e removidos para posterior tratamento.

O tratamento secundário de esgotos domésticos inclui a etapa biológica, onde a remoção (estabilização) da matéria orgânica é efetuada por reações bioquímicas, realizadas por microrganismos aeróbios ou anaeróbios (CHERNICHARO *et al.*, 2008). Existem três tipos principais de lagoas de estabilização: anaeróbias, facultativas e lagoas de maturação. As lagoas anaeróbias e as facultativas são designadas para remoção da demanda bioquímica de oxigênio, e as lagoas de maturação são designadas para remoção de bactérias.

Em lagoas aeradas facultativas, segundo Chernicharo *et al.* (2008), o oxigênio é obtido através de aeradores, que causam um grande turbilhonamento na água, propiciando a penetração do oxigênio atmosférico na massa líquida, onde ele se dissolve. Com isto, consegue-se uma maior introdução de oxigênio, permitindo que a decomposição da matéria orgânica se dê mais rapidamente.

No tratamento terciário, além da remoção complementar de poluentes que não foram suficientemente removidos nos tratamentos anteriores, ocorre a remoção de poluentes específicos (geralmente tóxicos ou não biodegradáveis) por processos físico-químicos. As técnicas utilizadas envolvem coagulação, floculação, decantação, filtração, adsorção por meio de carvão ativado, osmose reversa, processos oxidativos avançados, entre outras (MANCUSO e SANTOS, 2003).

De acordo com resultados obtidos da SABESP, o esgoto bruto (afluente) chega à ETE contendo nitrogênio amoniacal ( $\text{NH}_3$ ), fósforo (P) e enxofre (S), dentre outros compostos. Com o processo de oxidação biológica sofrida pela amônia, que é convertida a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e posteriormente a  $\text{NO}_3^-$ , a concentração é reduzida durante o processo e íons  $\text{NO}_3^-$  são formados.

A remoção de nitrogênio (N) pode ser alcançada pela nitrificação e desnitrificação, volatilização da amônia, armazenamento em detritos e sedimento, remoção por plantas e incorporação na biomassa. A Figura 4 ilustra o processo de transformações do N.

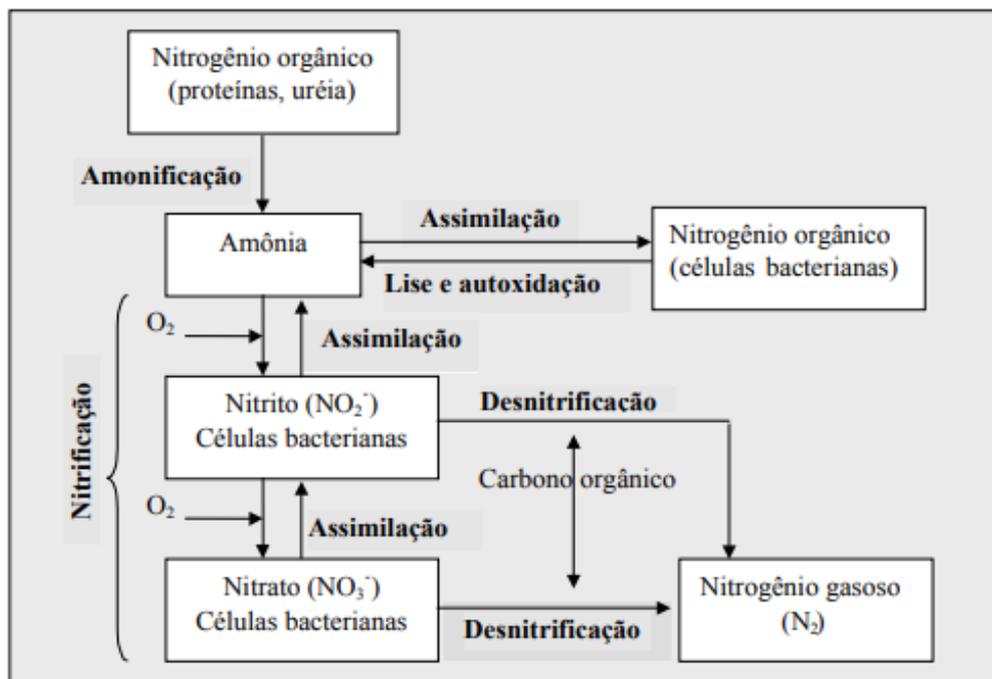
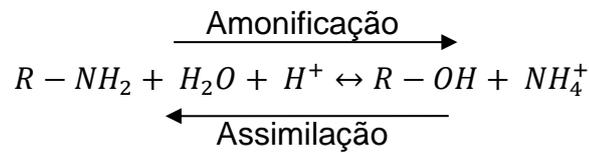


Figura 4 – Transformações do N em processos biológicos de tratamento.

Fonte: Adaptado de Sedlak (1991).

O processo de amonificação/assimilação pode ser representado pela equação abaixo:



O processo de nitrificação, que ocorre em condições aeróbias, pode ser representado pela equação a seguir:



Já o processo de desnitrificação, que é a redução biológica de  $NO_3^-$  para nitrogênio molecular ( $N_2$ ), pode ser representado pela equação:



#### 1.4 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo o estudo da aplicação de uma nova técnica para o monitoramento de compostos orgânicos e inorgânicos em ETE's, através do emprego da espectroscopia Raman.

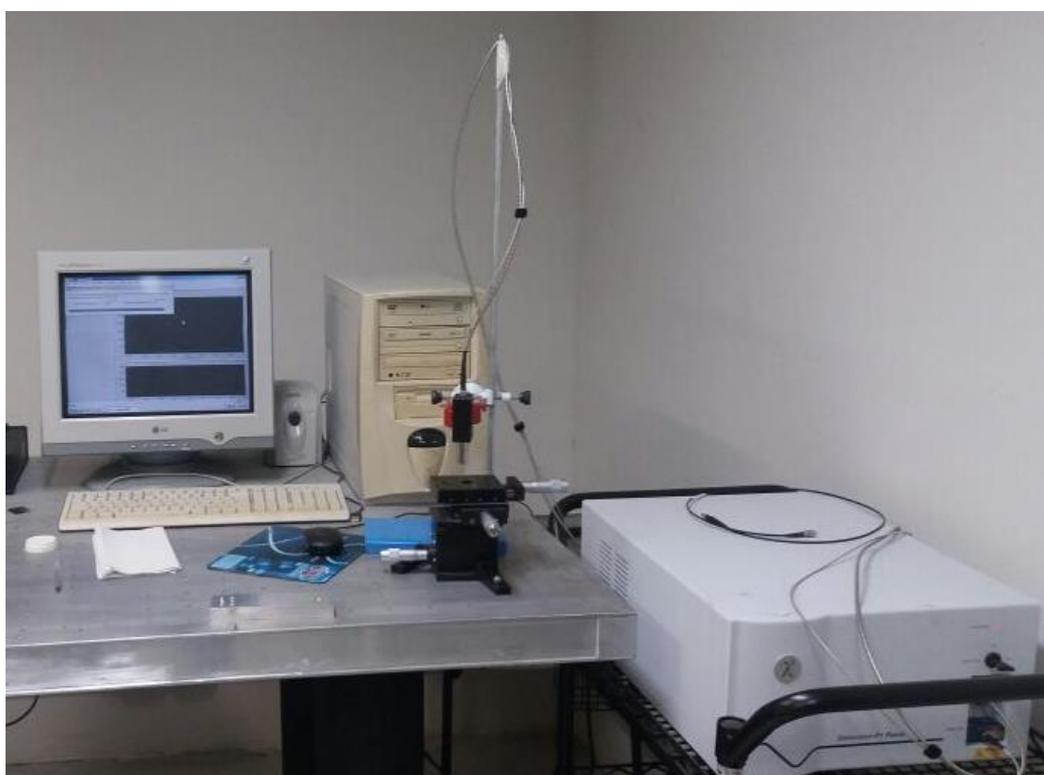
#### 1.5 Objetivos específicos

- Coletar amostras de efluentes domésticos em uma ETE e realizar a leitura em um espectrômetro Raman;
- Comparar os espectros obtidos com dados da literatura para determinar a presença de compostos orgânicos e inorgânicos;
- Quantificar os compostos presentes nas amostras coletadas através da preparação de padrões de referência.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Características do sistema

Para a obtenção dos espectros Raman, foi utilizado um sistema Raman dispersivo portátil com excitação de 830 nm e laser ajustável à potência de até 250 mW (modelo Dimension P-1 Raman system, Lambda Solutions, Inc., MA, EUA), conforme Figura 5.



**Figura 5 – Sistema Raman dispersivo portátil utilizado no estudo.**

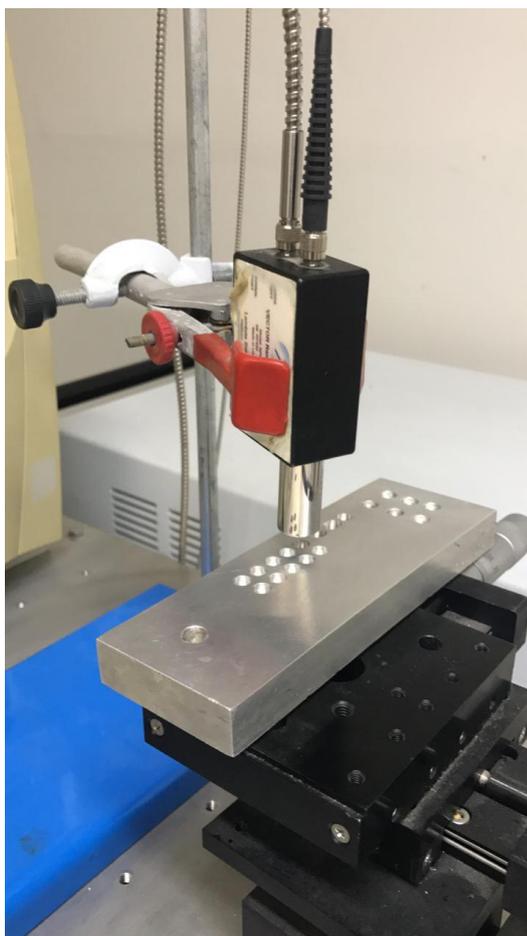
Fonte: Arquivo pessoal

A resolução espectral utilizada foi de  $4 \text{ cm}^{-1}$  num intervalo de  $400\text{-}1800 \text{ cm}^{-1}$ . O espectrômetro foi ligado a uma sonda de Raman (modelo Vector probe, Lambda Solutions, Inc. MA, EUA) de 3 m de comprimento, com filtro passa-banda e de rejeição, filtros necessários para retirada do espalhamento Raman proveniente da fibra óptica. O espectrômetro possui uma câmera CCD ( $1320 \times 100$  pixels), resfriada a  $-75^\circ\text{C}$  para diminuir o ruído térmico.

Foi utilizado um porta amostras de alumínio, com poços de 5 mm de diâmetro e capacidade de 100  $\mu\text{L}$  cada, onde foram inseridos 80  $\mu\text{L}$  de cada amostra em cada

poço, com o auxílio de uma pipeta mecânica, e, em seguida, a sonda foi colocada a uma distância de 10 mm, perpendicularmente à superfície da amostra (Figura 6).

O sinal espalhado por cada amostra foi então coletado pela sonda e acoplado ao espectrômetro Raman para a dispersão e detecção. O registro do espectro foi feito em triplicata para cada amostra. Os sinais Raman foram coletados em varreduras de 3 s. Os espectros brutos foram calibrados, pré-processados (filtragem da fluorescência) e analisados utilizando o *software* Microsoft Excel.



**Figura 6 – Porta amostras de alumínio e sonda, utilizados no estudo.**  
Fonte: Arquivo pessoal

As coletas dos espectros Raman foram realizadas no Centro de Inovação, Tecnologia e Educação – CITE, da Universidade Anhembi Morumbi (UAM) em São José dos Campos (SP).

## 2.2 Padronização da técnica

Foi realizada a padronização da técnica no espectrômetro Raman, e para a identificação e quantificação dos espectros, foram utilizados padrões de referência inorgânicos e orgânicos.

### 2.2.1 Detecção de substâncias inorgânicas

A Tabela 3 apresenta os padrões de referência inorgânicos utilizados, todos mantidos sob refrigeração até o momento da realização da análise.

**Tabela 3 – Padrões de referência inorgânicos utilizados no estudo**

Tipos de Padrões	Padrões	Fornecedor
Inorgânicos	Nitrato ( $100 \pm 0,06$ mg/L)	Alfakit Ltda., Florianópolis, SC, BRA
	Nitrito ( $100 \pm 0,08$ mg/L)	Alfakit Ltda., Florianópolis, SC, BRA
	Fosfato ( $100 \pm 0,06$ mg/L)	Alfakit Ltda., Florianópolis, SC, BRA

### 2.2.2 Detecção de substâncias orgânicas

A Tabela 4 apresenta os padrões de referência orgânicos utilizados, todos mantidos sob refrigeração até o momento da realização da análise.

**Tabela 4 – Padrões de referência orgânicos utilizados no estudo**

Tipos de Padrões	Padrões	Fornecedor
Orgânicos	Clorofórmio P.A.	CRQ – Cromato Produtos Químicos Eireli Ltda., Diadema, SP, BRA
	Diclorometano P.A.	Neon Comercial Ltda., São Paulo, SP, BRA
	Tolueno P.A.	Neon Comercial Ltda., São Paulo, SP, BRA
	Xileno P.A.	Neon Comercial Ltda., São Paulo, SP, BRA
	Sulfonato de Alquilbenzeno Linear (LAS) ( $100 \pm 0,06$ mg/L)	Alfakit Ltda., Florianópolis, SC, BRA
	Cafeína 0,1%	Infinity Pharma Ltda., Campinas, SP, BRA

### 2.2.3 Amostragem

Com as técnicas de detecção padronizadas, as amostras foram coletadas para estudo. A amostragem de colunas de água foi realizada em quatro pontos da ETE Cidade das Flores, na cidade de Peruíbe, SP: afluyente, dois tanques de aeração e

efluente (Figura 7). O tipo de tratamento da ETE é por batelada, e o nível de tratamento vai até o secundário.



**Figura 7 – Pontos de coleta na ETE Cidade das Flores, em Peruíbe.**  
 Fonte: Google Maps (2018).

Em cada ponto de amostragem, foi coletado 1 L de amostras de águas residuais usando uma garrafa de duplo compartimento, com três réplicas. As profundidades coletadas foram apresentadas da Tabela 5. Nos tanques de aeração, a coleta foi realizada em três alturas devido à profundidade ser maior (5 m) do que os tanques do afluente (2 m) e efluente (3 m), garantindo uma amostragem representativa.

**Tabela 5 – Pontos e profundidades de amostras coletadas na ETE Cidade das Flores**

<b>Pontos</b>	<b>Profundidades</b>
Afluente	1 m (superfície), 2 m (fundo)
Tanques de aeração	1 m (superfície), 3 m (meio), 5 m (fundo)
Efluente	1 m (superfície), 3 m (fundo)

Foram analisadas 120 amostras no total, sendo 30 amostras de cada coleta. As coletas foram realizadas nos meses de outubro/17, fevereiro/18, outubro/18 e abril/19.

As amostras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar, previamente lavados com lavagem especial e esterilizados em autoclave, identificadas e transportadas para o laboratório em um isopor com gelo. Foram filtradas em um sistema a vácuo com filtro de 0,45 µm para retirada de interferentes (bactérias e outras partículas grosseiras) e transferidas para tubos com rosca. As amostras foram então analisadas em um espectrômetro Raman dispersivo, e os espectros obtidos, foram comparados com os espectros dos padrões orgânicos e inorgânicos obtidos no estudo.

### 2.3 Análise dos dados

Foi realizada a análise de componentes principais (PCA) dos dados espectrais para identificar maiores detalhes dos picos encontrados e analisar de maneira semi-quantitativa as intensidades dos componentes principais (PC's). A PCA é usada para examinar similaridades ou diferenças entre amostras, eliminando grande parte dos ruídos experimentais. Os scores correspondem às coordenadas de cada amostra nos PC's, sendo que o score 1 corresponde às maiores variações espectrais, o score 2, às segundas maiores variações espectrais, e assim por diante. Esse procedimento foi realizado para verificar em que etapa do processo de tratamento, os analitos encontravam-se com maior intensidade. Tanto os gráficos dos scores quanto os dos PC's foram gerados, e nestes, para melhor visualização das informações, cada grupo analisado foi dividido por cores, conforme Tabela 6.

**Tabela 6 – Cores de identificação dos grupos analisados, representados nos gráficos de PCA**

<b>Grupo</b>	<b>Cor</b>
Afluente (etapa inicial do processo)	Vermelho
Tanque de aeração nº 1 (meio do processo)	Verde
Tanque de aeração nº 2 (meio do processo)	Amarelo
Efluente (etapa final do processo)	Azul

## 2.4 Quantificação

### 2.4.1 Leitura direta dos padrões no Espectrômetro Raman

Uma curva de calibração foi preparada, com o objetivo de determinar o limite de detecção do espectrômetro Raman, diluindo os padrões de  $\text{NO}_3^-$  (100 mg/L) e  $\text{PO}_4^{3-}$  (100 mg/L) com sete pontos, em concentrações que variaram de 0,15 a 10 mg/L. Um padrão de  $\text{NO}_3^-$  (100 mg/L) foi preparado no laboratório, baseando-se no Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012), método nº 4500- $\text{NO}_3^-$  B, para verificação da exatidão do padrão da Alfakit Ltda.

### 2.4.2 Método da adição-padrão

A quantificação das amostras foi baseada no método da adição-padrão que consta no livro de Análise Química Quantitativa (HARRIS, 2008), onde quantidades conhecidas de analito são adicionadas à amostra desconhecida, e a partir do aumento do sinal, é determinado o quanto de analito tem na amostra original. Esse procedimento foi realizado com o padrão de  $\text{NO}_3^-$ , sobre quatro amostras de águas residuais, da terceira e quarta coleta.

Foi escolhida 1 amostra de cada grupo (1 amostra do afluente, 1 amostra do tanque de aeração nº1, 1 amostra do tanque de aeração nº2 e 1 amostra do efluente) que apresentaram picos mais visíveis nos espectros Raman, e foi separado 1mL de cada amostra, em tubos de ensaio. Sobre esse volume, foram sendo adicionadas alíquotas de 50 a 200  $\mu\text{L}$  do padrão de  $\text{NO}_3^-$  100 mg/L. Conforme cada alíquota foi adicionada, a leitura no espectrômetro Raman foi sendo realizada.

Aplicou-se o *software* Origin® 2019 v. 9.60 (OriginLab, Northampton, MA, USA) para fazer o cálculo da área correspondente à região do pico de  $\text{NO}_3^-$  (deslocamento Raman =  $1050\text{ cm}^{-1}$ ). O Origin® é um *software* gráfico de análise de dados, que permite personalizar e automatizar as tarefas de importação, análise, representação gráfica e relatórios de dados. Após inserir os valores de deslocamento Raman da região referente à base do pico e os valores de variação espectral, selecionando as opções *Analysis, Fitting, Single Peak Fit, Function Gaussian*, as informações são

calculadas automaticamente e fornecidas em um gráfico e também em um relatório, conforme exemplo na Figura 8.

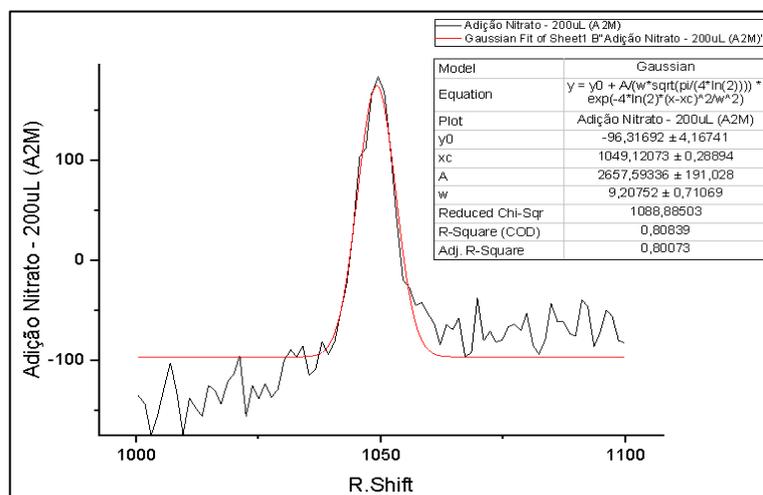


Figura 8 – Exemplo de cálculo da área do pico pelo software Origin®, obtido no estudo.

Os valores referentes às áreas, considerados como intensidades, foram transferidos para o software Microsoft Excel for Windows versão 2010 (Tabela 7).

Tabela 7 – Exemplo de tabela de dados para experimento de adição-padrão

Adição-padrão NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 100 mg/L a 1 mL de amostra (A2M – Tanque nº 2 Meio)

V <sub>o</sub> (mL) =	V <sub>s</sub> =	I <sub>(s+x)</sub> =	Função do eixo x	Função do eixo y
1	mL de padrão de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> adicionado	senal (un.arb.)	Si*V <sub>s</sub> /V <sub>o</sub>	I <sub>(s+x)</sub> *V/V <sub>o</sub>
[S] <sub>i</sub> (mg/L) =	0,000	1024,56828	0,000	1024,568
100	0,050	1274,75096	5,000	1338,489
	0,100	1610,41198	10,000	1771,453
	0,150	2337,89533	15,000	2688,580
	0,200	2657,59336	20,000	3189,112

Foi observado o limite da faixa recomendada de aumento de sinal analítico, que é de 1,5 a 3 vezes (HARRIS, 2008). Na Tabela 7, terceira coluna, constam os valores de sinal registrados, referente à amostra do tanque 2, sendo o primeiro igual a 1024,57 un.arb. e o último igual a 2657,59 un.arb., ou seja, 2,6 vezes maior.

Com os valores de x e y, calculados conforme Tabela 7, foi plotado um gráfico, para cada uma das quatro amostras (Figura 9). Utilizando a equação da reta de cada

curva formada, o y foi igualado a zero, e o valor de x foi calculado, ou seja, a concentração inicial de  $\text{NO}_3^-$  nas amostras.

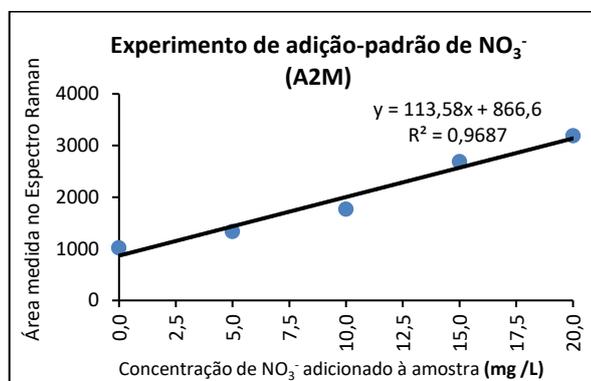


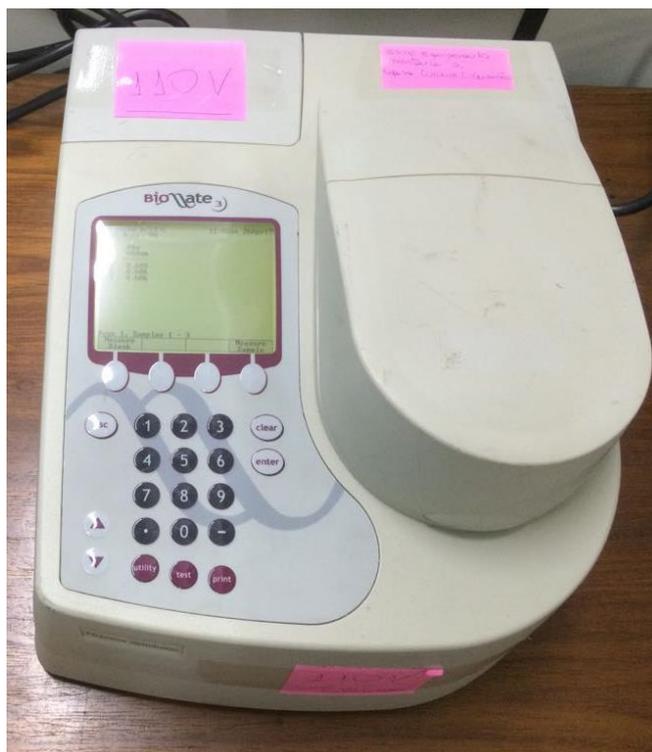
Figura 9 – Reta obtida com os valores de área para cálculo da concentração inicial de  $\text{NO}_3^-$  na amostra.

### 2.4.3 Método de Espectrofotometria

Para efeito de comparação entre o método que foi desenvolvido neste estudo, e um método utilizado mundialmente na rotina de laboratórios de análises, as amostras coletadas também foram quantificadas pelo espectrofotômetro UV-Visível, e os resultados dos dois métodos de quantificação foram comparados, para verificação da viabilidade da utilização do método de espectroscopia Raman.

Foi realizado o desenvolvimento de coloração pelo método fornecido pela Alfakit Ltda., utilizando os próprios reagentes fornecidos pela empresa.

Para a aquisição dos valores de absorbâncias, as curvas de calibração de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  foram lidas em um espectrofotômetro UV-Visível (Thermo Spectronic, modelo Biomate 3) com faixa de  $\lambda$  de 190 a 1100 nm, conforme Figura 10.



**Figura 10 – Espectrofotômetro UV-Visível utilizado no estudo.**  
Fonte: Arquivo pessoal

Todas as leituras foram realizadas em triplicatas, para estabelecer precisão. Antes de cada análise, foi preparado um branco da solução para a verificação de interferentes.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Padronização da técnica

##### 3.1.1 Detecção de substâncias inorgânicas

Os padrões de  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  foram analisados por espectroscopia Raman, e os espectros obtidos foram apresentados na Figura 11.

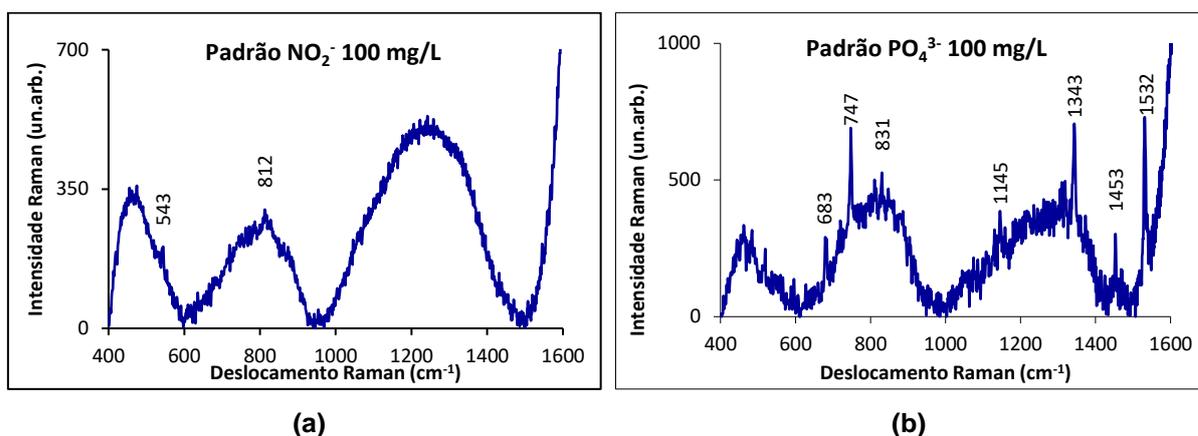


Figura 11 – (a) Espectro Raman do padrão de  $\text{NO}_2^-$  100 mg/L da Alfakit Ltda e (b) Espectro Raman do padrão de  $\text{PO}_4^{3-}$  100 mg/L, obtidos no estudo.

O padrão de verificação de  $\text{NO}_3^-$  (100 mg/L) preparado na própria Universidade, a partir do sal nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ), com base no Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012), método nº 4500- $\text{NO}_3^-$  B, apresentou pico na região de 1050  $\text{cm}^{-1}$ , idêntico ao padrão  $\text{NO}_3^-$  (100 mg/L) da Alfakit Ltda., também analisado por espectroscopia Raman. Ambos foram apresentados na Figura 12.

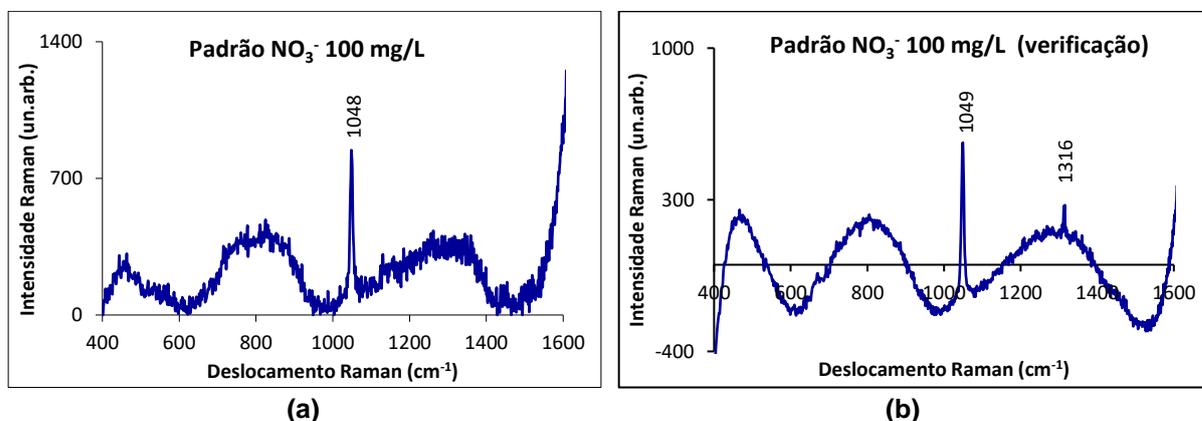


Figura 12 – (a) Espectro Raman do padrão de  $\text{NO}_3^-$  100 mg/L da Alfakit Ltda e (b) Espectro Raman do padrão de verificação de  $\text{NO}_3^-$  100 mg/L, obtidos no estudo.

### 3.1.2 Detecção de substâncias orgânicas

Alguns padrões de compostos orgânicos foram analisados, e os espectros Raman obtidos foram apresentados a seguir (Figura 13, Figura 14 e Figura 15).

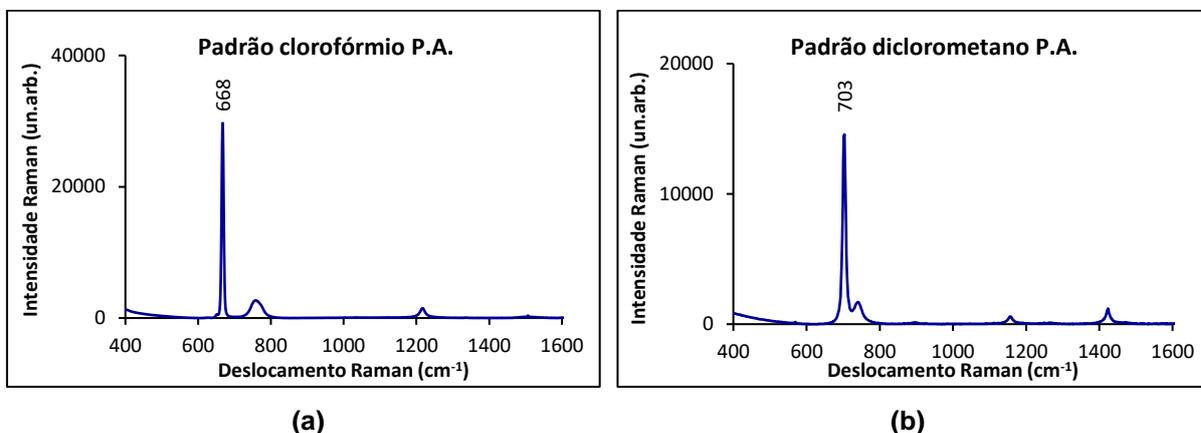


Figura 13 – (a) Espectro Raman do padrão de clorofórmio P.A. e (b) Espectro Raman do padrão de diclorometano P.A., obtidos no estudo.

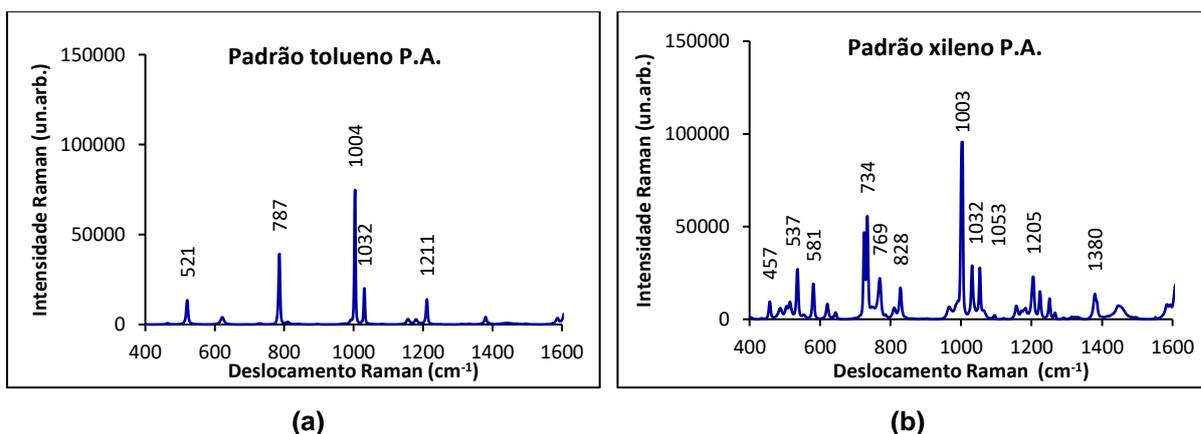


Figura 14 – (a) Espectro Raman do padrão de tolueno P.A. e (b) Espectro Raman do padrão de xileno P.A., obtidos no estudo.

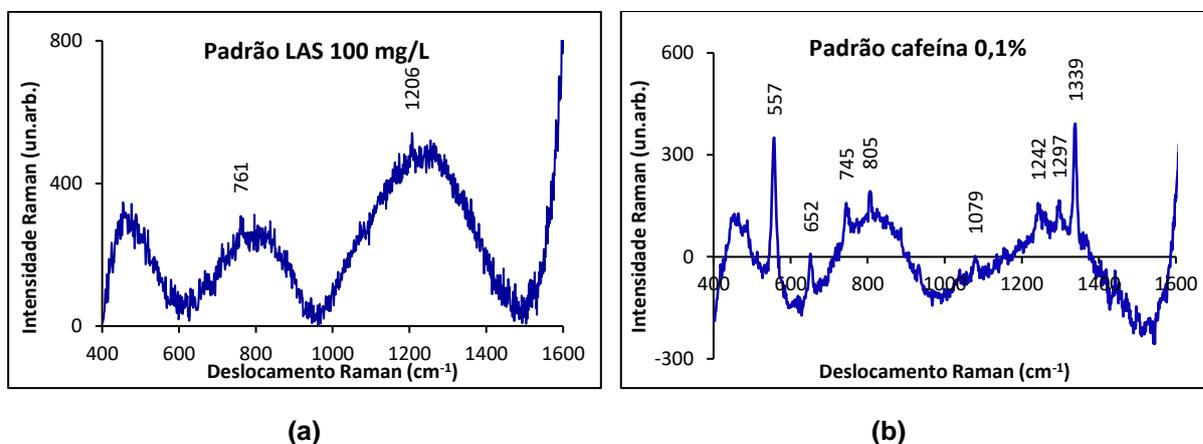


Figura 15 – (a) Espectro Raman do padrão de LAS 100 mg/L e (b) Espectro Raman do padrão de cafeína 0,1%, obtidos no estudo.

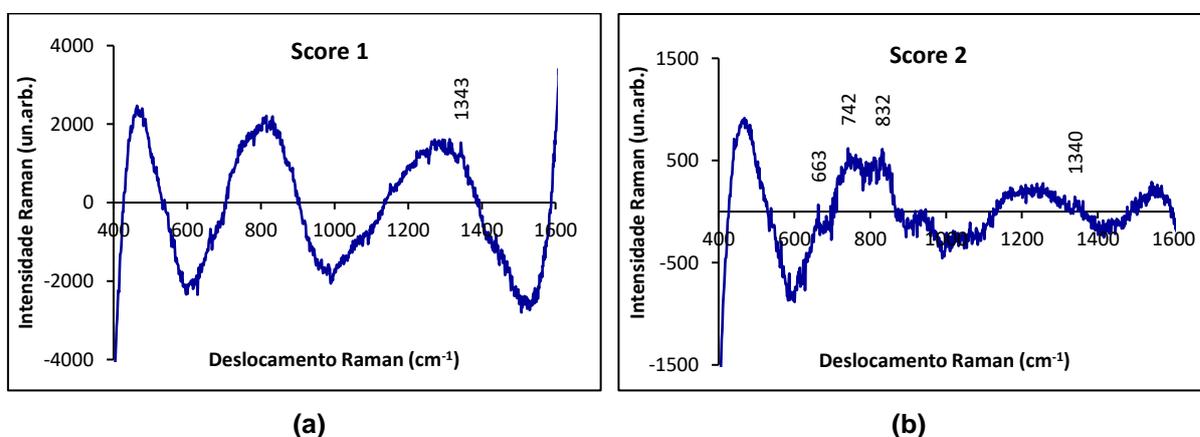
A Tabela 8 apresenta os valores de deslocamento Raman dos picos dos padrões analisados por espectroscopia Raman, e também de alguns compostos encontrados na literatura, e que foram identificados nas amostras.

**Tabela 8 – Deslocamentos Raman dos picos encontrados na literatura e nos padrões analisados no estudo.**

Composto	Deslocamento Raman (cm <sup>-1</sup> )	Referência
Clorofórmio	668	Obtido no estudo
Diclorometano	703	Obtido no estudo
Tolueno	521, 787, 1004, 1032, 1211	Obtido no estudo
Xileno	457 ~1608	Obtido no estudo
LAS	761, 1206	Obtido no estudo
Cafeína	557, 625, 745, 805, 1079, 1242, 1297, 1339	Obtido no estudo
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1048	Obtido no estudo
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1050	Li, Wang e Li (2016)
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	683, 747, 831, 1145, 1343, 1453, 1532	Obtido no estudo
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	960	Kinoshita <i>et al.</i> (2008)
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	543, 812	Obtido no estudo
Deformação C-C	483	Lin-Vien <i>et al.</i> (1991)
Estiramento esquelético C-C	1111	Lin-Vien <i>et al.</i> (1991)
Deformação simétrica de S-CH <sub>3</sub>	1310	Lin-Vien <i>et al.</i> (1991)
Deformações CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub>	1471	Lin-Vien <i>et al.</i> (1991)

### 3.2 Análise dos dados

Os espectros Raman obtidos na primeira coleta de amostras apresentaram picos nas regiões de 663, 742, 832 e 1340 cm<sup>-1</sup> (Figura 16). O score indica as variações espectrais do conjunto de amostras analisadas.



**Figura 16 – (a) Espectro Raman do score 1 das amostras da 1ª coleta e (b) Espectro Raman do score 2 das amostras da 1ª coleta, obtidos no estudo.**

Comparando-se o score 2 com os valores dos picos de  $\text{PO}_4^{3-}$  que constam na Tabela 8, pode-se dizer que os picos referem-se ao  $\text{PO}_4^{3-}$ .

A filtragem prévia das amostras, em um sistema a vácuo com filtro de  $0,45 \mu\text{m}$  para retirada de interferentes (bactérias), não foi realizada com as amostras da primeira coleta. Devido a isso, os resultados podem ter sido inibidos por interferentes. O procedimento foi realizado nas coletas seguintes e foi possível observar um aumento na intensidade dos picos, quando comparado às mesmas amostras sem filtragem.

Os espectros obtidos na segunda coleta de amostras apresentaram além dos picos já identificados como  $\text{PO}_4^{3-}$ , picos nas regiões de 483, 955, 1051, 1111 e 1310  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 17).

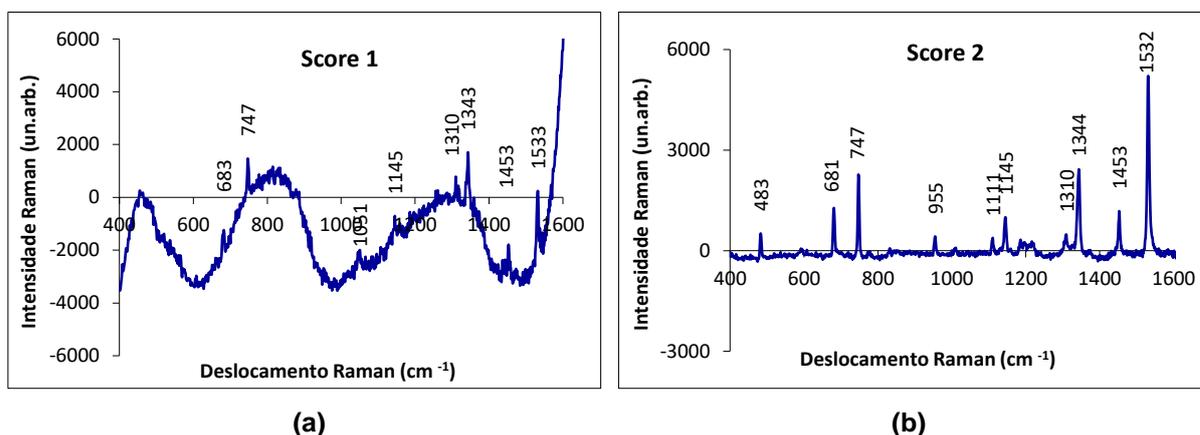
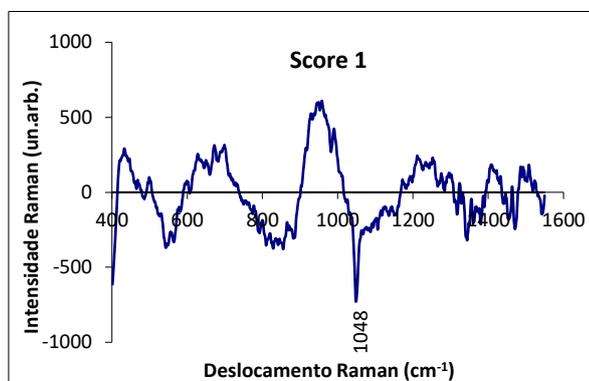


Figura 17 – (a) Espectro Raman do score 1 das amostras da 2ª coleta e (b) Espectro Raman do score 2 das amostras da 2ª coleta, obtidos no estudo.

Referente ao pico na região de  $955 \text{ cm}^{-1}$ , no artigo de Kinoshita *et al.* (2008) é identificado como  $\text{PO}_4^{3-}$  em  $960 \text{ cm}^{-1}$ , conforme Tabela 8. O pico na região de  $1050 \text{ cm}^{-1}$  pode ser identificado como  $\text{NO}_3^-$  (Tabela 8).

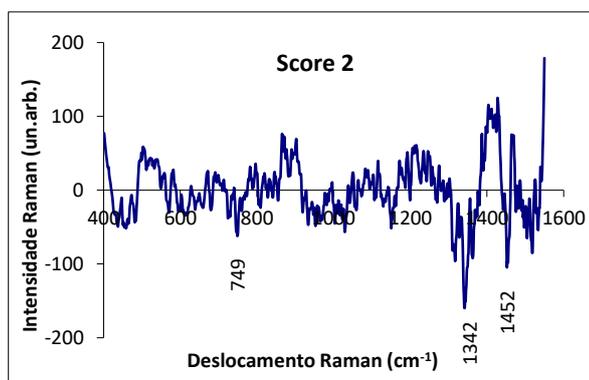
No artigo de Li, Wang e Li (2016), identificam o nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ) com pico na região de  $1050 \text{ cm}^{-1}$  confirmando o resultado obtido. Os picos nas regiões de 483 e  $1111 \text{ cm}^{-1}$  são característicos de deformação e estiramento esquelético C-C, respectivamente, possivelmente a partir de alcanos de cadeia normal nestas amostras, de acordo com Lin-Vien *et al.* (1991) (Tabela 8), derivados de solventes ou removedores de óleo. O pico em  $1310 \text{ cm}^{-1}$ , possivelmente está ligado ao enxofre (S), de acordo com Lin-Vien *et al.* (1991), onde indica o deslocamento Raman aproximado para deformação simétrica de S-CH<sub>3</sub> (Tabela 8).

O score 1 (Figura 18), obtido na terceira coleta de amostras, apresentou o pico na região de  $1048\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser identificado como  $\text{NO}_3^-$  (Tabela 8).



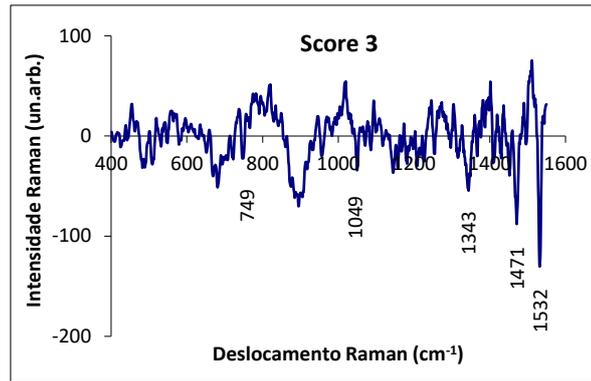
**Figura 18 – Espectro Raman do score 1 das amostras da 3ª coleta, obtido no estudo.**

O score 2 (Figura 19), obtido na terceira coleta de amostras, apresentou picos nas regiões de  $749$ ,  $1342$  e  $1452\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser identificado como  $\text{PO}_4^{3-}$ , conforme Tabela 8.



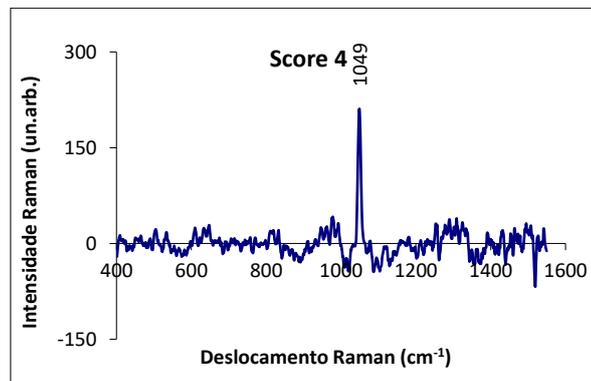
**Figura 19 – Espectro Raman do score 2 das amostras da 3ª coleta, obtido no estudo.**

O score 3 (Figura 20), apresentou picos nas regiões de  $749$ ,  $1343$ ,  $1532\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser identificado como  $\text{PO}_4^{3-}$  (Tabela 8). O pico na região de  $1049\text{ cm}^{-1}$  pode ser identificado como  $\text{NO}_3^-$  (Tabela 8). O pico na região de  $1471\text{ cm}^{-1}$  é característico de deformações  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ , possivelmente a partir de alcanos de cadeia normal nestas amostras, de acordo com Lin-Vien *et al.* (1991) (Tabela 8).



**Figura 20 – Espectro Raman do score 3 das amostras da 3ª coleta, obtido no estudo.**

O score 4 (Figura 21), apresentou um pico na região de 1049  $\text{cm}^{-1}$  pode ser identificado como  $\text{NO}_3^-$ , conforme Tabela 8.



**Figura 21 – Espectro Raman do score 4 das amostras da 3ª coleta, obtido no estudo.**

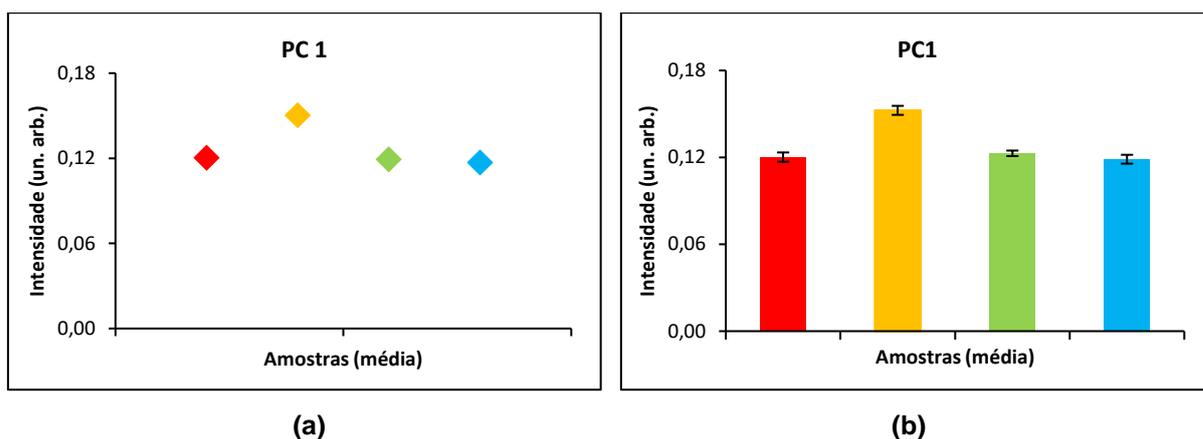
Com base nos espectros obtidos, não foi identificada a presença nas amostras, dos compostos orgânicos clorofórmio, diclorometano, tolueno e xileno, devido à natureza do efluente analisado ser predominantemente doméstico.

O composto LAS e a cafeína também não foram identificados nas amostras, podendo estar presente, porém em concentração menor que o limite de detecção do espectrômetro Raman.

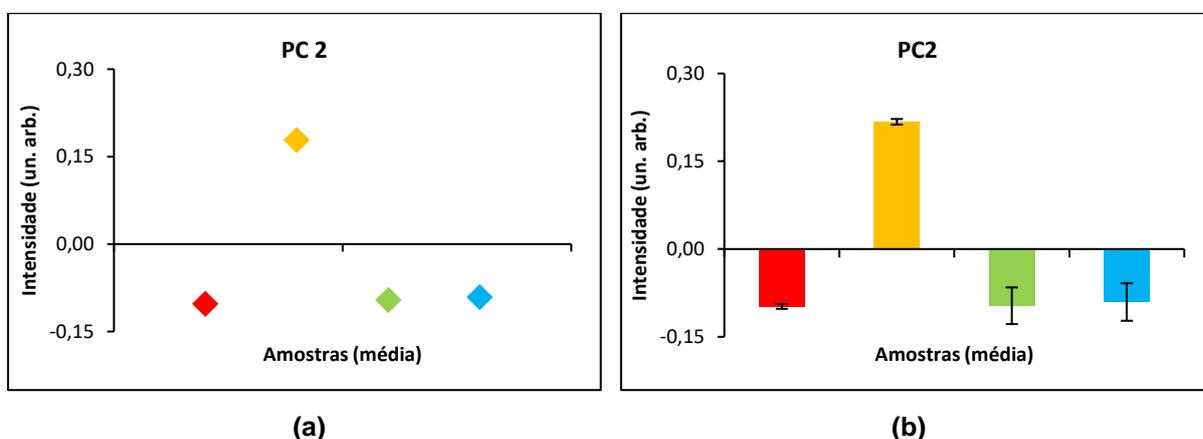
Com referência ao padrão de  $\text{NO}_2^-$ , não foram identificados picos semelhantes nas amostras, primeiro por causa do limite de detecção do espectrômetro Raman e segundo por causa do processo de oxidação biológica, em que o  $\text{NO}_2^-$  é convertido em  $\text{NO}_3^-$  (nitrificação).

Pela PCA, foi possível identificar detalhes dos picos e fazer uma análise semi-quantitativa pelas intensidades dos PC's. Na Figura 22 e na Figura 23, referentes aos

scores 1 e 2 da primeira coleta, que apresentaram  $\text{PO}_4^{3-}$ , pode-se observar que o grupo que apresentou maior intensidade, foi o grupo amarelo, que seria o tanque de aeração nº 02 (meio do processo). Ou seja, neste grupo de amostras, o composto cujos picos encontram-se nas regiões citadas ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), é identificado com maior presença.

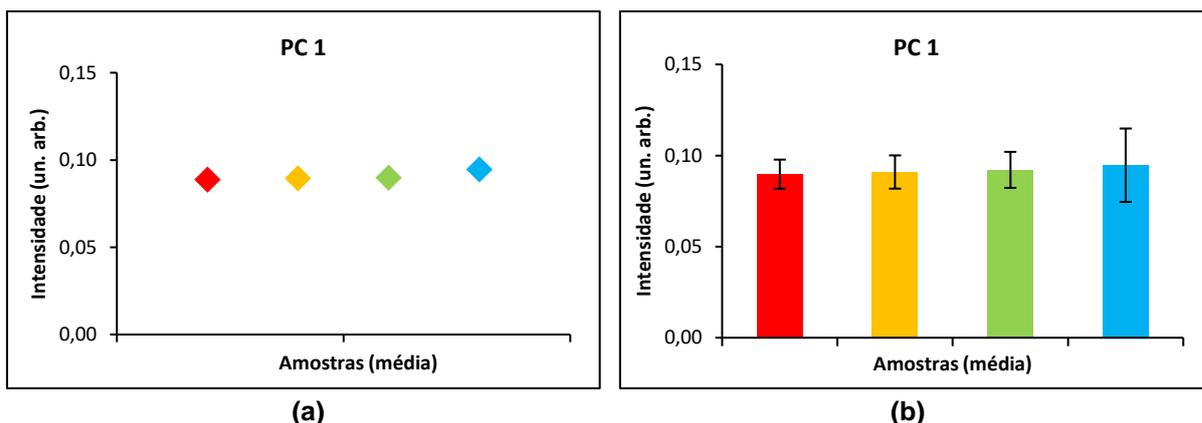


**Figura 22 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 1, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 1, obtidos no estudo.**



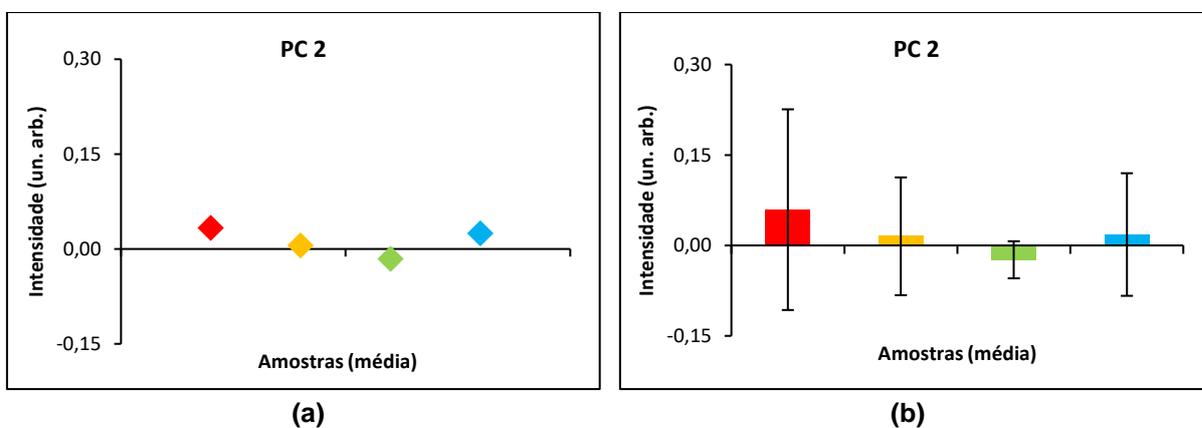
**Figura 23 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 2, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 2, obtidos no estudo.**

Realizando a PCA referente ao score 1 da segunda coleta, que apresentou  $\text{NO}_3^-$  e composto orgânico com S, pode-se observar que o houve um equilíbrio entre os grupos, com apenas 1 amostra do grupo azul acima da média, que seria o efluente (etapa final do processo) (Figura 24).



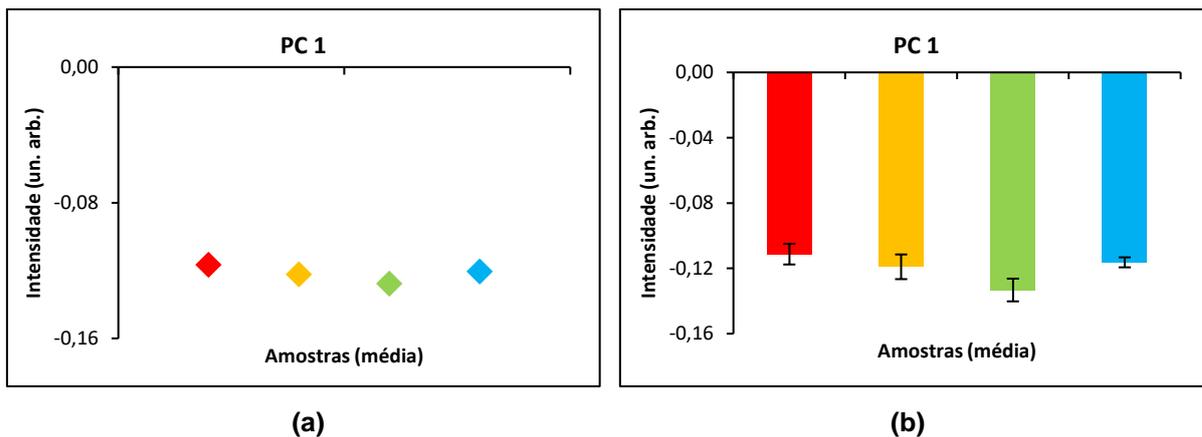
**Figura 24 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 2ª coleta, provenientes do score 1, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 1ª coleta, provenientes do score 1, obtidos no estudo.**

Já nos PC's referentes ao score 2 da segunda coleta, que apresentou a presença de  $\text{PO}_4^{3-}$ , deformação e estiramento esquelético C-C, e composto orgânico com S (Figura 25), foi possível observar a presença um pouco maior dos compostos nas amostras do grupo vermelho, o afluente (etapa inicial do processo).



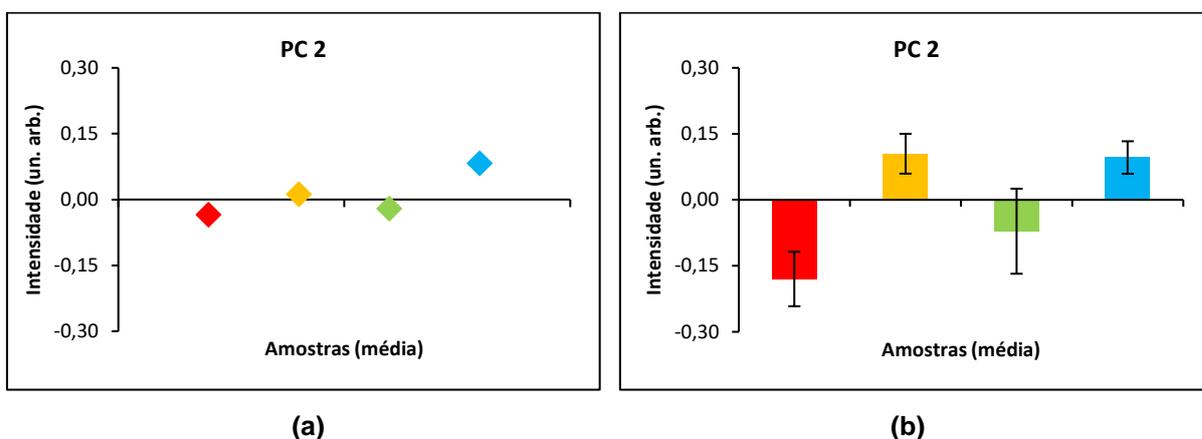
**Figura 25 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 2ª coleta, provenientes do score 2, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 2ª coleta, provenientes do score 2, obtidos no estudo.**

Analisando os PC's, referentes ao score 1 da terceira coleta, que apresentou a presença de  $\text{NO}_3^-$  (Figura 26), pode-se observar que houve um equilíbrio entre os grupos, com intensidade um pouco maior, no grupo verde, que seria o tanque de areação nº 01 (meio do processo).



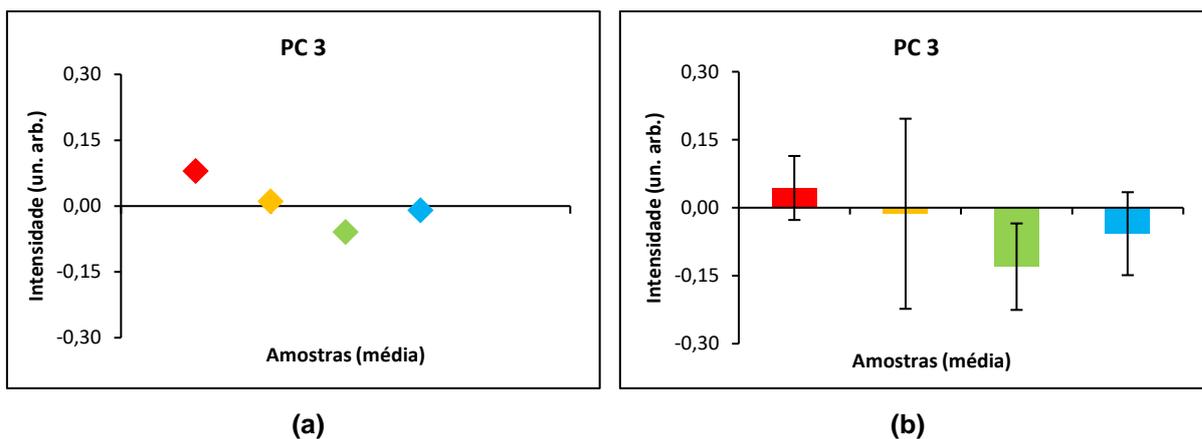
**Figura 26 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 1, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 1, obtidos no estudo.**

Nos PC's referentes ao score 2 da terceira coleta, que apresentou a presença de  $PO_4^{3-}$  (Figura 27), as amostras do grupo vermelho, o afluente (etapa inicial do processo), o composto aparece com mais intensidade.



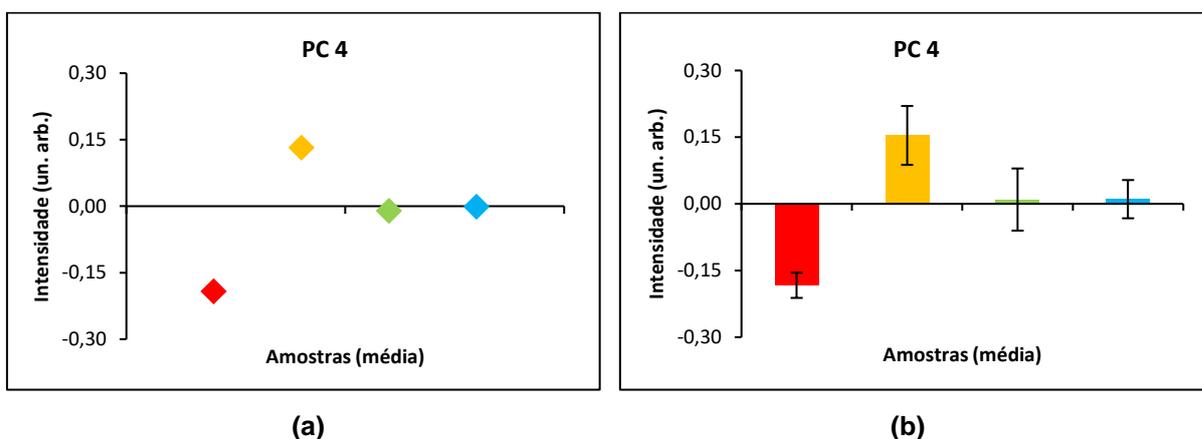
**Figura 27 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 2, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 2, obtidos no estudo.**

A PCA referente ao score 3 da terceira coleta, que apresentou  $PO_4^{3-}$ ,  $NO_3^-$  e deformações  $CH_3$  e  $CH_2$  (Figura 28), indicou uma presença maior dos compostos nas amostras do grupo verde, o tanque de aeração nº 01 (meio do processo).



**Figura 28 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 3, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 3, obtidos no estudo.**

A PCA referente ao score 4 da terceira coleta, que apresentou  $\text{NO}_3^-$  (Figura 29), indicou uma presença maior dos compostos nas amostras do grupo amarelo, o tanque de aeração nº 02 (meio do processo).



**Figura 29 – (a) Gráfico comparativo entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 4, e (b) Gráfico de análise semi-quantitativa entre os grupos de amostras analisadas na 3ª coleta, provenientes do score 4, obtidos no estudo.**

A Tabela 9 apresenta um resumo dos resultados obtidos, em relação aos compostos encontrados nas amostras analisadas por espectroscopia Raman, nos grupos que apresentaram maior intensidade.

**Tabela 9 – Compostos encontrados nas amostras de efluente das 3 coletas, obtidos no estudo.**

Coletas	Afluente	Tanque 1	Tanque 2	Efluente
1ª	Scores 1 e 2		PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (Figura 22 e Figura 23)	
2ª	Score 1 Score 2	----- NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e composto orgânico com S* (Figura 24) ----- PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , C-C e S (Figura 25)		
3ª	Score 1 Score 2 Score 3 Score 4	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (Figura 27)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (Figura 26) PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> e CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> (Figura 28)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (Figura 29)

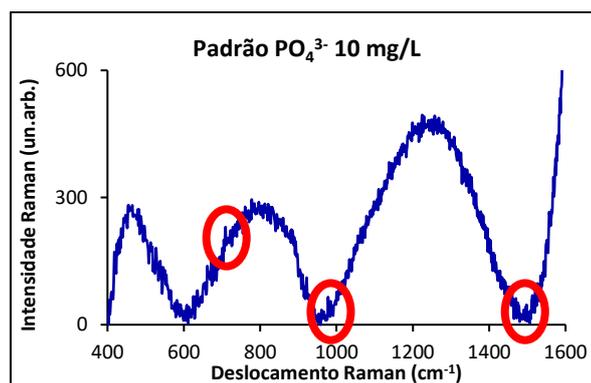
\*O score 1 da 2ª coleta, apresentou equilíbrio entre os grupos analisados.

A quarta coleta foi realizada com o objetivo de quantificar o NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, portanto não foi realizada a PCA com estes dados.

### 3.3 Quantificação

#### 3.3.1 Leitura direta dos padrões no Espectrômetro Raman

A curva de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, preparada com o padrão da Alfakit Ltda., com sete pontos, (Figura 30), apresentou intensidade baixa dos picos, mesmo na maior concentração, de 10 mg/L.



**Figura 30 - Espectro Raman do ponto mais alto da curva, obtido no estudo.**

A curva de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, preparada com o padrão da Alfakit Ltda., com sete pontos, também apresentou intensidade baixa do pico, mesmo na maior concentração, de 10 mg/L (Figura 31).

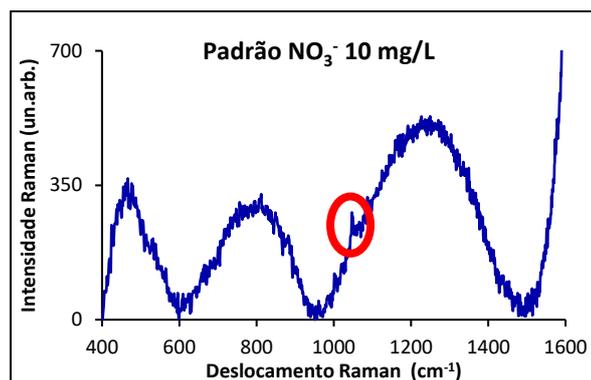


Figura 31 - Espectro Raman do ponto mais alto da curva, obtido no estudo.

### 3.3.2 Método da adição-padrão

Foi realizada a quantificação de  $\text{NO}_3^-$  de quatro amostras da terceira e quarta coleta, com o procedimento de adição-padrão. Na Tabela 10, podem-se verificar os valores obtidos de concentração de  $\text{NO}_3^-$  presente em cada amostra, quando se iguala o y da equação de cada reta a zero.

Tabela 10 – Valores de concentração de  $\text{NO}_3^-$  nas amostras da 3ª e 4ª coleta analisadas por espectroscopia Raman, obtidos no estudo.

Coleta	Amostras	Equação da reta	Concentração $\text{NO}_3^-$ (mg/L)
3ª	Afluente (A1S)	-	Não detectado
	Tanque 2 (A2M)	$y = 113,58x + 866,6$	7,63
	Tanque 1 (A3M)	$y = 150,12x + 383,11$	2,55
	Efluente (A4S)	$y = 141,13x + 335,06$	2,37
4ª	Afluente (A1S)	-	Não detectado
	Tanque 2 (A2F)	$y = 76,928x + 185,45$	2,41
	Tanque 1 (A3M)	-	Não detectado
	Efluente (A4F)	$y = 74,825x + 146,07$	1,95

### 3.3.3 Método de Espectrofotometria

A curva de  $\text{NO}_3^-$  foi lida em  $\lambda$  igual a 535 nm, que é o indicado no Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012), método nº 4500- $\text{NO}_3^-$  B, e a curva de  $\text{PO}_4^{3-}$ , em 650 nm, indicado no Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012), método nº 4500-P E. Os resultados das absorvâncias foram anotados, e utilizando o *software* Microsoft Excel for Windows versão 2010, plotados em um gráfico para verificação do coeficiente de regressão.

A curva de  $\text{PO}_4^{3-}$ , preparada com o padrão da Alfakit Ltda., com sete pontos, apresentou  $R^2 = 0,9998$ , pelo método colorimétrico (Figura 32).

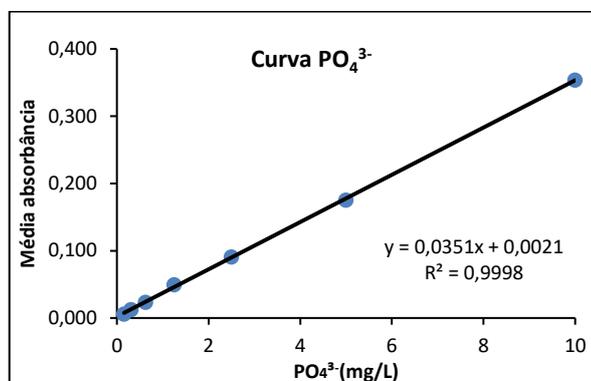


Figura 32 – Curva de calibração preparada a partir do padrão de  $\text{PO}_4^{3-}$  100 mg/L da Alfakit Ltda.

A curva de  $\text{NO}_3^-$ , preparada com o padrão da Alfakit Ltda., com sete pontos, apresentou  $R^2 = 0,9921$ , pelo método colorimétrico (Figura 33).

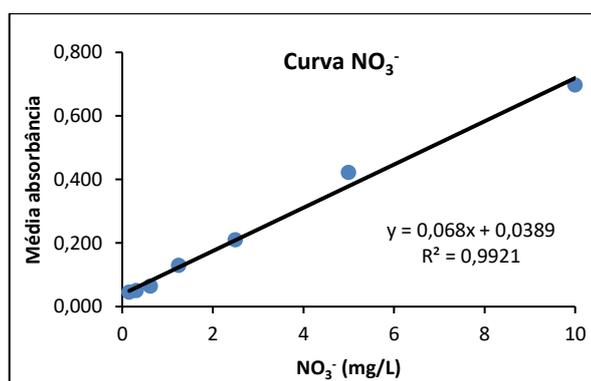


Figura 33 – Curva de calibração preparada a partir do padrão de  $\text{NO}_3^-$  100mg/L da Alfakit Ltda.

Os resultados de absorvância obtidos em relação às amostras foram inseridos em uma planilha do *software* Microsoft Excel for Windows versão 2010, e os valores de concentração de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  nas amostras foram calculados, baseados nas curvas de calibração preparadas.

Comparando-se os resultados de concentração de  $\text{NO}_3^-$  obtidos pela quantificação em espectrofotômetro UV-Visível com os resultados pelo método de adição-padrão, os valores estão abaixo de 10 mg/L (Tabela 11).

**Tabela 11 – Comparação entre os valores de concentração de  $\text{NO}_3^-$  das amostras analisadas por espectroscopia Raman, e por espectrofotometria, obtidos no estudo.**

Coleta	Amostras	Concentração $\text{NO}_3^-$ (mg/L)	
		Raman	Espectrofotômetro
3 <sup>a</sup>	Afluente	Não detectado	0,80
	Tanque 2	7,63	6,97
	Tanque 1	2,55	5,68
	Efluente	2,37	8,18
4 <sup>a</sup>	Afluente	Não detectado	0,75
	Tanque 2	2,41	1,53
	Tanque 1	Não detectado	0,92
	Efluente	1,95	1,92

A metodologia utilizada neste estudo foi capaz de detectar a presença de compostos inorgânicos em águas residuais, como o  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ , e alguns picos sendo possivelmente pertencentes a compostos orgânicos, como deformações  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$  e estiramento C-C provenientes de alcanos de cadeia normal. Concentrações de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  menores que 10 mg/L, foram difíceis de serem identificadas no espectro Raman, sendo possível a quantificação das amostras apenas pelo método de adição-padrão, no caso do  $\text{NO}_3^-$ . Não foi realizado o procedimento de adição-padrão para o  $\text{PO}_4^{3-}$ , devido à intensidade fraca dos picos.

Para Li, Wang e Li (2016), um dos principais desafios é o limite de detecção, pois os limites relatados em literaturas atingem o nível de ppm (mg/L), mas grande parte da faixa de concentração permitida para orgânicos, outros inorgânicos e contaminantes biológicos devem estar no nível de ppb ( $\mu\text{g/L}$ ). Além disso, os experimentos no nível de ppm encontrados, foram realizados com padrões ao invés de serem com amostras de efluentes, que são complexos e compostos por uma grande quantidade de poluentes (LI, WANG e LI, 2016).

O método SERS acoplado a um nanosubstrato de ouro disponível comercialmente, foi usado na detecção de  $\text{NO}_3^-$  em água e efluentes por Gajaraj *et al.* (2013). Em comparação com a Espectroscopia Raman comum, as aplicações de SERS combinado com nanosubstratos de ouro resultou, no estudo de Li, Wang e Li (2016), no realce de sinais Raman sendo possível detectar concentrações de  $\text{NO}_3^-$  variando de 1 a 100 ppm de  $\text{NO}_3^-$  em amostras de efluentes, com limite de detecção de aproximadamente 0,5 ppm.

O  $\text{NO}_3^-$ , contaminante inorgânico muito difundido na natureza, é encontrado em águas superficiais e subterrâneas, vapor de água, em plantas, animais e alimentos (LI, WANG e LI, 2016). Como os íons  $\text{NO}_3^-$  continuam a entrar nos sistemas aquáticos a partir de fontes antropogênicas, por exemplo com o lançamento de esgoto doméstico ou uso de fertilizantes, a eutrofização acelerada ocorre em ecossistemas marinhos e de água doce (CAMARGO, ALONSO e SALAMANCA, 2005). O mesmo ocorre para o  $\text{PO}_4^{3-}$ . Elevadas concentrações de  $\text{NO}_3^-$  causam metemoglobinemia em animais aquáticos (JENSEN, 2003) e síndrome do bebê azul em humanos (GREER e SHANNON, 2005).

No trabalho de Pinheiro *et al.* (2013), em que determinaram as concentrações e as cargas de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ , na bacia do Ribeirão Concórdia, Lontras, SC, ressaltam que a contribuição de carga de  $\text{PO}_4^{3-}$  crescente no ribeirão analisado, em relação à nascente, pode ter ocorrido devido às contribuições pontuais dos lançamento de esgotos domésticos tratados em sistemas individuais de tratamento e de dejetos animais.

As Resoluções nº. 357 (CONAMA, 2005) e nº. 420 (CONAMA, 2009) do Conselho Nacional do Meio Ambiente estabelecem padrões para a classificação das águas superficiais e subterrâneas, respectivamente, em função das concentrações das espécies químicas presentes na massa líquida, dentre quais se situa o  $\text{NO}_3^-$ , cujos limites se encontram em ambas as resoluções na concentração de 10 mg/L (PINHEIRO *et al.*, 2013).

Para o fósforo total somente a Resolução nº. 357/2005 estabelece o limite de concentração, no valor de 0,05 mg/L, recomendado para ambientes intermediários e de classe 2 (classe de enquadramento das águas do Rio Preto). Pinheiro *et al.* (2013) apresentam em seu estudo a relação entre o valor de concentração de fósforo total e  $\text{PO}_4^{3-}$ , que é:  $\text{PO}_4^{3-} = P_{\text{total}} * 3,066$ . Portanto, para o valor 0,05 mg/L de  $P_{\text{total}}$ , foi obtida a concentração de 0,1533 mg/L, como valor recomendado de  $\text{PO}_4^{3-}$ .

Com referência ao lançamento de efluentes, a Resolução nº. 430 (CONAMA, 2011) do Conselho Nacional do Meio Ambiente estabelece limite para o  $\text{NH}_3$ , na concentração de 20,0 mg/L. Não cita  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ . Porém, no Art. 17, diz que o órgão ambiental competente poderá definir padrões específicos para o parâmetro P no caso de lançamento de efluentes em corpos receptores com registro histórico de floração

de cianobactérias, em trechos onde ocorra a captação para abastecimento público (CONAMA, 2011).

O controle sanitário da SABESP se baseia na Resolução CONAMA nº. 357/2005, Artigo 15, para amostras coletadas no Rio, Resolução CONAMA nº. 430/2011, Artigo 16, para amostras coletadas no Efluente (etapa final do processo), e também no Decreto Estadual 8468/76, Artigo 18, para o Efluente. O Decreto Estadual 8468/76 estabelece como limite máximo de concentração de  $\text{NO}_3^-$  de 10mg/L.

No trabalho de Chernicharo *et al.* (2008), indicam que os principais nutrientes de interesse para a engenharia sanitária, na caracterização de esgotos sanitários, são o N e o P. Como faixas típicas no esgoto bruto, apresentam de 35 a 60 mg/L, para o N e, de 4 e 15 mg/L, para o P (pela correlação de Pinheiro *et al.* (2013), entre 12,3 e 46 mg/L de  $\text{PO}_4^{3-}$ ).

Um vasto conjunto de trabalhos experimentais sobre o uso de espectroscopia Raman em água tem surgido, e para que essa técnica possa ser implementada como ferramenta de monitoramento da qualidade da água, o aumento da compreensão da estrutura hídrica e da sua resposta óptica são necessárias (GOWEN *et al.*, 2012).

## 4 CONCLUSÃO

Diversas técnicas de espectroscopia Raman têm sido amplamente aplicadas para detecção de diferentes contaminantes em ambientes aquáticos, incluindo orgânicos, inorgânicos e contaminantes biológicos, podendo tornar-se uma ferramenta rápida e precisa.

Dos espectros obtidos no estudo, foi possível identificar a presença dos contaminantes inorgânicos  $\text{PO}_4^{3-}$  e  $\text{NO}_3^-$ , e possivelmente compostos orgânicos ou contaminantes que apresentam estrutura química referente à deformações  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$  e estiramentos C-C provenientes de alcanos de cadeia normal. Os resultados foram comparados com dados obtidos na literatura e com os padrões de referência utilizados.

Foi possível realizar a quantificação do íon  $\text{NO}_3^-$  nas amostras residuais coletadas, por espectroscopia Raman, através do método adição-padrão. Os valores de concentração obtidos encontraram-se abaixo de 10 mg/L, limite das legislações, portanto é possível a utilização deste método para quantificação de  $\text{NO}_3^-$ .

A SABESP não analisa  $\text{NO}_3^-$  nas amostras da ETE, já que a Resolução CONAMA nº. 430/2011 não dispõe desse parâmetro. O monitoramento realizado é a montante e a jusante do ponto de descarte no Rio Preto. Portanto não é possível realizar a comparação dos valores. Porém, amostras da mesma ETE foram analisadas em espectrofotômetro UV-Visível e os valores encontram-se próximos.

Portanto, novos trabalhos baseados em espectroscopia Raman são necessários para descobrir que tipo de técnica de espectroscopia Raman é o método mais adequado para a detecção de múltiplos poluentes de forma simultânea em um ambiente aquático. Adicionalmente, é necessário progresso na área de instrumentação que envolve fontes de luz de excitação mais adequadas, maior estabilidade e precisão dos detectores, sistemas de processamento de dados mais precisos e rápidos, e espectrômetros com maior portabilidade.

Estudos com a utilização de nano partículas de prata e de ouro são sugeridos para melhor intensidade do sinal Raman. Os resultados obtidos abrem novas perspectivas para a utilização da espectroscopia Raman em análises ambientais.

## 5 TRABALHO SUBMETIDO

14/08/2019 ScholarOne Manuscripts

 **Journal of Raman Spectroscopy**

[Home](#)

[Author](#)

---

**Submission Confirmation**  Print

---

**Thank you for your submission**

---

**Submitted to**  
Journal of Raman Spectroscopy

**Manuscript ID**  
JRS-19-0289

**Title**  
Raman Spectroscopy applied to the monitoring of organic and inorganic compounds in Wastewater Treatment Plants

**Authors**  
Diniz, Aline  
Silveira, Jr., Landulfo  
Guimarães, Luciana

**Date Submitted**  
14-Aug-2019

## REFERÊNCIAS

APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater**. 22nd ed. Washington, D. C.: American Public Health Association, 2012.

BROUWER, P. **Theory of XRF – Getting acquainted with the principles**. PANalytical B.V., The Netherlands, 2010.

CAMARGO, J.A.; ALONSO, A.; SALAMANCA, A. **Nitrate toxicity to aquatic animals: A review with new data for freshwater invertebrates**. *Chemosphere* (2005) 58 (9): 1255–1267.

CETESB (São Paulo). **Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo 2017**. São Paulo, 2018. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2018/06/Relatório-de-Qualidade-das-Águas-Interiores-no-Estado-de-São-Paulo-2017.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2019.

CHERNICHARO, C.A.L.; NOUR, E.A.A.; JÚNIOR, I.V; GONÇALVES, R.F. **Processos de tratamento de esgotos: guia do profissional em treinamento: nível 1**. Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental (org.). – Brasília: Ministério das Cidades, 2008. 72 p. Disponível em: <http://nucase.desa.ufmg.br/wp-content/uploads/2013/07/ES-PTE.1.pdf>. Acesso em: 25 dez. 2018.

**CONAMA - Conselho Nacional do Meio-Ambiente**. Resolução nº. 357 de 17 de Março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Publicação Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, n.87, p.44, 2005.

**CONAMA - Conselho Nacional do Meio-Ambiente**. Resolução nº. 420 de 28 de Dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Publicação Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, n.249, p.81-84, 2009.

**CONAMA - Conselho Nacional do Meio-Ambiente**. Resolução nº. 430 de 13 de Maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Publicação Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, n.92, p.89, 2011.

GAJARAJ, S.; FAN, C.; LIN, M.; HU, Z. **Quantitative detection of nitrate in water and wastewater by surface-enhanced Raman spectroscopy**. *Environmental Monitoring Assessment* (2013) 185:5673-5681.

GOOGLE MAPS. Disponível em: <https://www.google.com.br/maps>. Acesso em 21 dez. 2018.

GOWEN, A.A.; TSENKOVA, R.; BRUEN, M.; O'DONNELL, C. **Vibrational spectroscopy for analysis of water for human use and in aquatic ecosystems.** Critical Reviews In Environmental Science And Technology (2012) Tec. 42 (23):2546–2573(28).

GREER, F.R.; SHANNON, M. **Infant methemoglobinemia: the role of dietary nitrate in food and water.** The Journal of Pediatrics (2005) 116 (3): 784–786.

HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa.** 7<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

HASAN, J.; GOLDBLOOM-HELZNER, D.; ICHIDA, A.; ROUSE, T.; GIBSON, M. **Technologies and techniques for early warning systems to monitor and evaluate drinking water quality: A state-of-the-art review.** United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2005.

HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, S.R.; PASQUINI, C. **Princípios de análise instrumental.** 6<sup>a</sup>.ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS. Universidade de São Paulo. Central de Análises Químicas Instrumentais – CAQI. **Tabela de Custo das Análises.** Disponível em: <http://caqi.iqsc.usp.br/caqi/tabela-de-custo-de-analises/>. Acesso em: 16 dez. 2018.

JENSEN, F.B. **Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals.** Comparative Biochemistry and Physiology (2003) 135 (1): 9–24.

KINOSHITA, H.; MIYOSHI, N.; MIYOSHI, K.; OGAWA, T.; OGASAWARA, T.; KITAGAWA, Y.; ITOH, H.; SANO, K. **Phosphate and amide III mapping in sialoliths with Raman microspectroscopy.** Journal of Raman Spectroscopy. 2008; 39: 349–353.

KUMAR, S.; DEEN, M.J. **Fiber optic communications—Fundamentals and applications.** John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK, 2014.

LEWIS, I.R.; EDWARDS, H. **Handbook of Raman spectroscopy: From the research laboratory to the process line.** Marcel Dekker, Basel, Switzerland, 2001.

LI, G.; CHEN, M.; WEI, T. **Application of Raman Spectroscopy to Detecting Organic Contaminant in Water.** IITA International Conference on Control, Automation and Systems Engineering (2009), P. 493 – 495.

LI, Z.; WANG, J.; LI, D. **Applications of Raman spectroscopy in detection of water quality.** Applied Spectroscopy Reviews (2016). 51:4, 313-337.

LI, Z.Y.; DEEN, M.J.; KUMAR, S.; SELVAGANAPATHY, P.R. **Raman spectroscopy for in-line water quality monitoring—instrumentation and potential.** Remote Sensing Basel, Switzerland (2014) 14 (9):17275–17303.

LIN-VIEN, D.; COLTHUP, N.B.; FATELEY, W.G.; GRASSELLI, J.G. **The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules.** Academic Press Ltd., London, UK, 1991.

LUO, B.S.; LIN, M. **A portable Raman system for the identification of food borne pathogenic bacteria.** Journal of Rapid Methods and Automation In Microbiology. (2008) 16 (3): 238–255.

MANAHAN, S.E. **Química Ambiental.** Ed. Bookman, 9ª edição, 2013.

MANCUSO, P.C.S.; SANTOS, H.F. **Reúso de Água.** 1ª ed. São Paulo: Editora Manole LTDA, 2003. 579p.

PINHEIRO, A.; KAUFMANN, V.; SCHNEIDERS, D.; OLIVEIRA, D.A.; ALBANO, R.M.R. **Concentrações e cargas de nitrato e fosfato na Bacia do Ribeirão Concórdia, Lontras, SC.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental (2013). v.17, n.1, p.86-93.

POTGIETER-VERMAAK, S.S.; POTGIETER, J.H.; VAN GRIEKEN, R. **The application of Raman spectrometry to investigate and characterize cement, Part I: A review.** Cement and Concrete Research (2006) 36 (4):656–662.

ROBERT, B. **Resonance Raman spectroscopy.** Photosynthesis Research. 101: 147–155, 2009.

SEDLAK, R. **Phosphorus and Nitrogen Removal from Municipal Wastewater: Principles and Practice.** 2nd Edition, Lewis Publisher, New York, XIII, 224p, 1991.

SHI, Y.; FENG, X.; SUN P. **Rapid Identification of Organic Contaminants in Waste Water by Near Infrared Spectroscopy.** Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, vol. 22, May, 2005, P. 575-577.

SPERLING, M.V. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/Universidade Federal de Minas Gerais. 243 p. 2005.

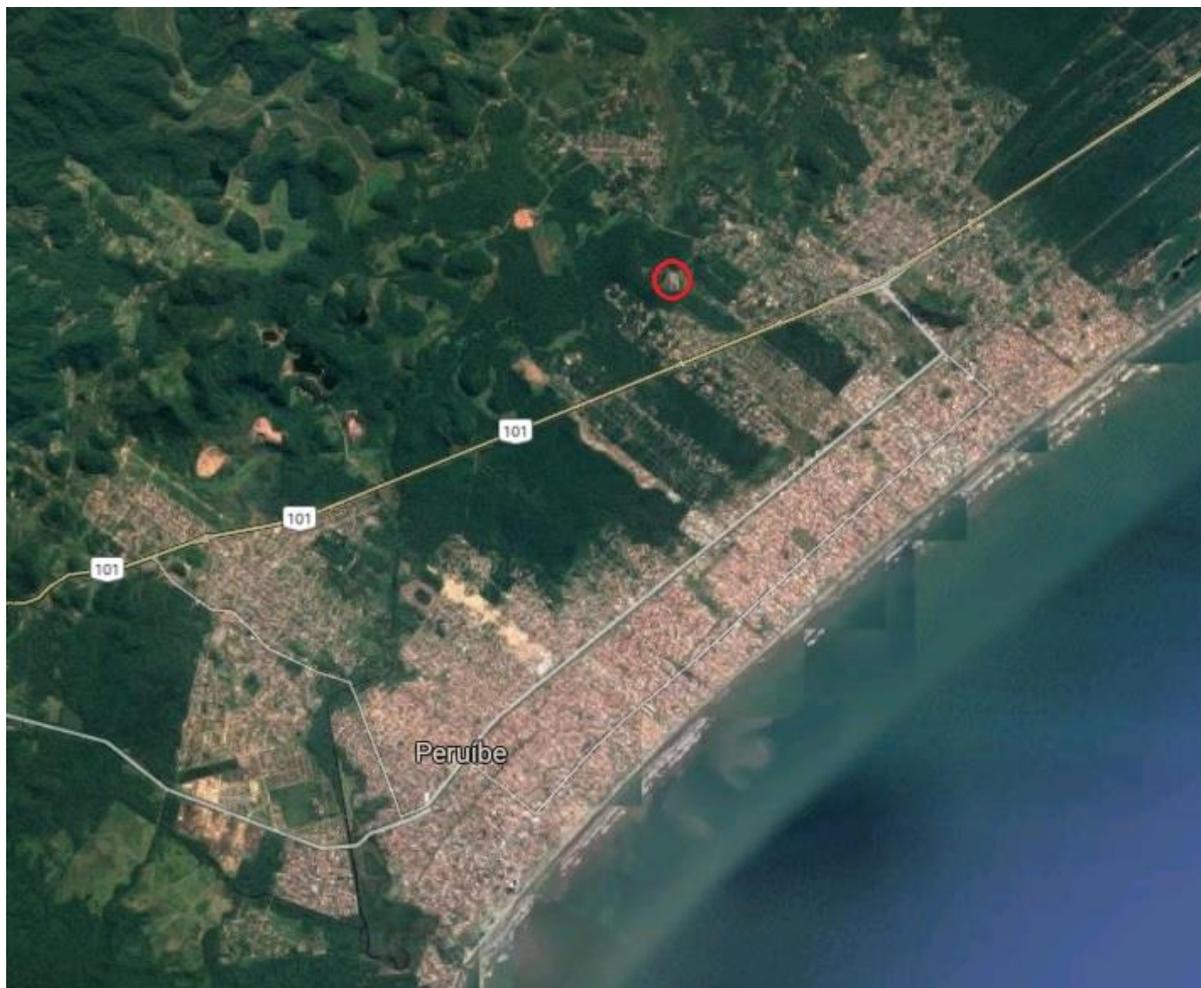
STEWART, S.; MAIER, J. S.; PATRICK, J. T. **Water Quality Monitoring by Raman Spectral Analysis.** U.S. Patent 6,950,184 B2, 2005.

TALARI, A.C.S.; MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S.; REHMAN, I. **Raman spectroscopy of biological tissues.** Journal of Applied Spectroscopy. Rev 50 (1), 46–111, 2015.

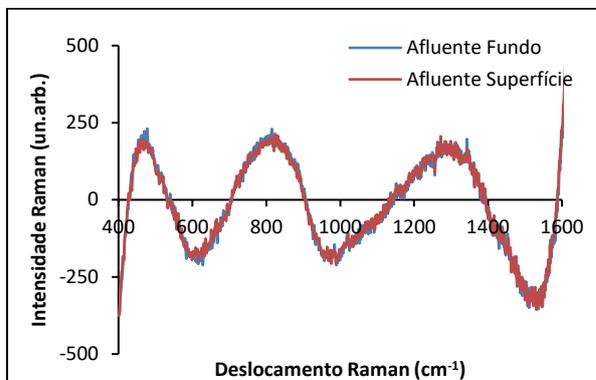
YANG, C.H.; SHI, X.H.; YUAN, J.H. **Study on the Application of Raman Spectroscopy on Detecting Water Hardness.** Water Environment Research, 86, 417 (2014).

YANG, C.; ZENG, X.; LIAO, J. **Study on Raman spectrum in comparing impurity concentration in water.** Environmental Monitoring in China, vol. 24, Feb. 2008, pp. 21-23.

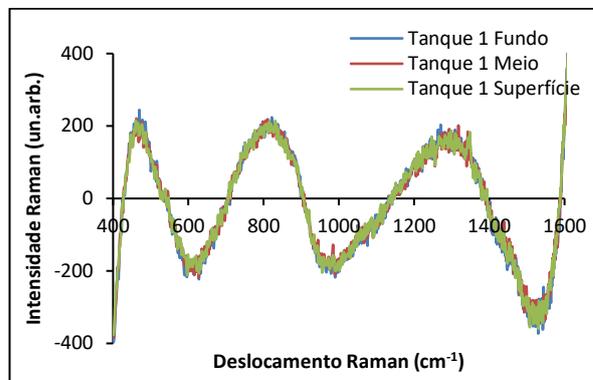
**ANEXO A – Localização geográfica da ETE Cidade das Flores, na cidade de Peruíbe.**



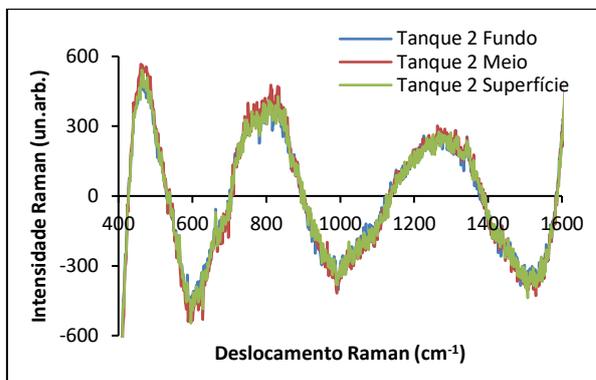
**ANEXO B – Espectros Raman das amostras analisadas referente à 1ª coleta, sendo: (a) Afluente, (b) Tanque de aeração 1, (c) Tanque de aeração 2 e (d) Efluente.**



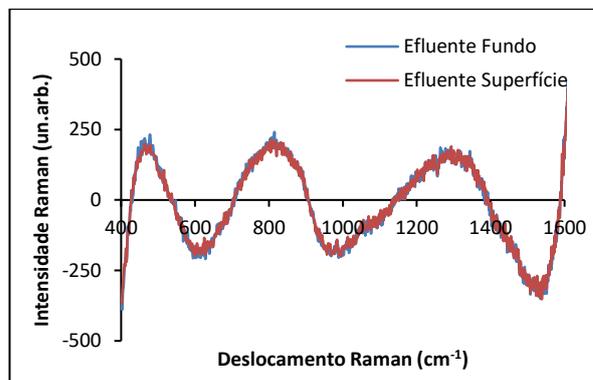
**(a)**



**(b)**

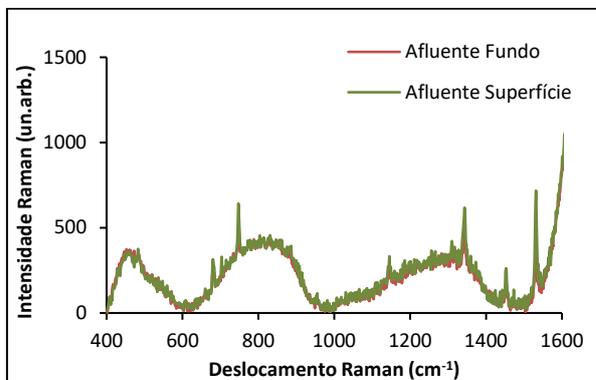


**(c)**

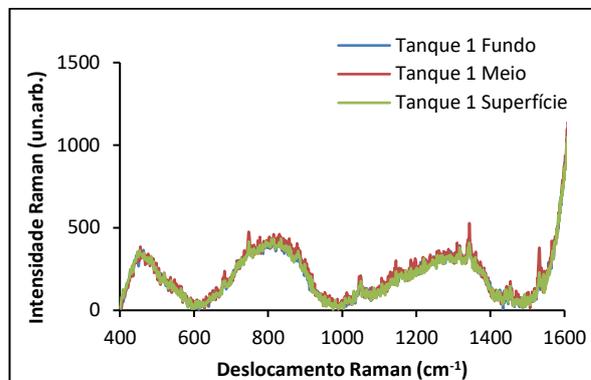


**(d)**

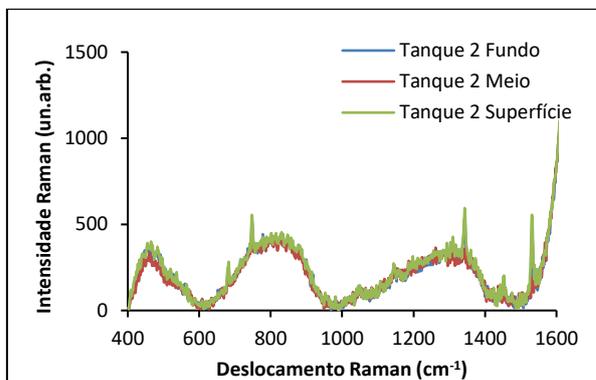
**ANEXO C – Espectros Raman das amostras analisadas referente à 2ª coleta, sendo: (a) Afluente, (b) Tanque de aeração 1, (c) Tanque de aeração 2 e (d) Efluente.**



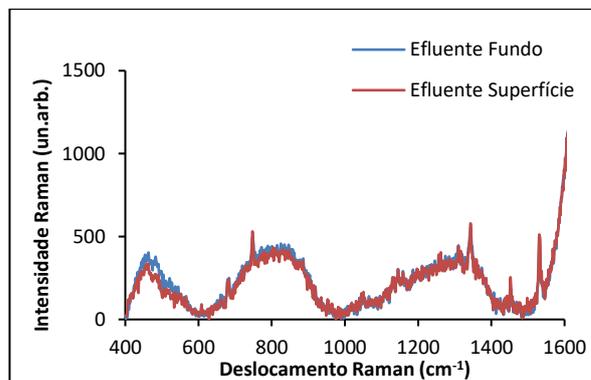
**(a)**



**(b)**

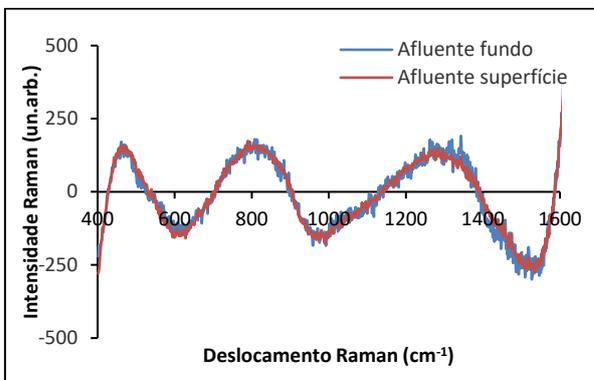


**(c)**

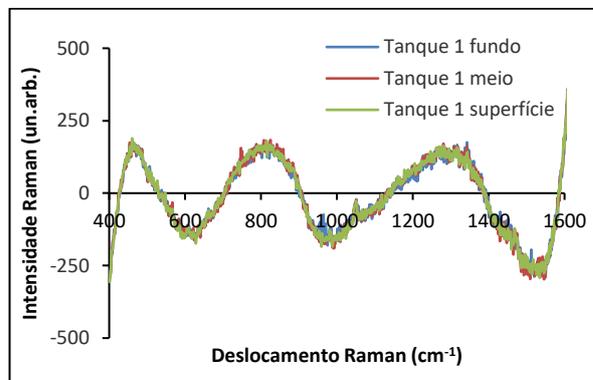


**(d)**

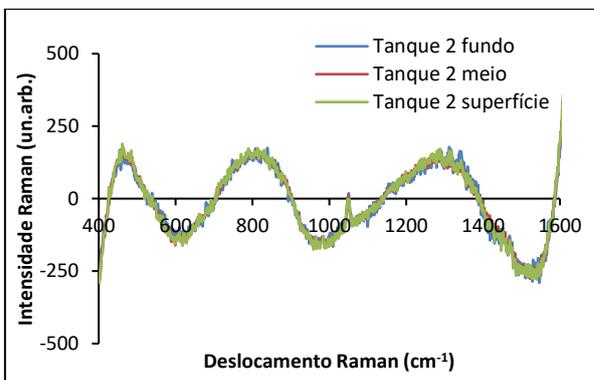
**ANEXO D – Espectros Raman das amostras analisadas referente à 3ª coleta, sendo: (a) Afluente, (b) Tanque de aeração 1, (c) Tanque de aeração 2 e (d) Efluente.**



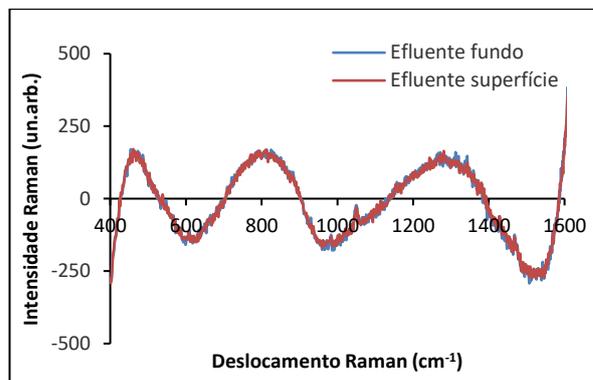
**(a)**



**(b)**



**(c)**



**(d)**