



Artigo Original

DOI: 10.66983/recet.v7i1.5720

Miniaturização do método do azul de molibdênio para determinação espectrofotométrica de fosfato em água

✉ Eça, Gilmara F.^{*,a,1},  dos Santos, Adriane C.^{†,a,2},  dos Santos, Ana C. P.^{†,a,2},  Matos, Arthur R. de O.^{†,a,2},  Andrade, Cairo de S. de A.^{†,a,2},  Estrela, Claudia da S.^{†,a,2},  dos Santos, Daiana C.^{†,a,2},  de Carvalho, Daniela P.^{†,a,2},  Passos, Debora D. da S.^{†,a,2},  Silva, Enzo S.^{†,a,2},  Brandão, Graziela da S.^{†,a,2},  Diniz, Ismael de O.^{†,a,2},  Santos, Jarilson dos S.^{†,a,2},  Conceição, Lais de J.^{†,a,2},  da Silva, Leila B.^{†,a,2},  Neves, Luciane de O.^{†,a,2},  Ribeiro, Mariana P.^{†,a,2},  Guedes, Maryanna O. R.^{†,a,2},  dos Santos, Rafael da S. A.^{†,a,2},  de Figueiredo, Raiana J. S.^{†,a,2},  Silva, Ronei P. de A.^{†,a,2},  dos Santos, Tiago F.^{†,a,2} e  dos Santos, William C. de C.^{†,a,2}

^aUniversidade Federal do Recôncavo da Bahia

Submitted: 16 out. 2025 Approved 03 set. 2026 Published 12 set. 2026

Resumo

O monitoramento de fosfato em matrizes hídricas é essencial para avaliar a qualidade ambiental e os riscos de eutrofização. Este trabalho objetivou adaptar e validar um método espectrofotométrico miniaturizado baseado na reação do azul de molibdênio para quantificação de fosfato em águas, comparando o desempenho analítico entre o volume convencional (100 µL) e reduzido (50 µL) de soluções reagentes. As leituras foram realizadas a 880 nm em curvas analíticas de sete pontos e em treze amostras de água (rio, poço, torneira e mineral). Os limites de detecção e quantificação obtidos foram de 0,026 mg L⁻¹ e 0,086 mg L⁻¹, respectivamente, para o procedimento de 100 µL, e de 0,028 mg L⁻¹ e 0,080 mg L⁻¹ para 50 µL. O procedimento miniaturizado apresentou maior sensibilidade ($\alpha = 0,1984 \text{ L mg}^{-1}$) em relação ao convencional ($\alpha = 0,1754 \text{ L mg}^{-1}$), com diferença estatisticamente significativa pelo teste *t* ($p < 0,0001$). As concentrações de fosfato nas amostras variaram de 0,011 a 0,33 mg L⁻¹, sem diferença significativa entre os dois procedimentos ($p > 0,05$), demonstrando a robustez do método mesmo diante de variações de pH (4,71 a 7,80) e condutividade (46,5 a 651 µS cm⁻¹). A miniaturização permitiu redução de 50% na geração de resíduos analíticos (de 10,6 mL para 5,3 mL no lote avaliado), atendendo aos princípios da Química Verde. Conclui-se que o método miniaturizado é eficiente, exato e ecologicamente sustentável para análises de rotina de amostras com baixas concentrações de fosfato ($< 0,4 \text{ mg L}^{-1}$).

Palavras-chave: Fósforo inorgânico dissolvido. Ambiente aquático. Espectrofotometria.

Abstract

Phosphate monitoring in water matrices is essential for assessing environmental quality and eutrophication risks. This study aimed to adapt and validate a miniaturized spectrophotometric method based on the molybdenum blue reaction for phosphate quantification in water, comparing the analytical performance between conventional (100 µL) and reduced (50 µL) volumes of reagent solutions. Spectrophotometric measurements were performed at 880 nm using seven-point analytical curves and thirteen water samples (river, well, tap, and mineral water). The limits of detection and quantification obtained were 0,026 mg L⁻¹ and 0,086 mg L⁻¹, respectively, for the 100 µL procedure, and 0,028 mg L⁻¹ and 0,080 mg L⁻¹ for the 50 µL procedure. The miniaturized procedure exhibited higher calibration sensitivity ($\alpha = 0,1984 \text{ L mg}^{-1}$) compared to the conventional one ($\alpha = 0,1754 \text{ L mg}^{-1}$), with a statistically significant difference confirmed by Student's *t*-test ($p < 0.0001$). Phosphate concentrations in the samples ranged from 0.011 to 0.33 mg L⁻¹, showing no significant difference between the two procedures ($p > 0.05$), demonstrating the method's robustness despite variations in pH (4.71 to 7.80) and electrical conductivity (46.5 to 651 µS cm⁻¹). Miniaturization achieved a 50% reduction in analytical waste generation (from 10.6 mL to 5.3 mL for the evaluated batch), in direct compliance with Green Chemistry principles. Therefore, the miniaturized method is efficient, accurate, and environmentally sustainable for routine analysis of samples containing low phosphate concentrations ($< 0,4 \text{ mg L}^{-1}$).

Keywords: Dissolved inorganic phosphorus. Aquatic environment. Spectrophotometry

Sumário

1 INTRODUÇÃO

2 MATERIAIS E MÉTODOS	52
2.1 Preparo de Material de Campo e Laboratório . . .	52
2.2 Determinações Física e Químicas	52
2.3 Tratamento de Dados	53
2.4 Declaração de Uso de IA	54
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	54
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
Referências	55

1. INTRODUÇÃO

O fosfato é considerado um nutriente essencial e limitante para a produtividade primária em ecossistemas aquáticos. Contudo, o aporte excessivo de fosfato resultante de atividades antrópicas pode causar eutrofização, resultando na proliferação excessiva de microalgas, processo que degrada a qualidade da água e ameaça a biodiversidade (Esteves, 2011). Em contrapartida, em corpos hídricos não poluídos, o fosfato frequentemente encontra-se em concentrações traço, exigindo métodos analíticos de elevada sensibilidade, exatidão e reprodutibilidade para o seu monitoramento contínuo (Nagul; McKelvie; Worsfold; Kolev, 2015).

A determinação espectrofotométrica baseada na reação do ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) e molibdato de amônio - proposta originalmente por Murphy and Riley (1962) - permanece como a metodologia de referência para a quantificação de ortofosfato em amostras de águas naturais (Grasshoff; Kremling; Ehhhardt, 1999; American Public Health Association, 2023). O método fundamenta-se na formação do ácido fosfomolibdico e sua subsequente redução ao complexo azul de molibdênio, cuja absorbância é mensurada a 880 nm. Apesar de sua consolidada eficiência, o protocolo convencional consome volumes expressivos de reagentes contendo ácidos fortes e metais pesados (molibdênio e antimônio), gerando efluentes de alta toxicidade que demandam tratamento complexo e oneroso (Lenardão; Freitag; Dabdoub; Batista, 2003).

Nesse contexto, a Química Verde tem incentivado a adaptação de métodos clássicos por meio da miniaturização e microanálise, priorizando a prevenção da geração de resíduos na fonte (Gałuszka; Migaszwski; Namieśnik, 2013; Pena-Pereira; Wojnowski; Tobiszewski, 2020). A utilização de menor quantidade de reagentes nas análises laboratoriais pode garantir a mesma qualidade nos resultados, reduzindo os custos e o impacto ambiental.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo adaptar e validar o método do azul de molibdênio (Murphy; Riley, 1962) em escala miniaturizada, avaliando o efeito da redução de 50% no volume de soluções reagentes sobre os parâmetros analíticos de sensibilidade, limites de detecção e exatidão na quantificação de fosfato em diferentes matrizes hídricas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Preparo de Material de Campo e Laboratório

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Química Ambiental, pertencente ao Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas (CETEC), da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

As vidrarias e materiais utilizados na coleta das amostras e nas determinações químicas foram descontaminados com água

da torneira, detergente comercial, solução de ácido clorídrico 20%(v/v), enxaguados com água da torneira e água deionizada ($pH = 5,53$; condutividade elétrica $= 3,93 \mu S cm^{-1}$) três vezes. As vidrarias foram secas em temperatura ambiente e dentro de bandejas plásticas forradas com papel toalha.

Um total de 13 amostras de água foi coletado em garrafas plásticas de 500 mL no município de Cruz das Almas-BA e identificadas como mostrado abaixo.

- Lago Laranjeiras, localizado no bairro Assembleia: L ;
- Poços artesianos, sendo dois localizados na cidade (P_1 e P_2) e os outros dentro da UFRB (P_3 e P_4);
- Torneira (T_2 e T_4) e bebedouros (T_1 , T_3 e T_5) da UFRB, sendo a água fornecida pela Concessionária EMBASA (Empresa Baiana de Águas e Saneamento S.A.);
- Água mineral sem gás - nomeadas como M_1 , M_2 e M_3 , comprada em lojas comerciais da cidade de Cruz das Almas.

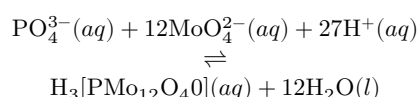
As amostras foram levadas para o laboratório e submetidas às determinações de pH , condutividade e fosfato.

2.2. Determinações Física e Químicas

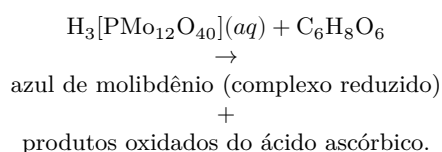
As determinações de pH das amostras foram feitas com equipamentos de bancada: pHmetro (marca/modelo: TECNOPON / mPA-210) calibrado com padrões de $pH 4,0$ e $7,0$; condutivímetro (marca/modelo: TECNOPON / mCA-250) calibrado com solução para condutividade, de $146,9 \mu S cm^{-1}$.

A determinação química de fosfato foi realizada com base no método clássico proposto por Murphy and Riley (1962), o qual envolve a formação de um complexo azul de molibdênio, onde a reação ocorre em duas etapas, envolvendo uma mistura do molibdato de amônio ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$), tartarato de antimônio e potássio ($K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 21H_2O$) e ácido ascórbico (vitamina C).

Na primeira etapa do processo, o íon ortofosfato reage com o molibdato de amônio para formar o ácido fosfomolibdico ($H_3[PMo_{12}O_{40}]$), uma substância incolor ou levemente amarelada, conforme mostrada na reação a seguir:



Na segunda etapa, o ácido fosfomolibdico é reduzido pelo ácido ascórbico a um complexo de coloração azul, conhecido como azul de molibdênio. A reação é então catalisada pelo tartarato de antimônio e potássio, o qual acelera a reação para a formação da cor azul, aumentando deste modo, a sensibilidade do método, como mostra a reação simplificada da redução com o ácido ascórbico $C_6H_8O_6$ abaixo:



A solução contendo o complexo azul é lida em comprimento de onda máxima em torno de $880nm$ em espectrofotômetro, para a detecção do fosfato.

O preparo das soluções para a determinação química in-

cluiu uma mistura de três reagentes (chamada reagente misto), preparada da seguinte maneira: primeiro 1,25 g de heptamolibdato tetra hidratado de amônio $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ foram dissolvidos em 12,5 mL de água deionizada num recipiente. Em paralelo, 0,05 g de tartarato de antimônio e potássio $(\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)$ em 2,0 mL foram dissolvidos de água deionizada em outro recipiente. As duas soluções foram então misturadas a 35,0 mL de solução de ácido sulfúrico $4,5 \text{ mol L}^{-1}$. O ácido sulfúrico atua acidificando o meio reacional, favorecendo a formação do complexo, garantindo a seletividade da reação e evitando a redução do molibdato na ausência do fosfato. Já a solução de ácido ascórbico foi preparada separadamente, na concentração de 10% (m/v), dissolvendo-se 10,0 g do reagente em 100 mL de solução de ácido sulfúrico $2,25 \text{ mol L}^{-1}$.

O método de [Murphy and Riley \(1962\)](#) propõe que, para cada 50,0 mL de amostra de água devem ser utilizados 1,0 mL de cada uma das soluções de ácido ascórbico (10%, m/v) e de reagente misto. No entanto, considerando o tamanho da cubeta (plástica) utilizada, de 1,0 cm de caminho ótico, com volume interno de 3,5 mL e, o volume para ambientar a cubeta (em torno de 1,0 mL), foi feita a determinação química usando 5,0 mL de amostra, ou seja, uma redução de 10 vezes o volume de amostra, sendo a adição das soluções reagentes em volumes proporcionais para 5,0 mL de amostra, ou seja, 0,10 mL (100 μL) de solução de ácido ascórbico e 0,10 mL (100 μL) do reagente misto.

Neste trabalho foram testados dois procedimentos para o método adotado: procedimento 1 - uso de 100 μL das soluções reagentes; e procedimento 2 - (50 μL), para cada 5,0 mL de amostra e soluções padrão das curvas analíticas. Micropipetas de volume variável foram utilizadas para pipetar as amostras e as soluções reagentes.

Uma solução de trabalho de 10 mg L^{-1} contendo fosfato foi preparada em um balão volumétrico, por diluição da solução estoque de Dihidrogenofosfato de potássio de $1361,0 \text{ mg L}^{-1}$. A solução de trabalho foi utilizada no preparo de uma curva analítica ou de calibração, feita em balões volumétricos de 25 mL, por diluição com água deionizada, para compor a seguinte faixa de concentração: 0; 0,05; 0,07; 0,24; 0,28; 0,32 e $0,40 \text{ mg L}^{-1}$. Após o preparo da curva analítica, o volume de 5,0 mL referente a cada concentração da solução padrão foi retirado para tubos de ensaio, estando as mesmas concentrações em dois blocos, para compor as curvas 1 e 2. Nos tubos de ensaio contendo a solução padrão da curva 1 foram acrescentados 100 μL de cada solução reagente (ácido ascórbico e reagente misto), enquanto naquele contendo a solução padrão da curva 2 foram adicionados 50 μL das soluções reagentes.

2.3. Tratamento de Dados

A concentração de fosfato das amostras foi calculada com base na equação da reta, obtida com as curvas de calibração. Tanto as curvas analíticas quanto as amostras foram lidas a 880 nm em espectrofotômetro de UV-VIS (marca: BEL, modelo SF325NM). O equipamento foi calibrado usando uma cubeta de cor preta para zerar a transmitância e outra transparente (composição: metacrilato), contendo a amostra em branco (água deionizada e os reagentes) para zerar a absorbância. A leitura de absorbância foi realizada em cubeta descartável de metacrilato com caminho óptico de 1,0 cm. Esse tipo de cubeta no espectro do infravermelho próximo atende às especificações ópticas de transparência sem interferência na medição ([American Public Health Association, 2023](#); [Skoog; Holler; Crouch, 2018](#)).

O método baseou-se na Lei de Lambert-Beer, na qual a

absorbância (A) é diretamente proporcional à concentração do analito (c). Os valores de absorbância das soluções-padrão foram corrigidos com o desconto do branco dos reagentes, ajustando a curva analítica ao modelo linear que passa pela origem ($y = ax$). A concentração do analito nas amostras foi quantificada a partir da equação da reta obtida.

As determinações para cada analito foram realizadas em triplicata, para o cálculo da precisão analítica. Amostras em branco também foram adicionadas à batelada de medidas químicas. Ao final das determinações, os resíduos aquosos foram descartados em galão para resíduos inorgânicos.

Os dados obtidos foram tratados em planilhas do Excel, para cálculos de média, desvio-padrão e desvio-padrão relativo ou coeficiente de variação. Para a avaliação dos parâmetros analíticos, construiu-se a curva de calibração relacionando a absorbância à concentração de fosfato. A partir da análise de regressão linear (nível de confiança de 95%), determinaram-se os resíduos da regressão e o cálculo do limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método, para os dois procedimentos.

O LD representa a concentração mínima que pode ser detectada, mas, não necessariamente quantificada sob as condições experimentais testadas. A análise de regressão permitiu calcular o Erro padrão do Intercepto (EpI) da curva e o Desvio padrão do Intercepto ($DpI = EpI \cdot \sqrt{n}$, onde n é número de pontos da curva). O LD foi calculado da seguinte maneira:

$$LD = \frac{3,3 \cdot DpI}{\alpha},$$

onde α é o coeficiente angular (sensibilidade) da curva analítica.

De forma complementar, calculou-se o limite de quantificação (LQ), definido como a menor concentração do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais avaliadas ([American Public Health Association, 2023](#)), pela seguinte expressão:

$$LQ = \frac{10 \cdot DpI}{\alpha}$$

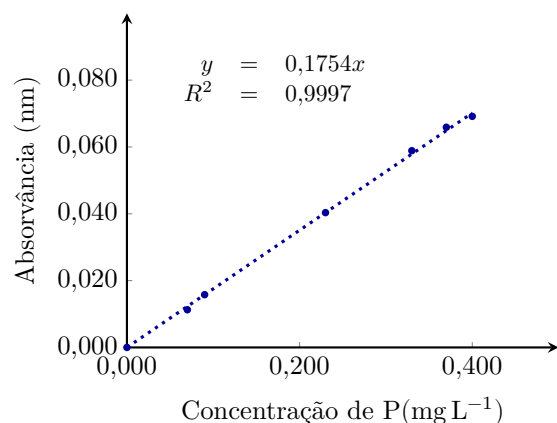
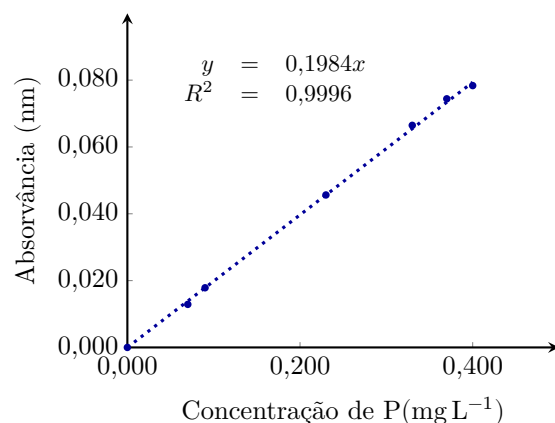
onde DpI e α correspondem, respectivamente, ao desvio padrão do intercepto e ao coeficiente angular da curva analítica, conforme descrito para o cálculo do LD .

Amostras com concentrações situadas entre o LD e o LQ foram consideradas detectáveis, porém não quantificáveis com plena confiabilidade estatística.

A comparação entre a sensibilidade analítica das duas curvas de calibração foi realizada por meio do teste t de Student para comparação de coeficientes angulares (inclinações) de retas de regressão independentes.

A concordância entre os teores de fosfato obtidos nas amostras reais ($n = 13$) através dos dois procedimentos (100 μL e 50 μL) foi avaliada via teste t pareado, com nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$).

Para avaliar a associação entre os parâmetros físico-químicos intrínsecos das amostras (pH e condutividade elétrica) e a concentração de fosfato determinada, aplicou-se o teste de Correlação Paramétrica de Pearson (r). O nível de significância adotado para todas as análises estatísticas foi de 5% ($p < 0,05$). Os cálculos foram realizados utilizando o Software Origin 6.0.

Figura 1. Curvas de calibração lidas a 880 nm, por espectrofotometria.**(a)** adição de 100 µL da solução reagente, para o mesmo volume de solução padrão.**(b)** adição de 50 µL da solução reagente, para o mesmo volume de solução padrão.

Fonte: elaborada pelos autores (2026).

2.4. Declaração de Uso de IA

Ferramentas de inteligência artificial generativa GEMINI e CLAUDE foram utilizadas para auxílio na revisão gramatical, reestruturação do texto e tradução para inglês. Todo o conteúdo conceitual, interpretação de dados, discussão científica e redação final foram revisados e validados integralmente pelos autores.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados dos procedimentos utilizando dois volumes diferentes de soluções reagentes nas curvas analíticas, obtidos por espectrofotometria no comprimento de onda de 880 nm estão ilustrados na Figura 1. As curvas de calibração foram usadas nos cálculos das concentrações de fosfato das amostras de água. A aplicação dos procedimentos nas amostras de água pode ser visualizada na Tabela 1. Os limites de detecção e de quantificação calculados com base nas curvas analíticas de fosfato foram: $LD = 0,026 \text{ mg L}^{-1}$ e $LQ = 0,086 \text{ mg L}^{-1}$ para a curva 1; e $LD = 0,028 \text{ mg L}^{-1}$ e $LQ = 0,080 \text{ mg L}^{-1}$ para a curva 2.

As curvas analíticas do fosfato (Figura 1) apresentaram boa linearidade e sensibilidade de calibração (Skoog; West; Holler; Crouch, 2013). A curva 2 (Figura 1b) feita com metade da concentração dos reagentes mostrou uma maior sensibilidade ($\alpha = 0,1984 \text{ L mg}^{-1}$) em relação à curva 1 ($\alpha = 0,1754 \text{ L mg}^{-1}$) (Figura 1a), na qual se utilizou a concentração convencional dos reagentes. O teste t comprovou diferença significativa entre os valores das sensibilidades das retas, indicando que o procedimento com uso de 50 µL de soluções reagentes é estatisticamente mais sensível que o de 100 µL ($t_{\text{cal}} = 13,29 > t_{\text{crítico}} = 2,228$; $p < 0,0001$).

A adição do dobro do volume de reagentes na curva 1 pode ter causado uma pequena diminuição na inclinação. Esse efeito pode ocorrer devido a diluição da amostra ao aumentar o volume total da reação ou por pequena alteração na estequiometria do complexo formado na medição espectrofotométrica. O ganho de sensibilidade com o procedimento miniaturizado pode ser atribuído à menor diluição do volume reacional final e à redução da absorvância do branco dos reagentes, o que otimiza a formação estequiométrica do complexo azul de molibdênio, aumentando a razão sinal-ruído na leitura espectrofotométrica (Skoog; West; Holler; Crouch, 2013).

O fosfato das amostras variou de $0,011$ a $0,32 \text{ mg L}^{-1}$ com

a utilização de 100 µL das soluções reagentes, e de $0,015$ a $0,33 \text{ mg L}^{-1}$ para o uso de 50 µL (Tabela 1). Os teores de fosfato obtidos nas águas de poço, torneiras e bebedouros estão dentro da faixa de valores relatados por Conceição, Mazzini, Moruzzi, and Navarro (2014), Lauthartte, Holanda, Luz, Mussu, Pansini, Manzatto, and Bastos (2016) e Mendes, Silva, Carvalho, Junior, and Diniz (2016), para águas de abastecimento público. No Lago Laranjeiras ($0,038 \text{ mg L}^{-1}$), o valor encontra-se próximo aos limites definidos pela Resolução CONAMA nº 357/2005 (Brasil. Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2005) para prevenção da eutrofização em ambientes lênticos de Classe 2 ($0,030 \text{ mg L}^{-1}$). Já as amostras de água mineral exibiram concentrações de fosfato dentro dos limites tabelados em rótulos de várias marcas brasileiras, o que evidencia a adequação do método analítico empregado.

A análise da concentração de fosfato revelou uma correlação positiva moderada com o pH ($r = 0,461$) para o volume de 100 µL e $r = 0,461$ para 50 µL das soluções reagentes, indicando uma leve tendência de aumento na concentração do nutriente em meios mais alcalinos. Por outro lado, a relação entre o fosfato e a condutividade elétrica foi fraca ($r = 0,195$ para 100 µL e $r = 0,197$ para 50 µL), demonstrando pouca associação linear direta entre esses dois parâmetros.

As amostras apresentaram uma variação de pH (4,71 a 7,80) e condutividade elétrica ($46,5$ a $651 \mu\text{S cm}^{-1}$) esperada (Tabela 1), devido às diferentes fontes de água estudadas (rio, poço, torneira e mineral). Mesmo diante dessas variações de acidez e concentração de sais nas águas, os resultados para a quantidade de fosfato foram os mesmos tanto no procedimento de 100 µL quanto no de 50 µL. Isso prova que o método com volume reduzido é bastante robusto, ou seja, funciona com precisão e sem sofrer interferências das características naturais das águas.

Considerando os valores de LD e LQ calculados para cada procedimento, notou-se que cinco amostras (L , P_1 , P_2 , T_3 e T_4) exibiram concentrações de fosfato inferiores ao LD no procedimento de 100 µL, enquanto quatro delas (P_1 , P_2 , T_3 e T_4) permaneceram abaixo do LD também no procedimento de 50 µL. Nesse último, a amostra L ($0,038 \text{ mg L}^{-1}$) passou a situar-se na faixa entre o LD e o LQ , evidenciando maior capacidade do procedimento miniaturizado de discriminar concentrações extremamente baixas de fosfato. Outras três amostras (T_1 , M_1 e M_2) posicionaram-se entre o LD e o LQ em pelo menos um

Table 1: Valores de pH, condutividade elétrica (CE) e concentrações médias $\pm$ desvio-padrão de fosfato (mg L^{-1}) nas amostras de água tratadas com 100 μL e 50 μL de soluções reagentes.

Ponto	Amostra de água	pH	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Fosfato (mg L^{-1})	
				100 μL	50 μL
<i>L</i>	Lago Laranjeiras	7,22	410	0,020 $\pm$ 0,004	0,038 $\pm$ 0,0004
<i>P</i> ₁	Poço 1 (residencial)	4,71	628	0,014 $\pm$ 0,004	0,018 $\pm$ 0,004
<i>P</i> ₂	Poço 2 (residencial)	5,49	651	0,014 $\pm$ 0,004	0,025 $\pm$ 0,0003
<i>P</i> ₃	Poço 3 (NEAS-UFRB)	6,85	460	0,24 $\pm$ 0,002	0,22 $\pm$ 0,003
<i>P</i> ₄	Poço 4 (Bloco S-UFRB)	7,63	432	0,32 $\pm$ 0,004	0,33 $\pm$ 0,003
<i>T</i> ₁	Bebedouro da biblioteca	6,37	314	0,072 $\pm$ 0,003	0,063 $\pm$ 0,004
<i>T</i> ₂	Torneira do PAV 1	6,35	283	0,13 $\pm$ 0,001	0,12 $\pm$ 0,01
<i>T</i> ₃	Bebedouro do PAV 1	6,62	282	0,017 $\pm$ 0,0002	0,015 $\pm$ 0,0002
<i>T</i> ₄	Torneira do PAV 2	7,30	273	0,011 $\pm$ 0,0001	0,015 $\pm$ 0,0002
<i>T</i> ₅	Bebedouro do PAV 2	7,80	280	0,15 $\pm$ 0,004	0,12 $\pm$ 0,007
<i>M</i> ₁	Mineral 1	5,01	477	0,086 $\pm$ 0,001	0,081 $\pm$ 0,0008
<i>M</i> ₂	Mineral 2	6,30	116	0,071 $\pm$ 0,004	0,066 $\pm$ 0,0007
<i>M</i> ₃	Mineral 3	5,96	46,5	0,089 $\pm$ 0,003	0,082 $\pm$ 0,003

Fonte: Elaborado pelos autores.

dos procedimentos, sendo, portanto, detectáveis, mas não quantificáveis com plena confiabilidade estatística. Ao todo, mais da metade das amostras (7 de 13) apresentou concentrações de fosfato abaixo do *LQ* em pelo menos um dos procedimentos avaliados, refletindo a natureza oligotrófica das águas avaliadas e reforçando a necessidade de métodos analíticos sensíveis, como o aqui validado, para o monitoramento rotineiro de matrizes com baixíssimos teores de fósforo. Ressalta-se que, nessa faixa de concentração, a incerteza relativa das medidas tende a ser maior, de modo que os valores correspondentes devem ser interpretados como indicativos da ordem de grandeza do teor de fosfato, e não como medidas quantitativas de elevada exatidão.

O teste *t* para amostras pareadas mostrou não haver diferença significativa ($t = 0,808$; $df = 12$; $p = 0,435$) entre os procedimentos testados (100 e 50 μL). Esse resultado demonstrou que o uso de uma menor quantidade de reagentes na determinação de fosfato em água contendo concentração $< 0,4 \text{ mg L}^{-1}$ é satisfatório, eficiente e vantajoso.

A redução de 50% no volume de soluções reagentes para a determinação de fosfato atende diretamente aos preceitos da Química Verde, fundamentando-se no 1º Princípio (Prevenção de Resíduos) e no 8º Princípio (Redução de Reagentes Auxiliares/Derivados) (Lenardão; Freitag; Dabdoub; Batista, 2003; Gałuszka; Migaszewski; Namieśnik, 2013). Prevenir a geração do efluente analítico na própria fonte é substancialmente mais vantajoso do que promover o seu tratamento posterior, o qual envolve custos elevados e maior complexidade operacional (Lenardão; Freitag; Dabdoub; Batista, 2003).

Como foram avaliadas 13 amostras em triplicata de 5,0 mL cada para fosfato, e mais duas curvas analíticas contendo 7 pontos de concentração, e considerando ainda que foram testadas duas soluções reagentes em dois volumes diferentes (100 e 50 μL), o volume total gasto foi de 15,9 mL, sendo 10,6 mL no procedimento de 100 μL e 5,3 mL no procedimento miniaturizado de 50 μL . Embora o volume absoluto de resíduos em escala bancada seja pequeno, a adoção dessa abordagem miniaturizada em rotinas de monitoramento ambiental - onde a demanda por amostras e réplicas é elevada - reduz substancialmente os custos de insumos e os gastos operacionais associados ao tratamento de resíduos perigosos, bem como o impacto ecológico do laboratório (Lenardão; Freitag; Dabdoub; Batista, 2003; Pena-Pereira; Wojnowski; Tobiszewski, 2020).

A adaptação de metodologias clássicas para escalas reduzidas de reagentes é uma tendência amplamente amparada pelos

preceitos da Química Analítica Verde (Gałuszka; Migaszewski; Namieśnik, 2013). No caso do método do azul de molibdênio, a redução no consumo de reagentes aumenta a pontuação da metodologia em ferramentas de avaliação de sustentabilidade, como o índice AGREE (Pena-Pereira; Wojnowski; Tobiszewski, 2020), comprovando que a eficiência metodológica pode ser harmonizada com a responsabilidade ecológica em monitoramentos ambientais de larga escala.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A redução de 50% no volume de soluções reagentes (50 μL) no método espectrofotométrico do azul de molibdênio provou ser altamente eficiente e robusta para a quantificação de fosfato em matrizes hídricas de concentrações inferiores a $0,4 \text{ mg L}^{-1}$. O procedimento miniaturizado mostrou excelente linearidade e sensibilidade analítica, sendo superior ao método convencional, não sofrendo interferências de matriz devido as variações de *pH* e condutividade elétrica. Além disso, gerar menos resíduos tóxicos segue os princípios da Química Verde, tornando esse método uma opção prática, barata e sustentável para o monitoramento contínuo das águas.

■ REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 24. ed. Washington, D.C.: APHA/AWWA/WEF, 2023. Cit. on pp. 52, 53.
- BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. 53, p. 58–63, 18 Mar. 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento. Cit. on p. 54.
- CONCEIÇÃO, F. T. D.; MAZZINI, F.; MORUZZI, R. B.; NAVARRO, G. R. B. **Influências naturais e antrópicas na qualidade da água subterrânea de poços de abastecimento público na área urbana de Marília (SP)**. Revista Brasileira de Recursos Hídricos, v. 19, n. 3, p. 227–238, 2014. DOI: 10.21168/rbrh.v19n3.p227-238. Cit. on p. 54.
- ESTEVES, Francisco de Assis. **Fundamentos de Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. Cit. on p. 52.

GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. **The 12 Principles of Green Analytical Chemistry and the SIGNIFICANCE Mnemonic of Green Analytical Practices**. TrAC Trends in Analytical Chemistry, v. 50, p. 78–84, 2013. DOI: [10.1016/j.trac.2013.04.010](https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010). Cit. on pp. 52, 55.

GRASSHOFF, Klaus; KREMLING, Klaus; EHHHARDT, Manfred. **Methods of Seawater Analysis**. Weinheim: Wiley-VCH, 1999. p. 632. Cit. on p. 52.

LAUTHARTTE, L. C.; HOLANDA, Í. B. B. de; LUZ, C. C.; MUSSY, M. H.; PANSINI, S.; MANZATTO, Â. G.; BASTOS, W. R. **Avaliação da qualidade da água subterrânea para consumo humano: estudo de caso no Distrito de Jaci-Paraná, Porto Velho–RO**. Águas Subterrâneas, v. 30, n. 2, p. 246–260, 2016. DOI: [10.14295/ras.v30i2.28547](https://doi.org/10.14295/ras.v30i2.28547). Cit. on p. 54.

LENARDÃO, E. J.; FREITAG, R. A.; DABDOUB, M. J.; BATISTA, A. C. **Química Verde: tecnologias limpas para o desenvolvimento sustentável**. Química Nova, v. 26, n. 1, p. 123–129, 2003. DOI: [10.1590/S0100-40422003000100022](https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100022). Cit. on pp. 52, 55.

MENDES, M. P.; SILVA, N. G.; CARVALHO, J. C.; JUNIOR, J. P.; DINIZ, V. B. **Avaliação da qualidade da água dos bebedouros da Universidade do Estado do Pará na cidade de Belém, Pará, Brasil**. Scientia Plena, v. 12, n. 6, p. 1–7, 2016. DOI: [10.14808/sci.plena.2016.069913](https://doi.org/10.14808/sci.plena.2016.069913). Cit. on p. 54.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. **A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters**. Analytica Chimica Acta, v. 27, p. 31–36, 1962. DOI: [10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5). Cit. on pp. 52, 53.

NAGUL, E. A.; MCKELVIE, I. D.; WORSFOLD, P. J.; KOLEV, S. D. **The Determination of Orthophosphate in Water Using the Molybdenum Blue Method – A Review**. Analytica Chimica Acta, v. 890, p. 60–82, 2015. DOI: [10.1016/j.aca.2015.07.030](https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.07.030). Cit. on p. 52.

PENA-PEREIRA, F.; WOJNOWSKI, W.; TOBISZEWSKI, M. **AGREE—Analytical GREENness Metric Approach and Software**. Analytical Chemistry, v. 92, n. 14, p. 10076–10082, 2020. DOI: [10.1021/acs.analchem.0c01887](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01887). Cit. on pp. 52, 55.

SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R. **Princípios de Análise Instrumental**. 7. ed. Porto Alegre: Bookman, 2018. Cit. on p. 53.

SKOOG, Douglas A.; WEST, Donald M.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2013. Cit. on p. 54.

