



INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE LISBOA

Área Departamental da Engenharia Química

**CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA
DE AMOSTRAS NO ÂMBITO DA DIRETIVA QUADRO
DA ÁGUA**

HANS QUETA

(Licenciado em Engenharia de Água e Ambiente)

Trabalho Final de Mestrado para obtenção do grau de Mestre
em Engenharia da Qualidade e Ambiente

Orientadores:

Doutora Maria Celeste Pereira Serra

Licenciada Ana Filipa Pereira

Júri:

Presidente: Doutor João Miguel Alves da Silva

Vogais: Doutora Maria Teresa Loureiro dos Santos

Doutora Maria Celeste Pereira Serra

Janeiro de 2019

Agradecimentos

A elaboração deste trabalho, foi possível graças a parceria estabelecida entre o ISEL e a APA, com vista à consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo do percurso académico. Agradeço à Agência Portuguesa do Ambiente, I.P., ao Setor da Química Geral, pela oportunidade na realização deste trabalho de estágio.

À Doutora Vanda Reis, Diretora do Laboratório de Referência do Ambiente da Agência Portuguesa do Ambiente;

Às minhas orientadoras:

Engenheira Ana Filipa Pereira (APA, I.P.)

Doutora Maria Celeste Serra (ISEL)

Por todo o apoio técnico e científico dado durante este percurso que me permitiu uma evolução pessoal e profissional.

Um especial agradecimento ao pessoal do Setor da Química Geral do Laboratório de Referência do Ambiente, pela ajuda e partilha das suas experiências.

Aos meus Pais, aos meus irmãos, aos meus amigos por me terem apoiado durante este percurso.

A todos muito obrigado.

Resumo

A Diretiva Quadro de Água é o principal diploma legislativo da União Europeia relativo a água cujo objetivo fundamental é conservar e melhorar o ambiente aquático dos Estados Membro. O diploma tem como objetivo preservar a qualidade de águas, proteger e melhorar ecossistemas aquáticos e terrestres sobre as necessidades de água.

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Referência do Ambiente (LRA) da Agência Portuguesa do Ambiente (APA, I.P.), setor da Química Geral com o objetivo de validar métodos fotométricos de análise em cuvetes *Hach Lange* para as determinações de CQO, fluoretos e sulfuretos em amostras de águas pelo facto destes testes permitirem obter resultados fiáveis, com manuseamento simples, rápido e seguro.

Avaliou-se a linearidade do método para CQO, fluoretos e sulfuretos com valores de coeficiente de correlação superiores a 0,995. Os limites de deteção e de quantificação foram determinados a partir das curvas de calibração cujos valores para CQO foram 3,97 e 11,90 mg/L O₂ (padrão *Hach*) e 4,37 e 13,12mg/L O₂ (padrão laboratório), respetivamente. A precisão foi determinada através de ensaios de repetibilidade e reprodutibilidade, obtendo-se valores de CV inferiores a 5%. A exatidão do método CQO foi avaliada com base nos resultados dos ensaios interlaboratoriais cujos valores de *z-score* cumpriram o critério de aceitação ($-3 < z\text{-score} < 3$).

Os fluoretos foram determinados em amostras de águas naturais e os resultados comparados com a legislação em vigor. Não foi efectuada a quantificação de sulfuretos em amostras devido a ausência deste analito nas águas analisadas no LRA.

Em conclusão, os resultados alcançados nos procedimentos de validação são comparáveis aos do LRA, tendo sido possível reduzir, significativamente, a quantidade de reagentes utilizados, diminuindo custos de análise, contribuindo para gestão mais sustentável de resíduos e reduzindo impactes ambientais que estão associados ao método tradicional.

Palavras-chave: CQO; sulfuretos; fluoretos; Validação; Cuvetes *Hach Lange*.

Abstract

The Water Framework Directive is the European Union's main legislative document on water, whose fundamental objective is to conserve and improve the aquatic environment of Member States. This legislation aims to preserve water quality, protect and improve aquatic and terrestrial ecosystems over water needs.

This work was carried out at the Laboratório de Referência do Ambiente (LRA) of the Agência Portuguesa do Ambiente (APA, I.P.), in the General Chemistry sector in order to validate analytical photometric methods in Hach Lange cuvettes for determination of COD, fluoride and sulphide in water samples because this tests provide reliable and accurate results with simple, fast and safe handling.

Linearity for COD, fluorides and sulphides was evaluated by correlation coefficient (r) which values were greater than 0.995. The limits of detection and quantification were determined from the calibration curves whose values were for COD 3.97 and 11.90mg/ L O₂ (Hach standard) and 4.37 and 13.12 mg / L O₂ (laboratory standard), respectively. The precision of the methods was determined through repeatability and reproducibility tests with CV values below 5%. The accuracy of the COD method was assessed based on the results of interlaboratory tests whose z-score values met the acceptance criteria ($-3 < z\text{-score} < 3$).

Fluorides were determined in natural water samples and the results compared to current legislation. Quantification of sulfides in samples was not performed due to the absence of this analyte in the waters analyzed in the LRA.

In conclusion, the results achieved in the validation procedures are comparable to those of the LRA, making possible to significantly reduce the amount of reagents and decrease analysis costs, contributing to a best sustainable waste management and to the reduction of the environmental impacts associated with the traditional method.

Keywords: COD; sulphides; fluorides; Validation; Hach Lange cuvettes

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo	II
Abstract.....	III
Índice das Figuras	VI
Índice das Tabelas.....	VII
Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas.....	IX
1. Objetivo do trabalho	13
2. Introdução	15
2.1. Enquadramento e motivação	15
2.2. Local de Estágio.....	16
2.2.1. Apresentação da Agência Portuguesa do Ambiente.....	16
2.2.2. Laboratório de Referência do Ambiente	17
2.3. Diretiva Quadro de Água	17
2.4. Caracterização de águas naturais e residuais.....	18
2.5. Parâmetros físico-químicos de caracterização da água	18
2.5.1. Carência Química de Oxigénio.....	19
2.5.2. Fluoretos	20
2.5.3. Sulfuretos.....	21
2.6. Métodos de análise	21
2.6.1. Método de referência da determinação de CQO	21
2.6.2. Método fotométrico de testes em cuvetes da <i>Hach Lange</i>	22
3. Validação de Métodos Analíticos.....	25
3.1. Parâmetros de validação	25
3.1.1. Gama de trabalho.....	25
3.1.2. Linearidade	26
3.1.3. Limiares analíticos (limite de deteção e/ou limite de quantificação)	28
3.1.4. Precisão.....	30
3.1.5. Exatidão	31
3.1.6. Estimativa da incerteza.....	32
4. Materiais e Métodos	35
4.1. Reagentes	35
4.2. Materiais e equipamentos.....	35

4.3.	Preparação de soluções.....	37
4.4.	Amostras.....	38
4.5.	Procedimento experimental.....	38
4.5.1.	Determinação de CQO.....	38
4.5.2.	Doseamento dos fluoretos	40
4.5.3.	Quantificação dos sulfuretos	41
5.	Apresentação e discussão dos resultados	45
5.1.	Validação dos métodos de análise de CQO, fluoretos e sulfuretos	45
5.1.1.	CQO.....	45
5.1.1.1	Linearidade das curvas de calibração	45
5.1.1.2	Limiares analíticos.....	51
5.1.1.3	Precisão.....	52
5.1.1.4	Exatidão	55
5.1.1.5	Estimativa da incerteza.....	56
5.1.2	Fluoretos	57
5.1.3	Sulfuretos.....	59
5.2	Análise de amostras	62
5.2.1	Determinação de CQO.....	62
5.2.2	Quantificação de fluoretos.....	65
6.	Conclusões	67
7.	Propostas de trabalho futuro	70
8.	Referências Bibliográficas.....	73
	Anexo I Protocolo de cooperação ISEL/APA, I.P.	77
	Anexo II Método de referência de CQO -Dicromato de Potássio – MMA40	80
	Anexo III Procedimento analítico para a determinação de CQO – Método Fotométrico – Hach Lange CLK 1414	85
	Anexo IV Procedimento analítico para a quantificação de fluoretos– Método fotométrico- Hach Lange LCK 323	88
	Anexo V Procedimento analítico para a determinação de sulfureto – Método fotométrico – Hach Lange LCK 653.....	91
	Anexo VI Comunicação em painel no 5º Fórum de Engenharia Química e Biológica, ISEL (de 08 a 10 de Maio de 2018).....	95
	Anexo VII Comunicação oral apresentada no XXIV Encontro Luso-Galego de Química, Porto 2018 (de 21 a 23 de Novembro de 2018).....	96

Índice das Figuras

Figura 2.1 Agência Portuguesa do Ambiente	16
Figura 2.2 Gama de trabalho CQO <i>Hach Lange</i> (Petra Pütz n.d.).....	23
Figura 4.1 Materiais e equipamentos (<i>Hach</i> , 2012)(Hts n.d.)(<i>Hach</i> , 2016): (a) Fotómetro DR 3900; (b) Digestor e (c) cuvetes LCK.	36
Figura 4.2 Procedimento de medida no Fotómetro DR 3900 <i>Hach Lange</i> (<i>Hach</i> , 2016)	37
Figura 5.1 Curva de Calibração CQO padrão do laboratório	46
Figura 5.2 Curva de Calibração CQO Padrão da <i>Hach</i>	48
Figura 5.3 Cartas de controlo para ensaios de repetibilidade CQO padrão do laboratório 9 e 40 mg/L O ₂	50
Figura 5.4 Cartas de controlo para ensaios de repetibilidade CQO padrão da <i>Hach</i> 9 e 60 mg/L O ₂	51
Figura 5.5 Cartas de controlo de repetibilidade CQO padrão do laboratório 10 e 20 mg/L O ₂	54
Figura 5.6 Cartas de controlo de repetibilidade CQO padrão <i>Hach</i> 24 e 36 mg/L O ₂	54
Figura 5.7 Curva de calibração de fluoretos	58
Figura 5.8 Cartas de controlo de repetibilidade padrão de fluoretos 0,3 e 0,35 mg/L F ⁻	59
Figura 5.9 Curva de calibração de sulfuretos.....	60
Figura 5.10 Cartas de controlo de repetibilidade padrão de sulfuretos 1 e 2 mg/L S ²⁻	61

Índice das Tabelas

Tabela 2.1 Valores de CQO em águas doces superficiais destinadas à produção de água de consumo humano	19
Tabela 2.2 Valores do teor de fluoretos em águas doces superficiais destinadas à produção de água de consumo humano	20
Tabela 4.1 Reagentes utilizados no trabalho.....	35
Tabela 4.2 Padrões de calibração CQO (Padrão de Laboratório).....	39
Tabela 4.3 Padrões de calibração CQO (Padrão <i>Hach</i>).....	39
Tabela 4.4 Padrões de calibração de fluoretos (mg/L F-).....	41
Tabela 4.5 Padrões de calibração de sulfuretos (mg/L S ²⁻)	42
Tabela 5.1 Valores utilizados para a construção da curva de calibração de CQO com padrão do laboratório	46
Tabela 5.2 Concentração determinada na curva de calibração CQO padrão do laboratório e o desvio relativamente aos valores da concentração teórica.....	47
Tabela 5.3 Valores utilizados para a construção da curva de calibração CQO padrão da <i>Hach</i>	47
Tabela 5.4 Concentração obtida através da curva de calibração CQO padrão da <i>Hach</i> e o desvio relativamente aos valores da concentração teórica.....	48
Tabela 5.5 Teste de homogeneidade das variâncias para CQO padrão do laboratório.....	49
Tabela 5.6 Avaliação da homogeneidade de variâncias	51
Tabela 5.7 Limiares analíticos do método fotométrico para CQO	52
Tabela 5.8 Ensaio de Repetibilidade CQO com o padrão do laboratório em concentração 10 e 20 mg/L O ₂ e padrão da <i>Hach</i> de concentração 24 e 36 mg/L O ₂	53
Tabela 5.9 Ensaio de reprodutibilidade CQO padrão da <i>Hach</i> 10 mg/L O ₂ e padrão do laboratório 10 e 40 mg/L O ₂	55
Tabela 5.10 Ensaio interlaboratorial de CQO (MMA40, método fotométrico com padrão do laboratório e da <i>Hach</i>)	56
Tabela 5.11 Comparação dos valores de CQO obtidos pelo método fotométrico (padrão do laboratório e da <i>Hach</i>) com o método de referência em amostras de águas naturais	56
Tabela 5.12 Comparação dos valores de CQO obtidos pelo método fotométrico (padrão da <i>Hach</i> e padrão do laboratório) com os obtidos pelo método tradicional em amostras de águas residuais	57

Tabela 5.13 Estimativa da incerteza com base nos resultados do ensaio interlaboratorial.....	57
Tabela 5.14 Incerteza combinada vs. incerteza expandida para a componente precisão	58
Tabela 5.15 Valores de absorvância dos padrões de calibração para análise de fluoretos	60
Tabela 5.16 Ensaio de repetibilidade para soluções padrão de fluoretos 0,3 e 0,35 mg/L F ⁻ .	61
Tabela 5.17 Valores de absorvância dos padrões de calibração para análise de sulfuretos.....	63
Tabela 5.18 Ensaio de Repetibilidade sulfuretos para padrão 0,2 mg/L S ²⁻	64
Tabela 5.19 Teor em fluoretos em amostras de águas naturais	65

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

APA	Agência Portuguesa do Ambiente
AR	Água Residual
ARD	Água Residual Doméstica
ARI	Água Residual Industrial
AS	Água Superficial
CQO	Carência Química de Oxigênio
CE	Comissão Europeia
CV	Coeficiente de Variação
CEE	Comunidade Económica Europeia
CA	Critério de Aceitação
DQA	Diretiva Quadro da Água
DL	Decreto-Lei
EIL	Ensaio Interlaboratoriais
F ⁻	Fluoreto
LQ	Limite de Quantificação
LD	Limite de Detecção
NP	Norma Portuguesa
NaF	Fluoreto de Sódio
ISO	International Organization for Standardization
S ²⁻	Sulfureto
C ₈ H ₅ KO ₄	Hidrogenoftalato de Potássio
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
IPAC	Instituto Português de Acreditação
H ₂ S	Sulfureto de Hidrogénio
EU	<i>European Union</i> (União Europeia)
NQA	Normas de Qualidade e Ambiente
REA	Relatório do Estado do Ambiente
VIM	Vocabulário Internacional de Metrologia
VMA	Valor Máximo Admissível
VMR	Valor Máximo Recomendável
VLE	Valor Limite de Emissão

Capítulo 1

Objetivo do trabalho

1. Objetivo do trabalho

Este trabalho foi realizado no âmbito do protocolo e parceria entre o Instituto Superior de Engenharia de Lisboa (ISEL) e a Agência Portuguesa do Ambiente (APA, I.P).

O presente protocolo tem como objetivo a realização de estágio no âmbito do trabalho final do mestrado em Engenharia da Qualidade e Ambiente como se pode ver no anexo I.

O objetivo deste trabalho consistiu em caraterizar e avaliar a qualidade das águas superficiais e subterrâneas através da validação de um método fotométrico de testes em cuvetes da *Hach Lange* para determinação dos parâmetros físico-químicos, carência química de oxigénio (CQO), de fluoretos e de sulfuretos, em amostras de águas residuais e naturais de modo a poder ser usado no Laboratório de Referência do Ambiente (LRA) da APA na realização de trabalho de rotina laboratorial, com incidência nos requisitos do material volumétrico e na preparação dos reagentes.

O método a implementar apresenta diversas vantagens relativamente ao método de referência atualmente acreditado no laboratório, nomeadamente, por ser mais rápido e fácil, intuitivo, ter menores custos e reduzir impactos ambientais por envolver uma menor quantidade de reagentes.

Capítulo 2

Introdução

2. Introdução

2.1. Enquadramento e motivação

O ciclo hidrológico permite a permuta constante de água na natureza, entre a atmosfera e a hidrosfera. Este ciclo explica-se através de fenómenos naturais influenciados pela energia solar denominado motor do ciclo hidrológico, origina a evaporação de moléculas de água da superfície terrestre para a atmosfera (Hipólito et al, 2017). Em seguida ocorre o fenómeno da condensação provocando a precipitação. Na superfície terrestre, ocorre infiltração (nos solos e nas rochas) através de poros, fissuras e fraturas designado de escoamento subterrâneo (Alves, 2010).

A água é um património comum, elemento primordial para a sobrevivência de animais e vegetais em todo o planeta, representa assim um indicador de qualidade de vida e de bem-estar. Geralmente constitui um desafio enorme para as instituições encarregadas em implementar políticas, estratégias ou metas adequadas com o objetivo de garantir níveis adequados de saúde pública e na manutenção da qualidade ambiental. Nessa ordem de ideia, quando se carece desse recurso natural, a vida está ameaçada (Vieira, 2018).

A poluição da água, representa atualmente um dos maiores constrangimentos para ambiente, nomeadamente para a saúde humana e manutenção dos ecossistemas aquáticos e terrestres. O crescimento demográfico em ligação com a irregularidade da precipitação e a conseqüente contaminação das zonas de captação, constituem fatores que contribuem para a escassez de água de qualidade. Esses desafios constituem um conjunto de requisitos que motivam o desenvolvimento de novas dinâmicas que permitam combater a referida problemática (Vieira, 2018).

Em certos casos, determinadas substâncias que existem em condições naturais nos meios aquáticos têm a capacidade de originar danos significativos na saúde humana, nos ecossistemas e meio ambiente, quando combinadas com outras, os produtos resultantes da atividade humana que surgem nas águas por introdução direta ou indireta, de descargas de águas não controladas. Surgiu assim a necessidade de controlar fontes de emissão de poluição pontual ou difusa com o propósito de monitorizar a concentração dessas substâncias e garantir que seja inferior aos limites estabelecidos pela lei (DL 506, 1999).

2.2. Local de Estágio

2.2.1. Apresentação da Agência Portuguesa do Ambiente

A Agência Portuguesa do Ambiente (APA, I.P.) é uma entidade pública virada para a sociedade, criada em 2007 através do decreto-lei n.º. 53/2007, de 27 de Abril. Esta instituição resultou de uma fusão entre o Instituto de Resíduos juntamente com o Instituto do Ambiente. Em 2012 esta organização passou a integrar 9 organismos segundo o decreto-lei n.º. 56/2012, de 12 de Março (APA, 2019).



Figura 2.1 Agência Portuguesa do Ambiente

(Adaptada da APA, 2018)

A APA tem como objetivo principal o progresso e acompanhamento das políticas públicas e ambientais em todo o território nacional, contribuindo para as boas práticas do desenvolvimento sustentável.

A APA, I.P. tem como missão, o seguimento da gestão integrada das políticas públicas e ambientais, em conexão com as diversas políticas setoriais em cooperação com entidades públicas e privadas.

A visão desta instituição pública caracteriza-se assim pela sua alta responsabilidade na garantia de elevados padrões de proteção ambiental no seu todo, evidenciando a valorização dos sistemas ambientais.

Este trabalho foi resultado de uma parceria entre o Instituto Superior de Engenharia de Lisboa e a Agência Portuguesa do Ambiente com vista a fortalecimento dos conhecimentos adquiridos ao longo do percurso académico no Curso de Mestrado em Engenharia da Qualidade e Ambiente.

2.2.2. Laboratório de Referência do Ambiente

O LRA da APA, I.P. é reconhecido pelas suas atividades laboratoriais, que incluem implementação, validação e otimização dos métodos analíticos para aplicação posterior na análise de amostras ambientais. Dispõe de equipamentos e recursos qualificados que permitem obter uma resposta aos requisitos da legislação nacional e internacional.

Atualmente o LRA encontra-se acreditado para 30 métodos de ensaio, dando resposta a 75 parâmetros em vertentes ambientais distintas: nas áreas da Química Geral, Química Orgânica, Metais, Biologia/Microbiologia e Qualidade do Ar.

Em todas as áreas acima citadas, o LRA possui um sistema de gestão da qualidade próprio e bem constituído que lhe permite cumprir as exigências da norma NP EN ISO/IEC 17025 (LRA, 2018).

A necessidade da validação do método fotométrico em cuvetes da *Hach Lange* para análise dos parâmetros físico-químicos surgiu devido às vantagens da utilização destes ensaios pelo facto de permitirem minimizar o tempo de análise, possibilitando maior segurança operacional uma vez que reduz o contacto com reagentes e a quantidade de resíduos produzidos em laboratório.

2.3. Diretiva Quadro de Água

A Diretiva Quadro de Água (DQA) de 23 de Outubro de 2000 é o diploma legislativo fundamental da União Europeia (UE) relativamente à água. Este diploma permite estabelecer medidas de proteção contra a contaminação e alteração do estado da água. Esta proteção visa as zonas húmidas, ecossistemas aquáticos e terrestres (DQA, 2000).

A DQA foi adaptada para a ordem jurídica Portuguesa segundo o Decreto-lei n.º 58/2005, de 29 de Dezembro, denominada Lei da Água. Esta lei veio estabelecer um conjunto de abordagens para uma gestão mais eficiente e sustentável dos recursos hídricos em Portugal (DL 58 2005).

A Lei da Água sofreu alterações pelo Decreto-lei n.º 77/2006, de 30 de Março e Decreto-lei n.º 130/2012, de 22 de Junho. Estes decretos clarificaram a missão dos Estados-Membro mediante o compromisso de proteger e melhorar águas superficiais e subterrâneas de maneira a alcançar o bom estado dessas águas (DQA, 2000).

Segundo a DQA, é necessária a avaliação conjunta do estado ecológico e químico para caracterizar águas de superfície, que abrangem águas superficiais interiores (rios, lagos e albufeiras), águas costeiras e de transição (APA, 2009).

2.4. Caraterização de águas naturais e residuais

As fontes das águas naturais podem ser associadas em quatro grupos, cujas características refletem a interação com o meio ambiente: águas de superficiais (AS) que incluem os rios, lagos e albufeiras, águas subterrâneas, águas do mar e águas das chuvas (Alves, 2010). As águas residuais (AR) são águas resultantes das atividades humanas, que após serem usadas alteram o seu estado natural, seja físico-químico e microbiológico.

O tratamento das águas residuais urbanas foi regulado pela Diretiva 91/271/CEE do Conselho Europeu de 21 de Maio de 1991, denominada Diretiva Quadro das Águas Residuais, a qual foi transposta para a ordem jurídica nacional através do Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de junho (DL 152 1997), o artigo 2º deste decreto define águas residuais domésticas (ARD) como sendo águas provenientes fundamentalmente do metabolismo humano e de atividades domésticas. Considera, ainda, águas residuais industriais (ARI) como as que são resultantes de qualquer atividade e não possam ser classificadas como sendo águas residuais domésticas nem águas pluviais. Definiu-se assim as águas residuais urbanas (ARU) consideradas como as resultantes das águas residuais domésticas ou a combinação destas com águas residuais industriais e/ou com águas pluviais (Marecos et al, 2016). Igualmente, o tratamento das águas residuais industriais foi regulado pelo DL 236/98 de 1 de Agosto.

2.5. Parâmetros físico-químicos de caraterização da água

A água, com base nas características físico-químicas que a definem, encontra-se frequentemente associada a qualquer impureza seja ela dissolvida e/ou em suspensão (de natureza sólida, líquida ou gasosa). Esse facto afeta necessariamente as suas características e as suas capacidades potenciais de utilização, para os diferentes usos possíveis (Rodier, 2016).

A presença de diferentes substâncias de natureza orgânica ou inorgânica provocadas por descargas de efluentes domésticos e industriais em meios hídricos recetores pode gerar problemas de outra ordem nomeadamente ao nível de Saúde Pública ou, tendo em conta os seus diferentes usos económicos, a criação de distúrbios ambientais (Mendes et al, 2004).

Na composição das águas residuais e naturais encontram-se substâncias ou impurezas de várias naturezas, que lhes conferem algumas propriedades ou características que devem ser conhecidas a fim de serem submetidas sistemas de tratamento adequados com vista à sua utilização para um determinado fim (Degrémont, 2005).

Do ponto de vista da qualidade da água, os parâmetros físico-químicos que se abordam a seguir representam alguns dos bons indicadores frequentemente usados para a avaliação da

qualidade das águas e para os quais se pretende validar neste trabalho uma nova metodologia de análise a ser implementado no LRA.

Segundo o DL 236/98 de 1 de Agosto, as águas superficiais destinadas à produção de água potável para o consumo humano, são definidos em três categorias: A1, A2 e A3 a que correspondem processos distintos de tratamento para a produção de água para abastecimento descritos no Anexo II do referido Decreto-Lei.

A1: Tratamento físico e desinfeção

A2: Tratamento físico, químico e desinfeção

A3: Tratamento físico, químico, de afinação e desinfeção

2.5.1. Carência Química de Oxigénio

A Carência Química de Oxigénio (CQO) é um dos parâmetros mais importantes na caracterização físico química de águas (naturais e residuais), cujo o valor representa a quantidade de oxigénio necessária na oxidação química da matéria orgânica presente na água por um oxidante forte em condições ácidas e a elevada temperatura (Kolb et al, 2017). Como mostra a Tabela 2.1 os valores limites de CQO, valor máximo recomendável (VMR) e valor máximo admissível (VMA) para diferentes classes de águas.

Segundo o Anexo I do DL n.º. 236/98 de 1 de Agosto, os limites podem ser ultrapassados desde que seja em lagos de profundidade reduzida com baixa taxa de renovação (DL 236 1998).

Tabela 2.1 Valores de CQO em águas doces superficiais destinadas à produção de água de consumo humano

Parâmetro	Tipo de Água					
	A1		A2		A3	
CQO (mg/L O ₂)	VMR	VMA	VMR	VMA	VMR	VMA
	-	-	-	-	30	-

Adaptada de DL n.º. 236/98 de 1 de Agosto

Valor limite de emissão (VLE) na descarga de águas residuais corresponde a 125 mg/L O₂ com a percentagem mínima de redução igual a 75 % (Mendes, 2014) sendo assim, concentrações superiores ao VLE em AR serão sujeitas a diluições prévias com a finalidade de serem descarregadas no meio natural.

A determinação de CQO é essencial na análise de águas, sendo o parâmetro de monitorização mais amplamente referido na legislação da UE servindo de base para a conceção e avaliação da capacidade de tratamento das ETARs (Petra Pütz n.d.).

2.5.2. Fluoretos

Os fluoretos encontram-se de forma natural no solo, na água, nas rochas, nas plantas, no ar, nos animais e nos seres humanos diferentes quantidades. A acumulação do composto fluoreto nas águas é influenciada pelos vários fatores como o pH, os sólidos suspensos totais, o grau da alcalinidade, a porosidade, acidez do solo e das rochas, a temperatura e a profundidade do lençol freático, entre outras (Costa, 2013).

Constitui 0,07 % da crosta terrestre, não se encontrando, porém, no estado livre devido a sua elevada reatividade. Encontra-se, por isso, combinado na forma de fluoretos de cálcio, de alumínio, de sódio ou de outros metais (Mendes, 2004).

As principais fontes de exposição dos indivíduos aos fluoretos são a dieta, produtos odontológicos, absorção cutânea de produtos químicos farmacêuticos, consumo de tabaco, ingestão de medicamentos que contendo flúor e exposições industriais entre outras. Relativamente à essas fontes de emissão, sabemos que em relação a todos os alimentos comuns o chá possui um potencial forte para o aumento do fluor, porque as folhas da planta de chá acumulam o fluor em grande quantidade. O fluor tem um papel muito importante na prevenção de cárie, mas a cárie não representa uma doença com deficiência de fluor (Waugh, 2016).

Em casos raros, a concentração de fluoreto natural pode se aproximar de 10 mg/ L.

A determinação precisa do teor de flúor aumentou em importância com o crescimento da prática da fluoretação da água de abastecimento como uma medida de saúde pública. A manutenção de uma concentração ótima de flúor é essencial para manter a eficácia e a segurança do procedimento de fluoretação (Baird et al, 2017).

Segundo o Anexo I do DL 236/98 de 1 de Agosto, apresenta-se na Tabela 2.1 os VLE de fluoretos para águas superficiais destinadas à produção da água para o consumo humano.

Tabela 2.2 Valores do teor de fluoretos em águas doces superficiais destinadas à produção de água de consumo humano

Parâmetro	Tipo de Água					
	A1		A2		A3	
Fluoretos (mg/L F ⁻)	VMR	VMA	VMR	VMA	VMR	VMA
	0,7-1,0	1,5	0,7-1,7	-	0,7-1,7	-

Adaptada de DL n.º. 236/98 de 1 de Agosto

2.5.3. Sulfuretos

Os sulfuretos são encontrados frequentemente em águas subterrâneas e sedimentos. São produzidos pela decomposição da matéria orgânica e pela redução bacteriana do sulfato. Às vezes são também encontrados em águas residuais industriais ou municipais.

Os sulfuretos pode ter um efeito laxante em consequência poderá provocar à desidratação e é uma preocupação especial para os recém-nascidos. O sulfureto de hidrogênio é inflamável e venenoso. Geralmente, não é um risco para a saúde em concentrações presentes na água doméstica. As concentrações atmosféricas de sulfuretos de hidrogênio podem ser elevadas quando a água com este composto é libertada em áreas confinadas (USDA, 2018). A libertação de sulfureto de hidrogênio para o ar a partir de AR provoca distúrbios de odor pois interfere com o sistema olfativo, sendo prejudicial para a saúde dos seres humanos e (Baird et al, 2017).

Conforme disposto no anexo XVIII do DL 236/98 de 1 de Agosto, o valor limite de emissão (VLE) na descarga de águas residuais para o parâmetro sulfureto é de 1,0 mg/L S²⁻.

2.6. Métodos de análise

2.6.1. Método de referência da determinação de CQO

O método acreditado no LRA para análises de CQO em amostras de águas naturais e residuais é utilizado para determinar valores a partir de 5 mg/L O₂ (Anexo II) podendo ser aplicado a concentrações superiores se as amostras forem convenientemente diluídas. Para se determinarem valores de CQO inferiores a 50 mg/L O₂ (gama baixa), utiliza-se uma solução diluída de padrão de dicromato de potássio com concentração 0,025N.

Este método baseia-se no método clássico de oxidação da matéria orgânica com dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) em meio fortemente ácido e em presença de um catalisador sulfato de prata (Ag₂SO₄) durante 2 horas, a 148°C ± 2°C.

Da reação resulta a passagem do crómio do estado hexavalente (Cr⁶⁺) para o estado trivalente (Cr³⁺).

O ião cloreto é o interferente mais comum na determinação de CQO uma vez que da sua reação com o sulfato de prata precipita cloreto de prata, inibindo a atividade catalisadora do sulfato de prata. Este problema pode ser minimizado através da complexação dos cloretos, pela presença do sulfato de mercúrio determinados por titulação potenciométrica - sistema robotizado SP100. Este procedimento é baseado na ISO 15705:2012, aplica-se a amostras

com teores em cloretos inferiores a 1000 mg/L Cl⁻. As amostras cuja concentração de cloretos é superior a este valor são sujeitos a uma diluição prévia.

O método de dicromato de potássio é usado para quantificar valores de CQO desde o final de década de 1970. O método produz uma elevada quantidade de resíduos perigosos para a saúde humana e também para os ecossistemas (Kolb et al, 2017) uma vez que contém mercúrio (II) e crómio (VI). Com efeito, através da Diretiva EU 2008/105/CE, o mercúrio e seus os compostos foram classificados como “poluentes prioritários” que consequentemente necessitam de ser removidos dos resíduos.

Nesta ordem de ideias, surgiu a necessidade de validar um novo método de análise (testes em cuvetes da *Hach Lange*) capaz de garantir a sustentabilidade dos ecossistemas, proteger a Saúde Pública não produzindo resíduos significativos para o meio ambiente.

2.6.2. Método fotométrico de testes em cuvetes da *Hach Lange*

Foi em 1933 que o Dr. Bruno Lange fundou a empresa *Hach Lange* na qual se conceberam métodos fotométricos com base em testes em cuvete os quais tornaram possível a realização de análises mais rápidas e mais simples sem a necessidade de analistas com conhecimentos aprofundados de química (Pacheco, 2015).

Além de oferecer respostas práticas para as águas naturais e residuais, a empresa igualmente tem-se focado na sustentabilidade na área de análise da água. Nos últimos anos, a *Hach Lange* conseguiu diminuir significativamente a quantidade de matérias-primas utilizadas para os testes em cuvetes. Igualmente, dispõe de um serviço de tratamento das cuvetes usadas nas análises — este procedimento tem protegido o ambiente desde 1978 (*Hach*, 2018).

A determinação de CQO é efetuada através do método fotométrico, construindo a curva de calibração no Fotómetro *DR 3900 Hach Lange* (*Hach*, 2012). Usaram-se as cuvetes *LCK 1414 Hach Lange* (*Hach*, 2016) e as leituras foram realizadas a comprimento de onda de 384 nm e os valores calculados com base na curva de calibração.

O ião cloreto é o interferente mais comum na determinação de CQO. A reação de cloretos com o sulfato de prata precipita cloreto de prata, inibindo a atividade catalisadora do sulfato de prata. Este problema pode ser minimizado através da complexação dos cloretos, pela presença do sulfato de mercúrio na cuvete *LCK 1414 Hach Lange*.

Os testes em cuvete da *Hach Lange* assentam-se no mesmo princípio que os testes normalizados (Método de referência). As únicas modificações devem-se a quantidade das amostras, reagentes usados e também o método de determinação, neste caso método fotométrico para testes em cuvetes e método potenciométrico para testes normalizados (Baird, 2017).

Como mostra a Figura 2.2, a *Hach Lange* tem a sua disponibilidade 10 gamas diferentes de testes em cuvete para a determinação de CQO, donde as caixas, as etiquetas e tampas indicam automaticamente a gama de aplicação do kit.

Durante este trabalho, foram usadas as cuvetes correspondentes a gama mais baixa de 5 – 60 mg/L O₂, em amostras homogeneizadas e com diluições prévias (Petra Pütz n.d.).

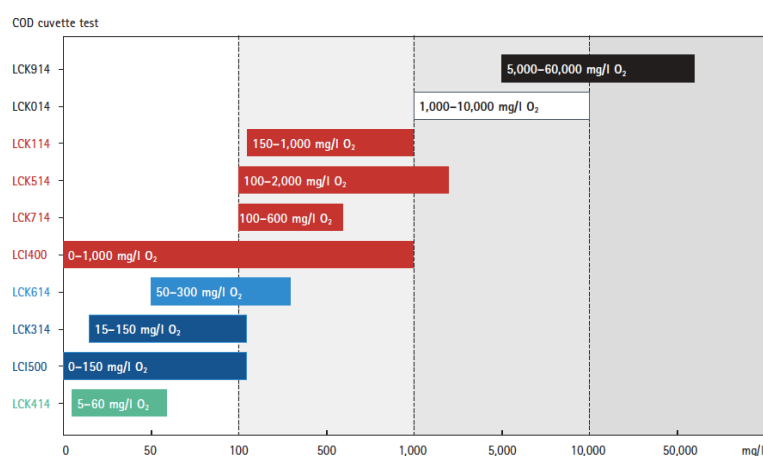


Figura 2.2 Gama de trabalho CQO Hach Lange (Petra Pütz n.d.)

Este método é baseado na ISO 15705:2012, aplica-se a amostras com teores em cloretos inferiores a 1000 mg/L Cl⁻. As amostras cuja a concentração de cloretos é superior a este valor são sujeitos a uma diluição prévia (ISO 15705, 2002).

Quanto à determinação de teores de fluoretos e sulfuretos em águas naturais, não se fazia no LRA, optou-se por validar o método fotométrico para os dois parâmetros devido a disposição imediata dos resultados, facilidade de aplicação e à quantidade reduzida de amostras ou padrão a serem utilizados durante os ensaios.

Capítulo 3

Validação de métodos analíticos

3. Validação de Métodos Analíticos

A metodologia de validação de métodos de ensaio assenta na verificação dos requisitos essenciais que são indispensáveis para cumprir um determinado fim (DOQ-CGCRE-008, 2011).

Os métodos de ensaio são passíveis de acumularem erros, aleatórios ou sistemáticos, que em algumas situações alteram o valor do resultado final (RELACRE, 2000).

Segundo um critério interno do LRA, os métodos devem estar descritos detalhadamente, de maneira que qualquer pessoa com a formação apropriada os possa executar sem quaisquer dificuldades.

Deste modo, o processo de validação de métodos de ensaio efetua-se com o objetivo de garantir a fiabilidade dos resultados para a finalidade pretendida. Normalmente validam-se métodos usados pelo laboratório, métodos não normalizados e métodos criados ou desenvolvidos pelo próprio laboratório (Pacheco, 2015).

3.1. Parâmetros de validação

A validação de métodos de ensaio exige o cumprimento de várias etapas, neste trabalho determinou-se os seguintes parâmetros:

1. Gama de trabalho
2. Linearidade
3. Limiares analíticos (limites de deteção e/ou quantificação)
4. Precisão (repetibilidade/reprodutibilidade)
5. Exatidão
6. Seletividade do método
7. Robustez a influências externas
8. Incerteza dos resultados, junto dos valores paramétricos

3.1.1. Gama de trabalho

Representa o limite superior e inferior na determinação da curva de calibração para um parâmetro em estudo. A escolha da gama de trabalho é efetuada com a intenção de cobrir toda a gama de concentração.

Para a avaliação da gama de trabalho, quando a metodologia envolve a representação de uma curva de calibração, usa-se o teste de homogeneidade das variâncias. Para tal,

realizam-se pelo menos 10 determinações em condições de repetibilidade, por comparação estatística da variância associada à análise do primeiro e último padrão (S^2_1 e S^2_{10} , respetivamente) da curva de calibração.

As variâncias são comparadas pelo teste de significância para examinar se existem diferenças significativas nos limites da gama de trabalho.

Neste trabalho desenvolveram-se métodos em cuvetes da *Hach Lange*. A empresa estabelece a gama de trabalho consoante o tipo de cuvette a usar na determinação de um dado parâmetro, motivo pelo qual não se mostrou necessário efetuar a determinação da gama de trabalho.

3.1.2. Linearidade

A linearidade é definida como a habilidade de um determinado método em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, numa dada faixa de concentração ou seja dentro da gama de trabalho. A quantificação da linearidade requer que se conheça a dependência entre a resposta medida e a concentração do analito.

Constrói-se uma curva de calibração, com o objetivo de interpretar a relação linear segundo a equação 2.1.1:

$$y = ax + b \quad 3.1$$

Sendo:

y – Resposta medida ou sinal do equipamento (por exemplo absorvância);

x – Concentração do analito;

b – Declive da curva de calibração;

a – Ordenada na origem.

O coeficiente de correlação linear (r) é muito frequentemente adotado para assinalar o quanto pode ser conveniente a reta como modelo matemático representativo da variação dos resultados experimentais.

A linearidade pode ser avaliada através de um modelo estatístico, de acordo com a norma ISO 8466-1. A partir de um conjunto de pares ordenados, calcula-se a função a calibrar

linear (ISO 8466-1) e a função a calibrar não linear (ISO 8466-2), bem como os respetivos desvios-padrão residuais, $S_{y/x}$ e S_{y_2} , nesse caso usou-se o *Teste de Mandel* visto que a avaliação inclui a utilização de curvas de calibração.

A diferença das variâncias (DS^2) é calculada pela equação 2.1.2:

$$DS^2 = (N - 2) \cdot S_{y/x}^2 - (N - 3) \cdot S_{y_2}^2 \quad 3.1$$

Em que:

N – é o número de padrões de calibração;

$S_{y/x}$ – representa o desvio padrão residual da função linear;

S_{y_2} – o desvio padrão da função polinomial.

Em seguida, determinou-se o valor de teste PG, utilizando a equação 2.1.3:

$$PG = \frac{DS^2}{S_{y_2}^2} \quad 3.2$$

Comparou-se o valor de PG com o valor da distribuição F de Snedecor/Fisher, respeitando os seguintes critérios:

- Se $PG \leq F$: a função a calibrar é linear.
- Se $PG \geq F$: a função a calibrar não é linear.

No caso de $PG > F$, adota-se o critério de avaliação da possibilidade de reduzir a gama de trabalho, caso se justifique recorrendo à ISO 8466-2 ou uma função suscetível de bom ajuste.

3.1.2.1. Teste de homogeneidade das variâncias

Aplica-se na verificação da existência da homogeneidade das variâncias associadas ao primeiro e último padrão (S^2_1 e S^2_{10}), analisando pelo menos 10 vezes cada padrão em condições de repetibilidade, usando as equações 2.1.4 e 2.1.5:

$$S_i^2 = \frac{\sum_{j=1}^{10} (y_{i,j} - \bar{y}_i)^2}{n_i - 1} \quad 3.3$$

Sendo:

$$\bar{y}_i = \frac{\sum_{j=1}^n y_{i,j}}{n_i} \quad 3.4$$

para $i=1$ e $i=10$

sendo:

i – o número de padrão (neste caso i vai de 1 a 10)

j – o número de repetição efetuadas para cada padrão (neste caso $j=1, \dots, n$)

n – o número de réplicas.

Foram testadas as variâncias para avaliar se realmente existem diferenças significativas entre elas, nos limites da gama de trabalho efetuando o cálculo do valor de teste PG:

$$a) PG = \frac{S_{10}^2}{S_1^2} \quad 3.5$$

$$b) PG = \frac{S_1^2}{S_{10}^2} \quad 3.6$$

Sendo:

- a) quando $S_{10}^2 > S_1^2$
- b) quando $S_1^2 > S_{10}^2$

Comparou-se o valor de PG com o valor da distribuição F de Snedecor/Fisher, para N-1 graus de liberdade:

- Se $PG \leq F$: diferenças de variâncias não são significativas e a gama de trabalho está bem ajustada;
- Se $PG > F$: diferenças de variâncias são significativas e a gama de trabalho deve ser reduzida até que a diferença entre as variâncias relativas ao primeiro e último padrão permitam obter $PG \leq F$.

3.1.3. Limiares analíticos (limite de deteção e/ou limite de quantificação)

Existem diferentes formas para determinar ou estimar os limiares analíticos de um método de ensaio, dependendo da técnica utilizada pelo laboratório. O LRA da APA aplica as abordagens que se seguem (IPAC, 2011).

3.1.3.1. Limite de Detecção (LD)

É a quantidade mínima, a partir do qual consegue detetar a presença do analito ao nível de confiança estatística razoável, geralmente 95%. Esta medida apresenta um caráter qualitativo, em que se deseja quantificar a concentração mínima que é possível distinguir do valor do branco.

- a) No caso geral, o LD é estimado pela equação 2.1.8:

$$LD = \bar{X} + K \times \sigma_0 \quad 3.7$$

Em que:

- \bar{X} representa a média aritmética do teor medido de uma serie de brancos ou padrões;
- σ_0 indica o erro padrão associado ao \bar{X} .

São necessários no mínimo 10 resultados de padrões ou amostras e são recalculados sempre que se justifique. O valor do coeficiente K é igual a 3.

- b) No caso em que o método usado envolve a utilização de uma curva de calibração linear, o LD estima-se pela equação 2.1.9:

$$LD = \frac{3,3 \cdot S_{y/x}}{b} \quad 3.8$$

Em que:

- $S_{y/x}$ – é o desvio padrão residual da curva de calibração;
- b – é o declive da reta.

Neste trabalho, usou-se a equação 2.1.10 para calcular o LD.

$$LD = \left(\frac{1}{3}\right) \times LQ \quad 3.10$$

3.1.3.2. Limite de Quantificação (LQ)

Corresponde à menor concentração medida a partir da qual é possível a quantificação do analito. Na prática representa normalmente o padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco).

Após a determinação deste limiar, deve ser testado com o objetivo de averiguar se a exatidão e precisão obtida é satisfatória (DOQ-CGCRE-008 2011). Segundo as recomendações da IUPAC, o coeficiente de variação (CV) associada a esta análise, não deve exceder 10%.

O limite de quantificação (LQ) é estimado com base na equação 2.1.11:

a) Caso geral:

$$LQ = \bar{X} + 10 \times \sigma_0 \quad 3.11$$

Em que:

- \bar{X} representa a média aritmética dos valores para branco ou padrão;
- σ_0 indica o erro padrão associado a \bar{X} .

Caso em que o método envolve a utilização de uma curva de calibração linear:

$$LQ = \frac{10 \cdot S_{y/x}}{b} \quad 3.12$$

Em que:

- $S_{y/x}$ – é o desvio padrão residual da curva de calibração;
- b – é o declive da reta.

Durante este trabalho, determinou-se o LQ para o parâmetro CQO (padrão de laboratório e *Hach*) baseando no caso geral através da equação 2.1.11.

3.1.4. Precisão

A precisão de um procedimento analítico representa a dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos sobre uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em determinadas condições (ISO, 1998).

A avaliação deste parâmetro permite mensurar a qualidade dos resultados tendo em conta os erros aleatórios ao longo do processo. A precisão caracteriza-se pela descrição numérica do desvio padrão, da variância ou do coeficiente de variação dos resultados entre

ensaios dos padrões ou amostras em condições de repetibilidade, reprodutibilidade e precisão intermédia.

3.1.4.1. Repetibilidade

Avalia-se este parâmetro da precisão sob um conjunto de ensaios efetuados de pelo menos 10 padrões em condições idênticas, nas quais se incluem mesmo laboratório, mesmo analista e equipamentos, mesmo tipo de reagentes durante um curto intervalo de tempo (IPQ, 2012).

Nesta avaliação determina o valor do limite da repetibilidade (r), que representa o valor da diferença absoluta entre dois resultados de ensaio ($X_i - X_{i-1}$) obtidos nas condições acima referidas com um nível de confiança (normalmente 95%) e a precisão intermédia. O valor da diferença ($X_i - X_{i-1}$) deve sempre ser inferior ou igual ao (r), caso contrário deve-se fazer uma análise crítica ou a repetição do ensaio nas mesmas condições com a intenção de cumprir tal requisito.

3.1.4.2. Reprodutibilidade

A reprodutibilidade de um método refere-se à análise de uma amostra ou padrão, efetuada sob mesmas condições no mesmo laboratório, mesmo operador, mesmo equipamento, mas em tempos distintos.

3.1.5. Exatidão

A exatidão de medição, constitui o grau de concordância entre um valor medido (resultado de um ensaio) e um valor de referência aceite como convencionalmente verdadeiro (RELACRE, 2000).

A exatidão de um método de análise pode ser determinada através de:

- Utilização de materiais de referência certificados (MRC)
- Participação em ensaios interlaboratoriais (EIL)
- Comparação com o método de referência
- Ensaio fortificados

Na avaliação da exatidão do método de ensaio, neste trabalho, foram utilizados resultados dos ensaios interlaboratoriais e a comparação com o método de referência acreditado e usado no LRA.

3.1.5.1. Ensaio interlaboratorial

Constitui uma das formas utilizadas para qualificar a exatidão de um método de ensaio, os ensaios interlaboratoriais (EIL), destinam-se a avaliar a aptidão do desempenho dos laboratórios participantes (DOQ-CGCRE-008, 2011).

A avaliação do desempenho do laboratório participante é realizada pela entidade organizadora. Geralmente usa-se a seguinte fórmula para calcular o “*Z-score*”, calculado pela equação 2.1.13:

$$Z = \frac{(X_{lab} - X_v)}{SPDA} \quad 3.13$$

em que:

X_{lab} – valor obtido pelo laboratório;

X_v – valor aceite como verdadeiro, isto é, o estabelecido no ensaio interlaboratorial;

$SPDA$ – unidade de desvio, que pode ser valor do desvio padrão da média dos laboratórios participantes.

A avaliação é feita geralmente segundo a seguinte escala de pontuação:

$$\begin{aligned} |Z| \leq 2: & \text{ satisfatório} \\ 2 < |Z| \leq 3: & \text{ questionável} \\ |Z| > 3: & \text{ incorreto} \end{aligned}$$

3.1.5.2. Testes comparativos

Representa outro contributo essencial na validação de um método interno de ensaio. Baseia-se na comparação dos resultados obtidos a partir de método em validação com os resultados conseguidos através de um método considerado como referência. Estes testes têm como objetivo principal estabelecer a proximidade dos resultados obtidos pelos dois métodos de ensaio, isto é, de avaliar a exatidão do método interno em validação relativamente ao de referência.

Segundo o critério interno do LRA a percentagem do desvio do método em validação relativamente ao método de referência não deve exceder 25%.

3.1.6. Estimativa da incerteza

A incerteza de uma medição define-se, segundo o Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM), como um parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão de valores atribuídos a uma mensurada, com base nas informações utilizadas (JCGM, 2008).

A incerteza de medição inclui componentes provenientes de efeitos sistemáticos, tais como componentes associados a correções e a valores atribuídos a padrões que sempre que possível, devem ser eliminados (IPAC, 1991). Algumas vezes, não são corrigidos efeitos sistemáticos estimados, no entanto, são incorporados componentes de incerteza de medição associados (Ellison, 2012)

Determinou-se a incerteza para as componentes precisão usando valores de ensaios de reprodutibilidade e para exatidão mediante os valores dos ensaios interlaboratoriais (EIL). Os valores foram determinados em percentagem.

Calculou-se a incerteza associada a precisão através da Equação 2.1.14, onde o valor da incerteza para a precisão representa o valor do maior coeficiente de variação (CV%) entre os dois padrões (10 e 40 mg/L O₂):

$$U_{\text{precisão}} = \frac{s}{\bar{X}} \times 100 \quad 3.14$$

Em que:

- *s* – Representa o desvio padrão do conjunto de padrões determinadas;
- \bar{X} – A média do conjunto.

Em seguida foi determinada a para a componente exatidão através da Equação 2.1.15:

$$U_{\text{exatidão}} = \frac{N^{\circ}deter}{\sqrt{Sdif}} \quad 3.15$$

Em que:

- *N° deter* – Número de ensaios determinados (igual a 3);
- *Sdif* – Desvio padrão das diferenças.

A partir dos cálculos acima referenciados, determinou-se a incerteza combinada e expandida através das Equações 2.1.16 e 2.1.17:

$$U_{\text{combinada}} = U_{\text{precisão}} \times \sqrt{\left(\frac{U_{\text{exact}}}{100}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{prec}}}{100}\right)^2} \quad 3.16$$

$$U_{\text{expandida}} = 2 \times Conc\left(\frac{mg}{L} O_2\right) \times \sqrt{\left(\frac{U_{\text{exact}}}{100}\right)^2 + \left(\frac{U_{\text{prec}}}{100}\right)^2} \quad 3.17$$

Em que:

- *Conc (mg/L O₂)* – Valor do padrão ensaiado.

Capítulo 4

Materiais e métodos

4. Materiais e Métodos

Neste capítulo apresentam-se os materiais e procedimentos utilizados para a determinação de CQO, quantificação dos fluoretos e sulfuretos em amostras de águas naturais e residuais, através de métodos fotométrico na zona do visível e ultravioleta próximo conforme tal como foi descrito no Capítulo 2.

4.1. Reagentes

Na Tabela 4.1 apresentam-se os reagentes utilizados e as respetivas especificações do fabricante.

Tabela 4.1 Reagentes utilizados no trabalho

Reagente	Fórmula	Marca	Grau de pureza
Hidrogenoftalato de potássio	$C_8H_5KO_4$	MERCK	p.a. ($\geq 99,5\%$)
Fluoreto de sódio	NaF	MERCK	p.a. ($\geq 99,5\%$)
Sulfureto de Sódio nano hidratado	$*Na_2S \cdot 9H_2O$	---	---

*Reagente doado ao laboratório com grau de pureza 99,5% de marca desconhecida.

No decorrer do trabalho a água Milli-Q usada na preparação das amostras e soluções padrão apresentou a pureza de grau I.

Uma solução utilizada no trabalho foi adquirida à *Hach Lange*:

- A solução padrão de hidrogenoftalato de potássio, 300mg/L O₂

4.2. Materiais e equipamentos

Descrevem-se a seguir os materiais e equipamentos utilizados para a execução dos ensaios.

- Fotómetro *DR 3900 Hach Lange*, aplicável numa gama de comprimento de onda de 320 a 1100 nm (Figura 4.1 (a)). O equipamento é fornecido com software que inclui vários programas de aplicação em diferentes idiomas. O equipamento permite o reconhecimento de códigos de barras e fornece leituras em unidades de concentração absorvância e percentagem de transmitância, selecionando a curva de calibração armazenada onde os resultados de leituras de absorvância para a amostra ou padrões devem ser interpoladas. O Fotómetro permite a determinação de 45 parâmetros analíticos incluindo CQO, a quantificação de fluoretos e de sulfuretos.

- Digestor de CQO, *Hach Lange* HT 200 S (Figura 4.1 (b)), com aquecimento de elevado desempenho, capaz de atingir os 170 °C e arrefecimento rápido com sistema de dupla ventoinha. Possui doze compartimentos de digestão para cuvetes cilíndricas e tubos de reação da *Hach Lange*.
- Cuvetes *LCK da Hach Lange* com os reagentes adequados a cada parâmetro em análise (*Hach*, 2016).

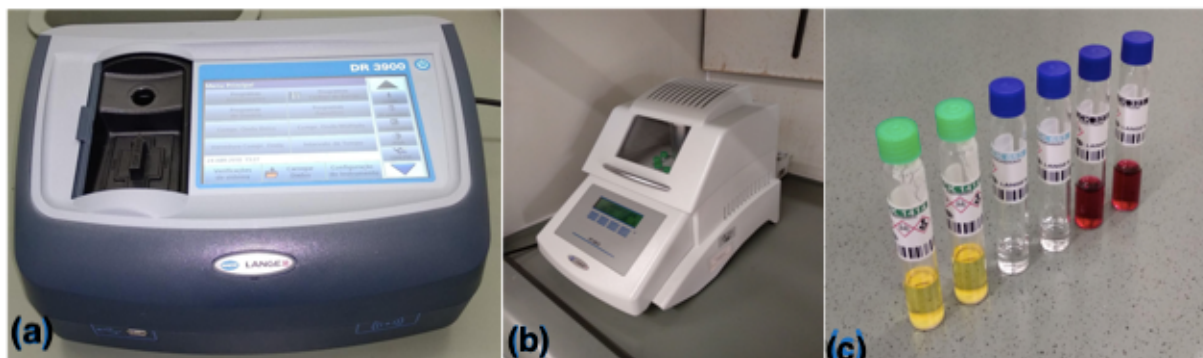


Figura 4.1 Materiais e equipamentos (*Hach*, 2012) (*Hts n.d.*) (*Hach*, 2016): (a) Fotómetro DR 3900; (b) Digestor e (c) cuvets LCK.

Identifica-se facilmente a cuvete adequada à análise de determinado parâmetro uma vez que consoante a gama de aplicação é diferenciada pela cor da tampa e da mistura reacional bem como pela respetiva referência.

Assim, na Figura 4.1 (c) as cuvets de tampa verde são usadas para a determinação de CQO (*LCK 1414*), as de tampa azul com mistura reacional incolor na quantificação de sulfuretos (*LCK 653*) e finalmente as de tampa azul escuro com a mistura reacional de cor vermelho para doseamento de fluoretos (*LCK 323*).

- Micropipeta de volume variável (100 a 5000 μL) marca *Eppendorf* modelo *Research*, calibrada e verificada anualmente;
- Sistema de ultrapurificação de água marca *Millipore*, modelo *Milli-Q*.
- Balança analítica marca *Mettler Toledo*, modelo *AE 200*, com uma gama de aplicação inferior a 20,0000 g, sujeita a calibração bienal e verificação mensal.

Neste trabalho não foram efetuadas as leituras mediante o reconhecimento dos códigos de barras associados às cuvets, mas usou-se o procedimento clássico. No entanto as medidas foram efetuadas durante uma rotação completa das cuvets. O equipamento realiza dez medições, tal como mostra a Figura 4.2 excluindo os erros que podem resultar de riscos, sujidade ou defeitos no vidro da cuvete.

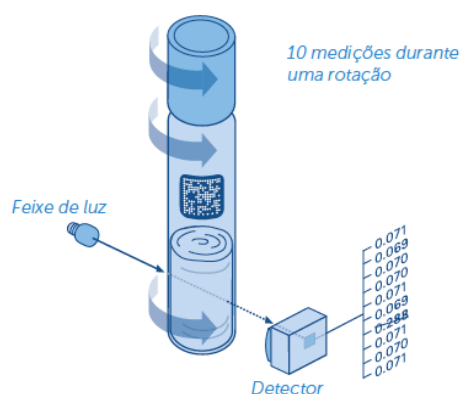


Figura 4.2 Procedimento de medição no Fotómetro DR 3900 Hach Lange (Hach, 2016)

As medidas efetuadas nesses pontos são rejeitadas, permitindo assim uma medição automática correta e de confiança.

4.3. Preparação de soluções

Solução padrão de referência de hidrogenofalato de potássio, 400 mg/L O₂ CQO

A solução foi preparada pesando 0,85 g de hidrogenofalato de potássio previamente seco a cerca de 120 °C durante 2 horas, dissolvendo e diluindo com água Milli-Q a 250 mL. Esta solução é preparada mensalmente.

Solução padrão *stock* de fluoreto de sódio 100 ppm

Para a preparação da solução pesou-se 221 mg de fluoreto de sódio, seco durante, aproximadamente, 2 h a 120 °C dissolveu-se em 500 mL de água Milli-Q e aferiu-se a 1000 mL.

Solução padrão de fluoreto de sódio 10 ppm

Retiraram-se 100 mL da solução *stock* de fluoreto de sódio 100 ppm para um balão de 1000 mL e completou-se o volume com água Milli-Q.

Solução padrão *stock* de sulfureto de sódio 1000 mg/L S²⁻

Ferveu-se cerca de 1,5 L de água Milli-Q durante 1 hora qual foi usada para todo o processo de preparação de soluções de sulfureto a usar na construção da curva de calibração.

Pesou-se cerca de 0,75 g de sulfureto de sódio nano hidratado para um balão de 100 mL, e aferiu-se com a água Milli-Q previamente fervida e arrefecida. Na preparação deve evitar-se o contacto com o ar atmosférico devido ao risco de oxidação e ao cheiro libertado pela solução. Por estes motivos a solução foi preparada diariamente.

Solução padrão de sulfureto de sódio a 20 mg/L S²⁻

Pipetou-se 10 mL da solução padrão *stock* de sulfureto 1000 mg/L S²⁻ para um balão de 500 mL e aferiu-se com água Milli-Q previamente fervida e arrefecida.

4.4. Amostras

Foram analisadas 28 amostras de águas naturais e 13 de águas residuais provenientes de Portugal continental. Por motivos da confidencialidade não se especifica as proveniências das amostras analisadas neste trabalho (rios, albufeiras) e respetivos pontos de amostragem. As amostras foram identificadas por um código constituído por três ou quatro dígitos.

As amostras utilizadas para a determinação de CQO foram colhidas principalmente na zona do Tejo, as destinadas ao doseamento de fluoretos na região Norte e Centro e entre outras amostras de águas naturais e residuais, respetivamente.

Não foram determinadas amostras de sulfuretos devido a ausência de teores desse composto em águas naturais e superficiais.

4.5. Procedimento experimental

4.5.1. Determinação de CQO

O método usado aplica-se a águas naturais e residuais para determinar valores de CQO numa gama entre 10 e 60 mg/L O₂. No entanto pode aplicar-se a amostras de concentração mais elevada desde que previamente diluídas.

A determinação de CQO nas amostras foi efetuada através do método fotométrico, utilizando a curva de calibração disponibilizada no software do equipamento ou aplicando uma curva construída no laboratório.

Foram construídas duas curvas de calibração para a determinação de CQO, uma a partir da solução padrão do hidrogenofalato de potássio preparada em laboratório com a concentração 400 mg/L O₂ e outra com o padrão 300 mg/L O₂ comercializado pela *Hach Lange*.

Foram usadas cuvetes *LCK 1414 Hach Lange* as quais contêm os mesmos reagentes aos usados no método tradicional (dicromato de potássio, sulfato de mercúrio e sulfato de prata), embora em menor quantidade. As leituras de absorvância foram realizadas a comprimento de onda de 348 nm.

4.5.1.1. Construção das curvas de calibração e análise das amostras

Para a construção das curvas de calibração a partir do padrão preparado em laboratório e do adquirido à *Hach* foram utilizados balões de 100 mL.

Na curva de calibração determinada com base no padrão preparado no laboratório (400 mg/L O₂) usaram-se padrões com concentração final numa gama de 5 e 40 mg/L O₂. A Tabela

4.2 mostra o volume de padrão de laboratório, pipetado em mL, para a preparação de cada padrão. Este volume da solução de hidrogenoftalato de potássio 400 mg/L foi, posteriormente, diluído em balão aferido com água Milli Q.

As soluções padrão de 5,10, 20 e 40 mg/L O₂ foram usadas como padrões de controlo para avaliação da curva de calibração.

Tabela 4.2 Padrões de calibração CQO (Padrão de Laboratório)

<i>Cuvete</i>	<i>Conc. final (mg/L O₂)</i>	<i>Vol. a pipetar (mL)</i>
Branco	0	0
Pd1	5	1,25
Pd2	10	2,5
Pd3	15	3,75
Pd4	20	5
Pd5	30	7,5
Pd6	40	10

Foi medida e registada a absorvância de todos os padrões para a construção da curva de calibração (absorvância em função da concentração).

A curva de calibração construída a partir de Padrão *Hach* (300 mg/L O₂) utilizou padrões de concentração entre 6 e 60 mg/L O₂. Na Tabela 4.3 figuram os valores de volume que foram pipetados para balões de 100 mL.

As soluções padrão de 6, 9, 24, 36 e 60 mg/L O₂ foram usados como padrões de controlo para avaliação da curva de calibração.

Tabela 4.3 Padrões de calibração CQO (Padrão *Hach*)

<i>Cuvete</i>	<i>Conc. Final (mg/L O₂)</i>	<i>Vol. a pipetar (mL)</i>
Branco	0	0
Pd1	6	2
Pd2	9	3
Pd3	12	4
Pd4	24	8
Pd5	36	12
Pd6	48	16
Pd7	60	20

Em seguida procedeu-se à leitura dos valores de absorvância de cada um dos padrões para o traçado da respetiva curva de calibração.

Para a medida de absorvância usou-se o mesmo procedimento para ambas curvas, tendo sido seguidos os seguintes passos:

- Antes de adicionar cada solução padrão, a cuvete foi limpa e devidamente agitada de modo a homogeneizar os reagentes;
- Adicionou-se à cuvete 2 mL do padrão de menor concentração;
- Agitou-se e procedeu-se à digestão durante 2h a 148 °C;
- Deixou-se arrefecer até à temperatura de 18 – 20 °C e procedeu-se à leitura de absorvância no Fotómetro.
- Repetiu-se o procedimento para as restantes soluções padrão;
- Foi efetuado um ensaio a branco para ajuste do zero.

A curva de calibração foi determinada após as leituras de absorvância de todos os padrões e em seguida foi aplicada na análise dos padrões de controlo e amostras, sendo os resultados de CQO expressos em mg/L O₂.

Na análise das amostras procedeu-se de modo idêntico ao descrito anteriormente, substituindo as soluções padrão por igual volume da amostra.

O valor de absorvância da amostra foi introduzido na equação da curva de calibração e o equipamento forneceu o resultado de CQO em mg/L O₂.

4.5.2. Doseamento dos fluoretos

Este método aplica-se em águas naturais, de abastecimento e residuais para concentrações entre a 0,2 e 2,5 mg/L de F⁻, podendo estender-se a concentrações superiores por diluição prévia da amostra a analisar.

A quantificação do ião do fluoreto foi efetuada através de um método de fotométrico utilizando a curva de calibração construída no laboratório. A leitura foi realizada em cuvetes LCK 323 a um comprimento de onda de 580 nm.

4.5.2.1. Construção da curva de calibração e análise das amostras

Durante a construção da curva de foram usados balões de 100 mL. As soluções padrão usadas na calibração foram preparadas a partir de uma solução padrão de fluoreto de sódio 10 mg/L F⁻ com a concentração final variando numa gama de 0,1 e 2,5 mg/L F⁻. A Tabela 4.4 apresenta os volumes necessários à preparação dos padrões.

Tabela 4.4 Padrões de calibração de fluoretos (mg/L F⁻)

Cuvete	Conc. Final (mg/L F ⁻)	Vol. a pipetar (mL)
Branco	0	0
Pd1	0,1	1
Pd2	0,2	2
Pd3	0,5	5
Pd4	1	10
Pd5	2	20
Pd6	2,5	25

O volume a pipetar (mL) representa a quantidade da solução padrão de fluoreto de sódio 10 mg/L F⁻ a ser pipetada para um balão de 100 mL. Após aferição com água, procede-se à determinação da absorvância das soluções.

Procedeu-se ao ajuste do zero do fotómetro usando a cuvete *LCK 323* antes de adicionar a solução padrão.

Em seguida adicionou-se 3 mL do padrão (0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2 e 2,5 mg/L F⁻) na cuvete, agitou-se e deixou-se em repouso durante 1 minuto para desenvolvimento da cor, após o que se efetuou a leitura do valor de absorvância.

A curva de calibração foi construída após a leitura de absorvância de todos os padrões e foi gravada no equipamento onde serão feitas as leituras de absorvância dos padrões de controlo e amostras. As soluções padrão de 0,2; 0,3 e 0,35 mg/L F⁻ foram usadas como padrões de controlo para a avaliação da curva de calibração.

A partir da curva de calibração foi possível determinar os teores de fluoretos nos padrões e amostras expressos em mg/L F⁻.

Na análise das amostras foi usado um procedimento idêntico ao apresentado anteriormente, substituindo 3 mL de padrão por idêntico volume de amostra.

4.5.3. Quantificação dos sulfuretos

Este método aplica-se em águas residuais para concentrações de sulfuretos entre os 0,1 e 2,0 mg/L S²⁻, podendo ser estendida a gama de aplicação para amostras mais concentradas desde que previamente diluídas.

No processo da quantificação do sulfureto foi usada a cuvete *LCK 653 da Hach Lange* para a gama de aplicação acima referida e a solução de sulfuretos da *Hach Lange LCK 653 A*.

4.5.3.1. Construção da curva de calibração e análise das amostras

No decorrer da construção da curva de calibração de sulfureto utilizaram-se os balões de 100 mL. As soluções padrão apresentaram uma concentração final na gama de 0,1 e 2,0 mg/L S²⁻ e foram preparadas a partir de uma solução *stock* 20 mg/L S²⁻, pipetando os volumes apresentados na Tabela 4.5 para os respetivos balões e perfazendo ao volume com água Milli-Q previamente fervida e arrefecida.

Tabela 4.5 Padrões de calibração de sulfuretos (mg/L S²⁻)

Cuvete	Conc. Final (mg/L S ²⁻)	Vol. a pipetar (mL)
Branco	0	0
Pd1	0,1	0,5
Pd2	0,2	1
Pd3	0,4	2
Pd4	0,5	2,5
Pd5	1	5
Pd6	1,5	7,5
Pd7	2	10

Em seguida, foram determinados os valores de absorvância das soluções padrão os quais foram usados na construção da curva de calibração.

As soluções de 0,2, 1,0 e 2,0 mg/L S²⁻ foram usadas como padrões de controlo para a avaliação da curva de calibração.

Para a construção da curva de calibração, seguiram-se os seguintes passos:

- A cuvete foi limpa antes de qualquer leitura;
- Adicionou-se 4 mL do padrão 1,0 mg/L S²⁻ e 0,2 mL da solução *LCK 653A* a cada cuvete;
- Agitou-se e em seguida deixou-se repousar durante 10 minutos com o intuito de desenvolver a cor;
- Limpou-se e efetuou-se a leitura da absorvância.

A curva de calibração foi utilizada na análise dos padrões de controlo e amostras. Os resultados das leituras foram expressos em mg/L S²⁻.

Na análise das amostras procedeu-se de forma idêntica ao descrito anteriormente, substituindo 4 mL de padrão por igual volume de amostra. Por substituição do valor de

absorvância na equação da curva de calibração foi determinado o valor da concentração em mg/L S²⁻.

Capítulo 5

Apresentação e discussão dos resultados

5. Apresentação e discussão dos resultados

Neste capítulo, segue-se a apresentação e discussão dos resultados na aplicação dos testes em cuvetes da *Hach Lange* para os parâmetros da avaliação físico química de águas naturais e residuais.

5.1. Validação dos métodos de análise de CQO, fluoretos e sulfuretos

5.1.1. CQO

5.1.1.1 Linearidade das curvas de calibração

De acordo com o guia de validação de métodos analíticos (RELACRE, 2000), a linearidade de gama de trabalho pode ser avaliada pelo coeficiente de correlação (r) o qual deve ser superior a 0,995, sendo considerado um bom critério para a decisão.

A avaliação da linearidade foi também realizada de acordo com a norma ISO 8466 parte 1 e 2, onde foi calculada a função da calibração linear e não linear e calculados os respetivos desvios padrão residuais (ISO 8466-1, 1990).

Com o mesmo propósito aplicou-se o teste de homogeneidade das variâncias com base nas diferenças das variâncias (DS^2) e desvio padrão residual não linear (S^2_{y2}). Calculou-se o valor de PG e comparou-se com o valor tabelado da distribuição F de Snedecor para tomar uma decisão quanto a existência da linearidade, se $PG \leq F_{\text{crítico}}$ a função a calibrar é linear para um nível de significância de 99% com número de graus de liberdade a cada função igual a 1 e N-3, onde N representa o número de padrões de cada curva de calibração.

Foram usados sete padrões para avaliar a linearidade da curva de calibração para quantificação de CQO, preparados a partir da solução padrão de 400 mg/L O₂ preparada no laboratório e da solução padrão 300 mg/L O₂ comercializada pela *Hach Lange*, cuja gama de trabalho indicada pelo fabricante é de 5 a 60 mg/L O₂.

A partir dos valores Tabela 5.1 traçou-se a curva de calibração para padrão do laboratório (Figura 5.1) e igualmente por intermédio dos valores da Tabela 5.3, foi traçada a curva de calibração utilizando os valores da concentração teórica em função da absorvância (Figura 5.2) esta operação é efetuada automaticamente pelo equipamento após a leitura de todos os padrões. Foi realizado um ensaio a branco para ajustar o sinal do equipamento a zero.

Tal como referido no ponto 5.1.1, foi usada a mesma gama de trabalho, mas diferentes concentrações. Os seis padrões foram preparados com a solução padrão de hidrogenoftalato de potássio 400 mg/L O₂.

Tabela 5.1 Valores utilizados para a construção da curva de calibração de CQO com padrão do laboratório

Soluções padrão	Concentração teórica (mg/L O ₂)	Absorvância
Pd1	5	-0,153
Pd2	10	-0,247
Pd3	15	-0,353
Pd4	20	-0,463
Pd5	30	-0,697
Pd6	40	-0,898

Foram usados os valores da Tabela 5.1 para traçar a curva de calibração da concentração teórica em função da absorvância (Figura 5.1)

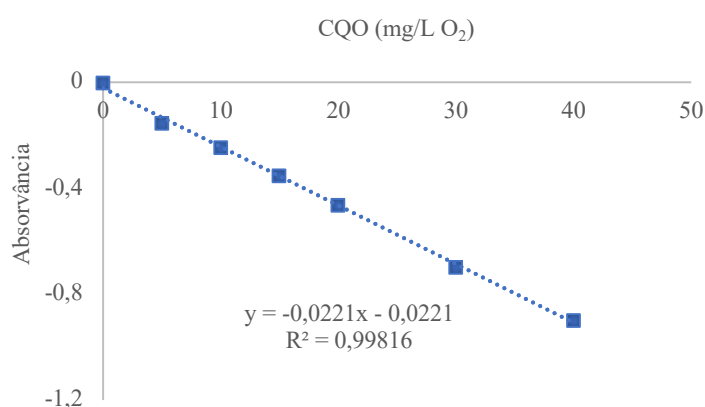


Figura 5.1 Curva de Calibração CQO padrão do laboratório

Calculou-se a percentagem do desvio (Rin%) através da concentração teórica relativamente a concentração lida na reta para padrão do laboratório através da equação seguinte:

$$Rin\% = \frac{(ConcLida - ConcTeorica)}{\left(\frac{ConcLida + ConcTeorica}{2}\right)} \times 100 \quad 5.1$$

Sendo:

- Rin%: Percentagem de desvio entre o valor esperado e o obtido;
- ConcLida: Concentração lida na reta em mg/L O₂;
- ConcTeórica: Concentração em mg/L O₂ relativa a gama de trabalho (5 - 50 mg/L O₂)

Tabela 5.2 Concentração determinada na curva de calibração CQO padrão do laboratório e o desvio relativamente aos valores da concentração teórica

Soluções padrão	Concentração lida na Reta (mg/L O ₂)	Desvio Rin%
Pd1	5,92	16,85
Pd2	10,22	2,18
Pd3	14,99	-0,07
Pd4	20,09	0,45
Pd5	30,68	2,24
Pd6	39,64	-0,90

Como se pode notar, na Tabela 5.2 verificou-se um ligeiro afastamento dos valores da concentração teórica em comparação com os da concentração lida na reta. Este desvio deveu-se ao processo de manuseamento e erros a pipetar volumes reduzidos.

Tabela 5.3 Valores utilizados para a construção da curva de calibração CQO padrão da Hach.

Soluções padrão	Concentração teórica (mg/L O ₂)	Absorvância
Pd1	6	-0,103
Pd2	9	-0,196
Pd3	12	-0,237
Pd4	24	-0,495
Pd5	36	-0,716
Pd6	48	-0,979
Pd7	60	-1,211

Foram usados os valores da Tabela 5.3 para traçar a curva de calibração da concentração teórica em função da absorvância (Figura 5.2).

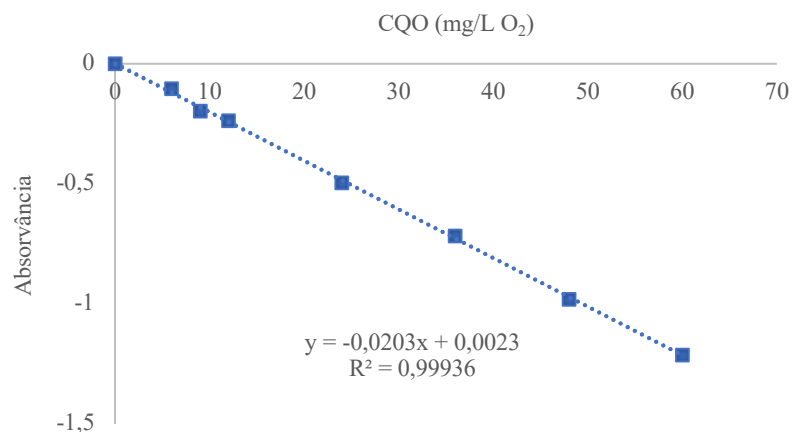


Figura 5.2 Curva de Calibração CQO Padrão da Hach

Tabela 5.4 Concentração obtida através da curva de calibração CQO padrão da Hach e o desvio relativamente aos valores da concentração teórica

Soluções padrão	Concentração lida na Reta (mg/L O ₂)	Desvio Rin%
Pd1	5,4	-10,5
Pd2	9,86	9,1
Pd3	11,89	-0,9
Pd4	24,45	1,9
Pd5	35,38	-1,7
Pd6	48,37	0,8
Pd7	59,88	-0,2

Determinou-se Rin% para o padrão da *Hach*, tal como referido anteriormente, o manuseamento e condições a pipetar volumes reduzidos influenciam diretamente o tal afastamento dos valores lidos em relação aos valores teóricos.

Teste de homogeneidade das variâncias

Determinam-se as variâncias associadas ao primeiro e último padrão, com o objetivo de testar as diferenças significativas entre elas, nos limites de gama de trabalho. Estas diferenças foram testadas para CQO padrão do laboratório 9 mg/L O₂ e 40 mg/L O₂, igualmente para CQO padrão da *Hach* 9 mg/L O₂ e 60 mg/L O₂, em condições de repetibilidade. Efetuou-se o cálculo do valor de PG segundo as equações 3.2 e 3.3 que posteriormente se comparou com o valor tabelado da distribuição F Snedecor, para n-1 graus

de liberdade. Na Tabela 5.5 são apresentados os resultados dos ensaios de repetibilidade e da aplicação do teste de homogeneidade de variâncias.

Tabela 5.5 Teste de homogeneidade das variâncias para CQO padrão do laboratório

Nº Ensaios	Padrão do Laboratório		Padrão da Hach	
	Padrão 9 mg/L O ₂	Padrão 40 mg/L O ₂	Padrão 9 mg/L O ₂	Padrão 60 mg/L O ₂
1	9,19	38,75	9,14	58,35
2	8,44	38,70	9,58	57,60
3	8,35	38,81	8,85	58,32
4	8,73	39,55	8,98	58,37
5	9,09	38,57	9,11	57,07
6	9,13	38,36	9,58	58,33
7	9,48	39,45	8,95	57,87
8	9,35	38,38	9,48	58,64
9	9,50	38,42	8,98	59,05
10	9,20	38,50	9,08	58,75
Graus de liberdade	9	9	9	9
Média	9,05	38,75	9,17	58,235
Variância	1,65x10⁻¹	1,8x10⁻¹	7,42x10⁻²	3,34x10⁻¹
PG		1,09		4,54
P-value		0,898		0,0342
F_{Snedecor} (0,01;9;9)		5,351		5,351

Formulação das hipóteses:

Padrão do laboratório:

Hipótese nula (H₀): as variâncias são iguais, ou seja, $\sigma^2_{Pd_9} = \sigma^2_{Pd_40}$

Hipótese alternativa (H₁): as variâncias são diferentes, ou seja, $\sigma^2_{Pd_9} \neq \sigma^2_{Pd_40}$

Padrão da *Hach*:

Hipótese nula (H₀): as variâncias são iguais, ou seja, $\sigma^2_{Pd_9} = \sigma^2_{Pd_60}$

Hipótese alternativa(H₁): as variâncias são diferentes, ou seja, $\sigma^2_{Pd_9} \neq \sigma^2_{Pd_60}$

Provou-se que o valor de PG (Tabela 5.5) para os dois padrões (Laboratório e *Hach*) é inferior ao F_{crítico}, pelo que se pode concluir que as hipóteses nulas parecem ser verdadeiras, não existindo as diferenças significativas entre as variâncias.

Baseando no valor da prova (P-value), para padrão do laboratório e da *Hach*, igual a 89,8% e 3,42%, superiores ao nível de significância, então não se rejeitam as hipóteses nulas.

Conclui-se que as variâncias nos limites da gama de trabalho parecem ser idênticas como se pode ver na Tabela 5.5.

Elaboraram-se as cartas de controlo para o padrão 9, 40 e 60 mg/L O₂ com o propósito de determinar a variabilidade do processo de ensaio em condições de repetibilidade.

Calculou-se a média através da soma de valores dos ensaios dividida pelo número de observações, o limite superior e/ou inferior de controlo pela média adicionado e/ou subtraído pelo produto de três pelo desvio padrão. Igualmente determinou-se os limites de aviso (superior e inferior) pela média adicionada e/ou subtraída pelo produto de dois vezes o desvio padrão.

Na Figura 5.3 apresentam-se as cartas de controlo para padrões 9 e 40 mg/L O₂. Verificou-se que os pontos se encontram dentro dos limites de aviso tanto superior como inferior. Para os dois padrões o processo está sob controlo.

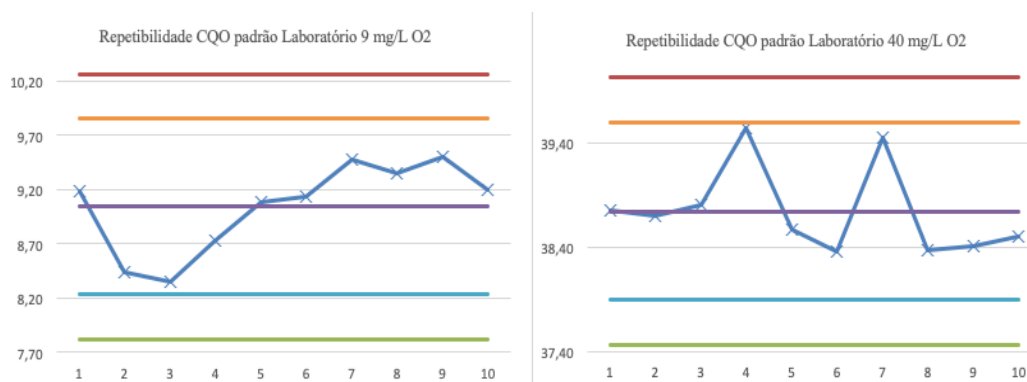


Figura 5.3 Cartas de controlo para ensaios de repetibilidade CQO padrão do laboratório 9 e 40mg/L O₂

Igualmente no caso das cartas de controlo para padrões 9 e 60 mg/L O₂ (padrão da *Hach*), todos os pontos estão dentro dos limites de aviso (superior e inferior). Portanto, para os dois padrões o processo encontra-se sob controlo (Figura 5.4).

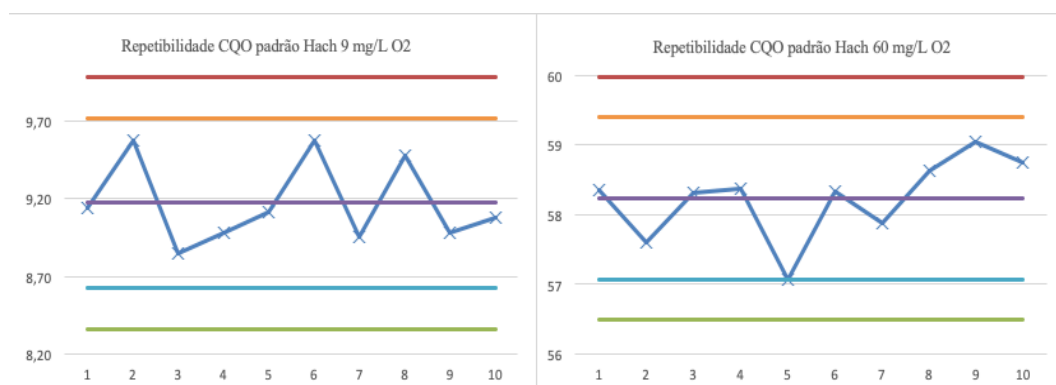


Figura 5.4 Cartas de controlo para ensaios de repetibilidade CQO padrão da Hach 9 e 60mg/L O₂

Avaliou-se a homogeneidade das variâncias comparando o valor de PG com F da distribuição Snedecor para N-3 graus de liberdade (valor de $F_{\text{crítico}}$).

Tabela 5.6 Avaliação da homogeneidade de variâncias

Analito	Curva de Calibração	r^2	Valor de PG	$F_{\text{crítico}}$
CQO Pd Hach	$y = 0,0029 - 0,0203 x$	0,9992	0,13	13,75
CQO Pd Lab	$y = -0,0356 - 0,0216 x$	0,9991	-0,35	16,26

Os valores de PG apresentados na Tabela 5.6 são inferiores ao valor tabelado da distribuição F Snedecor, existe homogeneidade de variâncias, sendo possível confirmar a linearidade das curvas de calibração CQO (padrão do laboratório e Hach).

Igualmente, na avaliação das curvas de calibração confirmou-se também a existência da linearidade através da verificação visual e pela avaliação do coeficiente de determinação (r^2).

Relativamente aos coeficientes de determinação (r^2) das curvas, os seus valores são superiores a 0,995 cumprindo assim o critério recomendado para este parâmetro essencial em validação.

Este teste da avaliação da homogeneidade das variâncias foi aplicado apenas para o parâmetro CQO, uma vez que era o método que pretendia implementar em primeiro lugar.

5.1.1.2 Limiares analíticos

Para a determinação dos limiares analíticos, tal como descrito no ponto 3.1.3, podem ser utilizadas as várias abordagens existentes na literatura cuja seleção está também dependente do critério interno do laboratório em questão.

Com base nas equações 3.10 e 3.11, foram calculados os limites de deteção (LD) e limites de quantificação (LQ), apresentados na Tabela 5.7.

A precisão e exatidão do limite de quantificação foram avaliadas com base na análise do coeficiente de variação de dez leituras efetuadas junto ao LQ da curva de calibração preparada ao longo do tempo e em condições de precisão intermédia.

Neste trabalho foi considerado o primeiro ponto da curva de calibração respeitando a gama definida pela *Hach Lange*, ou seja, foram realizados no mínimo dez ensaios com o padrão do laboratório de concentração 5 mg/L O₂ e padrão da *Hach* de 6 mg/L O₂.

Após vários ensaios com estes padrões, como os coeficientes de variação foram superiores a 10 %, testou-se o padrão de concentração 9 mg/L O₂ (padrão do laboratório e da *Hach*) tendo-se obtido um valor de coeficiente de variação (CV%) aceitável 4,50 e 3, respetivamente.

Deste modo, o valor de LD foi determinado de acordo com o guia RELACRE através da equação 3.10 considerando o padrão 9 mg/L O₂. Os resultados são apresentados na Tabela 5.7, bem como os valores de LQ calculados através da equação 3.11.

Tabela 5.7 Limiares analíticos do método fotométrico para CQO

CQO	LD (mg/L O ₂)	LQ (mg/L O ₂)
Pd Lab	4,37	13,12
Pd <i>Hach</i>	3,97	11,90

Como descrito no guia Relacre e segundo as indicações da IUPAC, o valor do CV% não deve exceder o 10%, de modo a poder concluir que no limite de quantificação definido se obtém uma boa precisão e exatidão satisfatória como se pode ver na Tabela 5.7 encontram-se os valores de LD e LQ.

5.1.1.3 Precisão

Na avaliação deste parâmetro de dispersão dos resultados entre ensaios independentes e repetidos sobre uma amostra ou padrões, optou-se por examinar a repetibilidade para padrão do laboratório e da *Hach* e também reprodutibilidade para ensaios com o padrão de laboratório.

5.1.1.3.1 Repetibilidade

De acordo com a definição de repetibilidade apresentada no ponto 3.1.4.1 foram determinados a média, o desvio padrão, o coeficiente de variação (CV%), a percentagem da

diferença ($Rin\%$) e o limite da repetibilidade (LR), correspondentes a 10 ensaios em condições de repetibilidade para CQO (padrão do laboratório e *Hach*) para as concentrações de 10, 20, 24 e 36 mg/L O₂ conforme se apresenta na Tabela 5.8.

Tabela 5.8 Ensaio de Repetibilidade CQO com o padrão do laboratório em concentração 10 e 20 mg/L O₂ e padrão da *Hach* de concentração 24 e 36 mg/L O₂

Ensaio	Concentração Padrão Lab 10 mg/L O ₂	Concentração Padrão Lab 20 mg/L O ₂	Concentração Padrão Hach 24 mg/L O ₂	Concentração Padrão Hach 36 mg/L O ₂
1	8,57	19,72	24,70	38,51
2	8,00	19,51	24,99	38,25
3	8,01	19,97	24,74	38,85
4	8,44	19,08	24,33	38,66
5	8,02	19,35	24,72	38,27
6	8,15	19,97	25,00	39,19
7	8,36	19,02	24,88	38,96
8	8,07	19,24	24,73	38,62
9	8,21	19,98	24,43	38,61
10	8,30	19,08	25,61	38,60
Média	8,22	19,49	24,81	38,65
Desvio Padrão	0,2	0,39	0,35	0,29
CV%	2,44	2,1	1,5	0,8
Rin%	6,94	4,93	5,16	2,43
LR	0,56	1,10	0,99	0,81

Como se pode ver, o valor do CV% foram todos inferiores a 10% de formas que este parâmetro apresenta uma boa precisão em condições de repetibilidade.

As representações gráficas que se seguem, ilustram as variações observadas durante a avaliação da repetibilidade para CQO padrão do laboratório e da *Hach*.

Com a finalidade de compreender a variabilidade do processo de ensaio de repetibilidade, traçaram-se as cartas de controlo para os padrões 10, 24, 36 e 40 mg/L O₂.

Observando para a Figura 5.5 nota-se que o processo se encontra sob controlo, os valores de ensaios variam em torno da média, tendo em conta que em alguns dos casos verificou-se pontos que se aproximam dos limites de aviso.

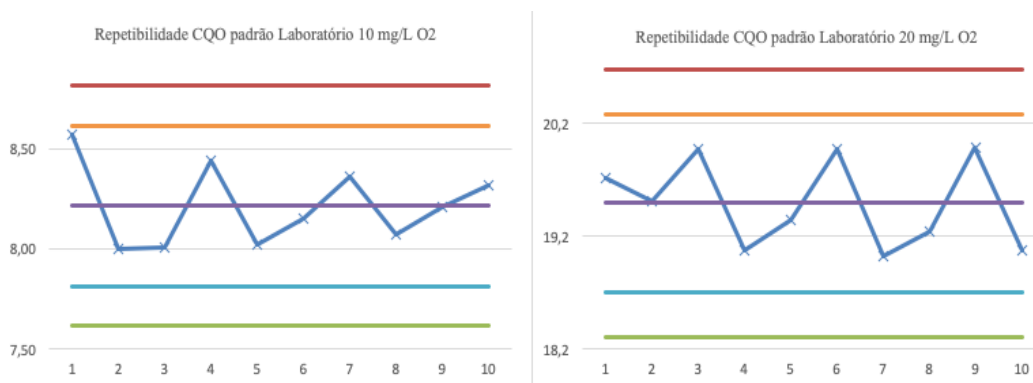


Figura 5.5 Cartas de controlo de repetibilidade CQO padrão do laboratório 10 e 20 mg/L O₂

Na Figura 5.6 para o padrão 24 mg/L O₂ verificou-se que um ponto se encontra fora do limite de aviso superior, enquanto que para o padrão 36 mg/L O₂ todos os valores se encontram fora dos limites de aviso. Contudo, para os dois padrões o processo está sob controlo, tendo em consideração que alguns pontos se aproximam dos limites de controlo.

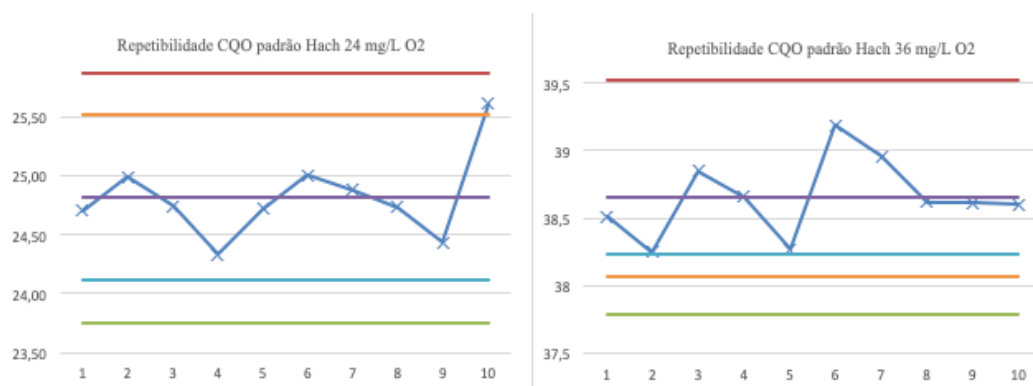


Figura 5.6 Cartas de controlo de repetibilidade CQO padrão Hach 24 e 36mg/L O₂

5.1.1.3.2 Reprodutibilidade

O ensaio da reprodutibilidade foi uma das metodologias usadas para determinar a robustez do método ao longo do tempo. A avaliação deste parâmetro foi efetuada em dias diferentes pelo mesmo analista em condições idênticas.

Como se pode ver na Tabela 5.9, efetuou-se ensaios de reprodutibilidade para os padrões de controlo 10 e 40 mg/L O₂ correspondentes a CQO padrão do laboratório e da *Hach*. O número de padrões ensaiados foi inferior a dez, pelo que este critério de validação teria efeito se cumprisse esse requisito.

Tabela 5.9 Ensaio de reprodutibilidade CQO padrão da Hach 10 mg/L O₂ e padrão do laboratório 10 e 40 mg/L O₂.

Ensaio	Concentração (mg/L O ₂)		
	Padrão Hach	Padrão laboratório	
	Padrão 10	Padrão 10	Padrão 40
1	10,69	10,27	39,64
2	11,94	10,16	39,55
3	11,22	9,86	37,46
4	11,29	10,22	39,73
5	11,5	10,05	39,93
Média	11,33	10,11	39,26
Desvio Padrão	0,45	0,16	1,02
CV%	4,01	1,61	2,59

Os resultados obtidos no ensaio de reprodutibilidade, apesar de número de padrão ensaiados ter sido inferior a dez, cumpriram o critério do valor dos coeficientes de variação ser inferior a 10%.

5.1.1.4 Exatidão

Participou-se no ensaio interlaboratorial, para avaliar a exatidão do método fotométrico para CQO, tal como se definiu em 3.1.5.1 exprime a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceite como verdadeiro. Também foi feita a comparação de valores de CQO (padrão do laboratório e *Hach*) com os resultados do método de referência (MMA40) ou método do dicromato de potássio.

O ensaio interlaboratorial constitui um dos critérios mais importantes na validação de métodos analíticos, sendo uma das exigências da entidade acreditadora (IPAC). O LRA da APA participa em ensaios anuais promovido por várias entidades de modo a assegurar a avaliação do desempenho do laboratório e a competência técnica face aos parceiros e de modo a implementar ações corretivas e preventivas depois da análise dos resultados obtidos.

Nesta avaliação definiu-se o critério de aceitação que é: $CA = -3 < Z\text{-score} < 3$.

Determinou-se o valor de desempenho (*Z-score*) através da equação 3.13 para MMA40, método fotométrico usando o padrão do laboratório e o padrão da *Hach*.

Como se pode ver na Tabela 5.10, os valores de *z-score* cumprem o critério de aceitação (CA) exceto o do AQ537 método fotométrico Pd Lab para águas naturais cujo valor se encontra fora do critério. Portanto conclui-se que os restantes ensaios para águas naturais e

residuais têm uma resposta que cumpre os critérios definidos, evidenciando a adequada exactidão do método.

Tabela 5.10 Ensaio interlaboratorial de CQO (MMA40, método fotométrico com padrão do laboratório e da Hach)

Amostra	Código	Método	Valor obtido	Valor alvo	SDPA	Z-score
Água residual	AQ535	MMA40	193,6	171,4	14,52	1,5
Água residual	AQ535	Fotométrico Pd Lab	197,8	171,4	14,52	1,8
Água natural	AQ537	MMA40	171,4	193,6	12,86	-1,7
Água natural	AQ537	Fotométrico Pd Hach	171,75	193,6	12,86	-1,7
Água natural	AQ537	Fotométrico Pd Lab	149,55	193,6	12,86	-3,4

5.1.1.5 Estimativa da incerteza

Como a etapa final do processo de validação do método de análise de CQO dos testes em cuvetes da *Hach Lange*, procedeu-se à estimativa das incertezas associadas à precisão e à exatidão.

A incerteza correspondente à exatidão foi calculada mediante o tratamento dos resultados do ensaio interlaboratorial de CQO, determinados a partir das curvas de calibração do padrão do laboratório e da *Hach*.

Foi estimada a incerteza para a precisão utilizando os valores da reprodutibilidade, ou seja, foi efetuada um estudo intra-laboratorial dos padrões de controlo preparados a partir do laboratório com a concentração 10 e 40 mg/L O₂.

A incerteza combinada (*U*_{combinada}) e a expandida (*U*_{expandida}) foram quantificadas utilizando as equações apresentadas no ponto 3.1.6.

A estimativa da exatidão:

A incerteza correspondente a 1,2% foi estimada com base nos valores dos três EIL para padrão do laboratório e da *Hach*, como se pode ver na Tabela 5.11, em termos dos EIL considerou-se este resultado como satisfatório para o método fotométrico, calculado através da equação 3.15.

Tabela 5.11 Estimativa da incerteza com base nos resultados do ensaio interlaboratorial

Método	EIL	X _{ref}	X _{lab}	Diferenças ou RIN (%)	Desvio padrão das diferenças	Incerteza exatidão
Fotométrico Pd Lab	AQ535	171,4	197,8	15,40		
Fotométrico Pd Hach	AQ537	193,6	171,75	11,29	5,81	1,2 %
Fotométrico Pd Lab	AQ537	193,6	149,55	22,75		

Estimativa da incerteza associada à precisão:

Para o cálculo da estimativa da incerteza associada a precisão, usaram-se os valores da Tabela 5.9 relativamente ao padrão do laboratório para as concentrações de 10 e 40 mg/L O₂, e foi aplicada a equação 3.14 como se pode ver no ponto 3.1.6.

A incerteza combinada e expandida foi estimada com os valores de reprodutibilidade. Como se pode ver na Tabela 5.12 as incertezas combinadas e expandida apresentam valores aceitáveis em unidades de percentagem, foram calculadas através das equações 3.16 e 3.17.

Tabela 5.12 Incerteza combinada vs. incerteza expandida para a componente precisão

Padrão de controlo	Concentração (mg/L O ₂)	U combinada	%	Uexpandida	%
1	10	0,29		0,57	
2	40	1,15	2,87	2,3	5,75

5.1.2 Fluoretos

No âmbito deste estágio foi iniciada a validação do método de análise de fluoretos em cuvetes da *Hach Lange*, tendo sido avaliada a linearidade da curva de calibração e a repetibilidade do método de análise.

Procedeu-se à avaliação da linearidade de curva de calibração dos fluoretos usando seis padrões preparados a partir de uma solução padrão de fluoreto de sódio 10 ppm e usando as cuvetes *LCK 323 Hach Lange*, para a gama de trabalho indicada pelo fabricante de 0,1 a 2,5 mg/L F⁻.

A curva de calibração de fluoretos (Figura 5.7, foi construída a partir dos valores da Tabela 5.13, após a leitura de absorvância de todos os padrões de calibração a 580 nm.

Tabela 5.13 Valores de absorvância dos padrões de calibração para análise de fluoretos

Soluções padrão	Concentração (mg/L F)	Absorvância
Pd1	0,1	-0,011
Pd2	0,2	-0,035
Pd3	0,5	-0,07
Pd4	1	-0,124
Pd5	2	-0,239
Pd6	2,5	-0,296

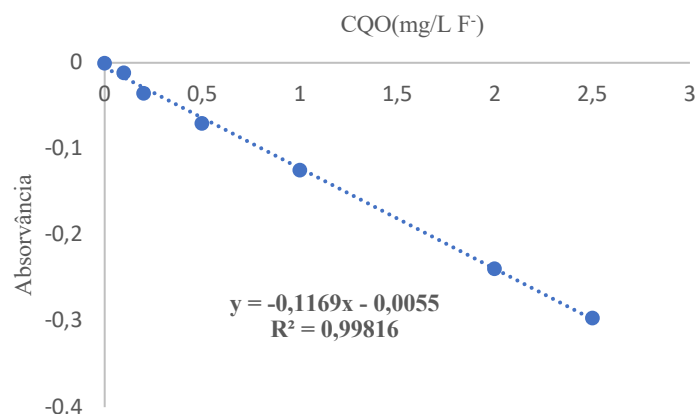


Figura 5.7 Curva de calibração de fluoretos

Na avaliação da linearidade de fluoretos não se aplicaram testes estatísticos, deste modo, procedeu-se com a avaliação do coeficiente de determinação e a verificação visual da curva. Em conclusão, verificou-se a linearidade da curva com o valor do coeficiente de determinação é igual a 0,998 superior a 0,995 estipulado no guia do Relacre.

Para a componente precisão do método de análise de fluoretos, avaliou-se a repetibilidade para os padrões de concentração 0,3 e 0,35 mg/L F⁻ cujos resultados se apresentam na Tabela 5.14.

Tabela 5.14 Ensaio de repetibilidade para soluções padrão de fluoretos 0,3 e 0,35 mg/L F⁻

Cuvete	Concentração padrão 0,3 mg/L F ⁻	Concentração 0,35 mg/L F ⁻
1	0,35	0,4
2	0,33	0,45
3	0,32	0,35
4	0,35	0,37
5	0,34	0,38
6	0,32	0,36
7	0,31	0,37
8	0,35	0,4
9	0,33	0,4
10	0,32	0,41
Média	0,33	0,39
Desvio Padrão	0,015	0,03
CV%	4,44	7,51
Rin%	0,12	0,26
LR	0,04	0,08

Os valores do coeficiente de variação (CV%) para os padrões 0,3 e 0,35 mg/L F⁻ encontram-se abaixo de 10%, em condições da repetibilidade e os resultados apresentam uma boa precisão.

Com o objetivo de avaliar a variabilidade dos resultados, traçaram-se cartas de controlo. Como se pode ver na Figura 5.8 a interpretação gráfica mostra-nos que as determinações foram feitas dentro da gama de aplicação das cuvetes com um valor máximo de 2,5 mg/L F⁻ e mínimo de 0,1 mg/L F⁻.

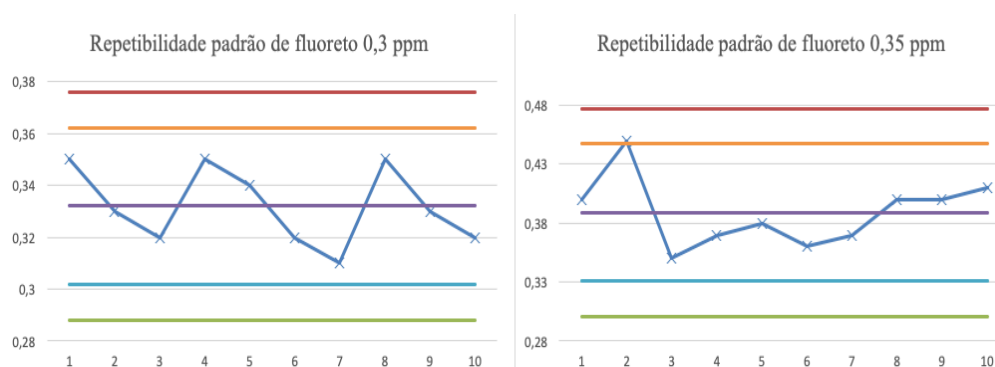


Figura 5.8 Cartas de controlo de repetibilidade padrão de fluoreto 0,3 e 0,35 mg/L F⁻

Todos os valores obtidos durante o ensaio encontram-se dentro dos limites de aviso (superior e inferior), em conclusão o processo de avaliação de repetibilidade para fluoreto encontra-se sob controlo.

5.1.3 Sulfuretos

A validação do método de análise de sulfuretos em águas foi também iniciada durante o estágio tendo sido avaliada a linearidade e a repetibilidade.

Para a avaliação da linearidade da curva de calibração de sulfuretos, foram preparados sete padrões a partir da solução padrão de concentração intermédia de sulfuretos 20mg/L S²⁻. Efetuou-se a quantificação deste parâmetro nas cuvetes *LCK 653 Hach Lange* para a gama indicada pelo fabricante de 0,1 a 2,0 mg/L S²⁻.

Na Tabela 5.15 apresentam-se valores utilizados na construção da curva de calibração do sulfuretos (Figura 5.9) a qual foi obtida pelo equipamento através de leituras de absorvância a 666 nm.

Tabela 5.15 Valores de absorvância dos padrões de calibração para análise de sulfuretos

Soluções padrão	Concentração (mg/L S ²⁻)	Absorvância
Pd1	0,1	0,049
Pd2	0,2	0,09
Pd3	0,4	0,208
Pd4	0,5	0,248
Pd5	1	0,53
Pd6	1,5	0,775
Pd7	2	1,018

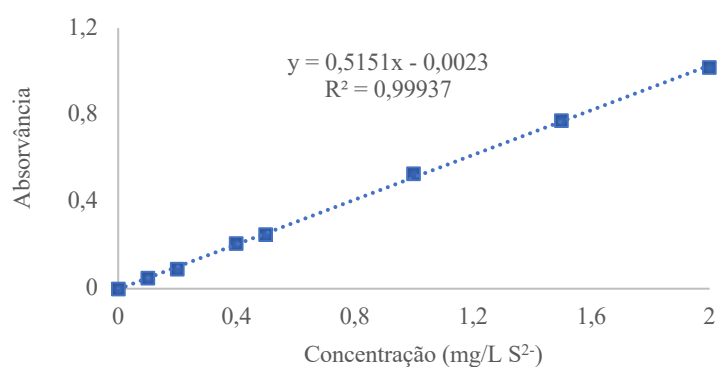


Figura 5.9 Curva de calibração de sulfuretos

Avaliou-se a linearidade da curva de calibração para o parâmetro sulfuretos por intermédio do coeficiente de determinação (0,999) e de igual modo, através da verificação visual da curva. Conclui-se que a curva é linear com coeficiente de determinação dentro do critério de aceitação, maior que 0,995 (Relacre)

Efetuuou-se o ensaio de repetibilidade para sulfuretos, como se pode ver na Tabela 5.16, seguidos das respetivas cartas de controlo Figura 5.10 para avaliar a variabilidade em torno da precisão do método.

Tabela 5.16 Ensaio de repetibilidade sulfuretos para padrão 0,2 mg/L S²⁻

Ensaio	Concentração Padrão sulfureto 0,2 mg/L S ²⁻	Concentração Padrão sulfureto 2 mg/L S ²⁻
1	0,21	2,11
2	0,20	2,19
3	0,19	2,02
4	0,21	2,09
5	0,20	2,07
6	0,21	2,02
7	0,20	2,03
8	0,19	2,08
9	0,19	1,90
10	0,20	2,00
Média	0,20	2,05
Desvio Padrão	0,01	0,08
CV%	4,1	3,8
Rin%	10	14,14
LR	0,02	0,22

Os valores obtidos para coeficiente de variação (CV%) foram inferiores a 5% (Tabela 5.16) então pode-se concluir que o método de análise apresenta uma boa precisão em condições de repetibilidade.

Como se pode ver na Figura 5.10, o padrão 1 mg/L S²⁻ encontra-se dentro do limite de aviso tanto superior como inferior, enquanto que o padrão 2 mg/L S²⁻ verifica-se dois pontos junto aos limites de aviso. Para os dois padrões o processo está sob controlo, embora alguns pontos se aproximem dos limites de controlo.

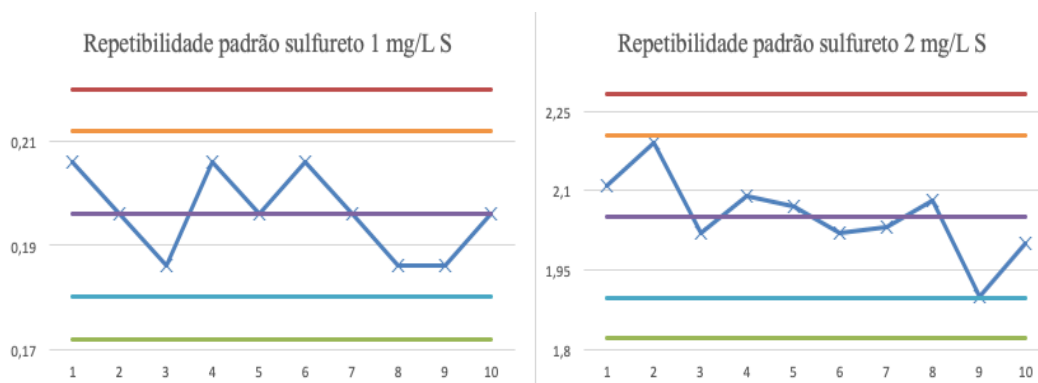


Figura 5.10 Cartas de controlo de repetibilidade padrão de sulfuretos 1 e 2 mg/L S²⁻

Para os dois padrões o processo está sob controlo, embora alguns pontos se aproximem dos limites de controlo.

5.2 Análise de amostras

5.2.1 Determinação de CQO

A *Hach Lange* estabeleceu a gama de aplicação para CQO (Figura 2.2) e durante este trabalho aplicou-se esta gama tanto para amostras de águas naturais, assim como as residuais.

Os resultados de CQO obtidos na análise de 28 amostras de águas naturais e 13 de águas residuais, usando o método fotométrico em cuvetes da *Hach Lange* com padrão do laboratório ou padrão da *Hach* são apresentados nas Tabelas 5.17 e 5.18. Estas Tabelas apresentam, também, a comparação dos valores obtidos pelos métodos em cuvetes da *Hach Lange* com os determinados pelo método de referência do laboratório.

Os resultados obtidos na análise das amostras foram comparados com os limites estabelecidos na legislação portuguesa. Para águas naturais (superficiais ou subterrâneas) destinadas a produção de água para o consumo humano, cumpriu-se com a legislação em vigor DL 236/98, de 1 de Agosto. Em relação a análise das amostras de águas residuais urbanas e industriais, constatou-se que em alguns dos casos se ultrapassou o limite de descarga para as duas situações, 125 mg/L O₂ conforme os artigos 5º e 6º Quadro nº.1 do DL 152/97, de 19 de Junho e 150 mg/L O₂ disposto no anexo XVIII do DL 236/98, de 1 de Agosto.

Conforme já foi referido, o LRA da APA dispõe de um método de referência validado para a determinação de CQO. O método implementado neste trabalho trata-se de testes em cuvetes da *Hach Lange* para determinação do mesmo parâmetro em águas naturais e residuais

A comparação visa compreender a proximidade dos resultados obtidos pelos dois métodos, efetuando análises em replicado e de forma separada sobre a mesma amostra usando os dois métodos distintos.

Calculou-se a Média pela soma do resultado de MMA40 com o método fotométrico padrão de laboratório ou da *Hach* e dividindo por dois e estimou-se a diferença dos resultados determinados pelos dois métodos, (Rn), pela subtração entre o resultado de MMA40 e do método fotométrico com padrão do laboratório ou da *Hach*, em valor absoluto.

A percentagem da diferença (Rin%) do método de referência em relação ao método fotométrico com padrão do laboratório, foi calculada efetuando a divisão do valor de Rn pela média dos resultados determinados pelos dois métodos e multiplicado por cem. Procedeu-se de igual modo em relação ao padrão da *Hach*.

Tabela 5.17 Comparação dos valores de CQO (mg/L O₂) obtidos pelo método Fotométrico (padrão do laboratório e da *Hach*) com o método de referência em amostras de águas naturais

Amostra	CQO(mg/L O ₂)			MM40 vs. Fotométrico (padrão Hach)			MM40 vs. Fotométrico (padrão Lab)		
	MMA40	Fotométrico (<i>Hach</i>)	Fotométrico (Lab)	Média	Rn	Rin%	Média	Rn	Rin %
573	13,0	12,94	12,33	13,0	0,06	0,46	12,7	0,67	5,3
574	12,2	11,42	10,95	11,8	0,78	6,6	11,6	1,25	10,8
575	16,4	15,68	15,01	16,0	0,72	4,49	15,7	1,39	8,8
576	13,5	12,77	12,54	13,1	0,73	5,56	13,02	0,96	7,4
577	12,6	10,79	10,48	11,7	1,81	15,48	11,5	2,12	18,4
578	13,5	10,78	11,07	12,1	2,72	22,41	12,3	2,43	19,8
579	11,4	10,75	10,48	11,1	0,65	5,87	10,9	0,92	8,4
580	14,0	10,94	10,86	12,5	3,06	24,54	12,4	3,14	25,3
581	11,2	10,62	10,54	10,9	0,58	5,32	10,9	0,66	6,1
974	12,6	<LQ	<LQ	-	-	-	-	-	-
975	27,7	22,21	19,79	25,0	5,49	22	23,8	7,91	33,3
976	20,3	17,08	15,24	18,7	3,22	17,23	17,8	5,06	28,5
978	25,0	19,39	17,22	22,0	5,21	23,69	20,9	7,38	35,29
979	26,0	18,88	16,86	22,4	7,12	31,73	21,4	9,14	42,6
980	25,0	20,31	18,11	22,9	5,09	22,27	21,8	7,29	33,5
981	24,1	19,75	17,53	21,9	4,35	19,84	20,8	6,57	31,6
984	22,9	20,00	17,58	21,4	2,85	13,3	20,2	5,27	26,1
1501	11,5	13,23	10,62	12,4	1,73	13,99	11,1	0,88	7,9
1502	16,4	14,29	11,92	15,3	2,11	13,75	14,2	4,48	31,6
1503	16,7	17,93	14,57	17,3	1,23	7,1	15,6	2,13	13,6
1504	17,9	15,16	12,41	16,5	2,74	16,58	15,2	5,49	36,2
1505	15,3	14,31	11,63	14,8	0,99	6,69	13,5	3,67	27,3
1506	16,6	15,65	12,72	16,1	0,95	5,89	14,7	3,88	26,5
1507	17,7	18,69	15,77	18,2	0,99	5,44	16,7	1,93	11,5
1565	20,0	38,49	34,2	29,2	18,54	63,45	27,1	14,25	52,6
1637	14,0	18,29	15,61	16,1	4,29	26,57	14,81	1,61	10,87
1657	37,0	43,75	38,98	40,4	6,75	16,72	37,99	1,98	5,21
1658	11,0	14,46	12,09	12,7	3,46	27,18	11,55	1,09	9,44

Onde:

Rn – diferença relativamente ao método de referência;

Rin% – percentagem de desvio do método fotométrico relativamente ao método de referência.

Os valores determinados de CQO nas retas de calibração com o padrão do laboratório e da *Hach* inferiores ao LQ (10 mg/L O₂) não são quantificáveis.

Em 28 amostras de águas naturais analisadas para método fotométrico (padrão da *Hach* e do laboratório), confrontados com os resultados de método de referência do laboratório (MMA40) constatou-se que o MMA40 vs. Fotométrico padrão da *Hach* teve melhores resultados em relação ao MMA40 vs. Fotométrico padrão do laboratório.

Segundo o critério interno do LRA, a percentagem do desvio relativamente ao método de referência não deve ser superior a 25%.

Em conclusão, pode dizer-se que em amostras de águas naturais, o método fotométrico com padrão da *Hach* é mais robusto do que com o padrão do laboratório.

Tabela 5.18 Comparação dos valores de CQO (mg/L O₂) obtidos pelo método fotométrico (padrão da *Hach* e padrão do laboratório) com os obtidos pelo método tradicional em amostras de águas residuais

Amostra	Diluição	MMA40	CQO (mg/L O ₂)		MMA40 vs. Fotométrico (Padrão da <i>Hach</i>)			MMA40 vs. Fotométrico (Padrão Lab)		
			Fotométrico (Lab)	Fotométrico (<i>Hach</i>)	Média	Rn	Rin%	Média	Rn	Rin %
722	(1/20)	100	107	116	103,5	7	6,76	108	16	14,81
778	(1/50)	1190	899	1026,5	1044,5	291	27,9	1108,3	163,5	14,8
779	(1/5)	100,0	94,6	107,6	97,3	5,45	5,6	103,7	7,45	7,2
780	(1/50)	1090	968	853	1029	122	11,9	971,5	237	24,4
781	(1/10)	120,0	116,1	103,2	118,1	3,9	3,3	111,6	16,8	15,1
977	Direto	24,8	20,2	22,6	22,5	4,63	20,6	23,7	2,23	9,4
982	Direto	25,4	20,6	23,3	23,01	4,78	20,8	24,3	2,14	8,8
1133	(1/20)	770	809	903,8	789,5	39	4,94	836,9	133,8	15,9
1133	(1/20)	770	806	910,6	788	36	4,57	840,3	140,6	16,7
1427	(1/5)	187,5	184,9	207,9	186,2	2,55	1,37	197,7	20,45	10,3
1500	Direto	11,5	<LQ	<LQ	-	-	-	-	-	-
1510	(1/50)	1050	828	986,5	939	222	23,6	1018,3	63,5	6,2
1787	(1/2)	120	132,4	118,8	126,2	12,38	9,8	119,4	1,2	1,02

Nas amostras de águas residuais, os resultados foram semelhantes aos obtidos pelo MMA40, embora o padrão do laboratório tenha apresentado desvios significativos em comparação com o padrão da *Hach*.

5.2.2 Quantificação de fluoretos

Analisaram-se amostras de águas naturais com vista a determinar o teor de fluoretos. As amostras foram provenientes de todo o território de Portugal continental, cujos resultados de concentração em fluoretos (mg/L F^-) se podem ver na Tabela 5.19.

Tabela 5.19 Teor em fluoretos em amostras de águas naturais

<i>Amostra</i>	<i>Concentração (mg/L F⁻)</i>
<i>991</i>	0,15
<i>992</i>	0,20
<i>993</i>	0,21
<i>994</i>	0,18
<i>995</i>	0,15
<i>1609</i>	0,43
<i>1610</i>	0,15
<i>1611</i>	0,67
<i>1612</i>	1,18
<i>1613</i>	0,57
<i>1614</i>	0,61
<i>1615</i>	0,53
<i>1616</i>	0,44
<i>1617</i>	0,38
<i>1618</i>	0,38
<i>1619</i>	0,85
<i>1620</i>	1,05
<i>1621</i>	0,48
<i>Máximo</i>	1,18
<i>Mínimo</i>	0,15

Todos os valores obtidos se encontram dentro da gama estabelecida pela legislação não sendo necessário proceder à diluição das amostras, Ao comparar os resultados (Tabela 5.19) com os valores da legislação a para as diferentes classes de águas, verificou-se que o teor em fluoretos está a cumprir com o estabelecido no anexo I do DL 236/98 de 1 de Agosto (Tabela 2.2).

Capítulo 6

Conclusões

6. Conclusões

O método fotométrico em cuvetes da *Hach Lange* foi usado neste trabalho para a Caracterização Físico-Química de Amostras no Âmbito da Diretiva Quadro de Água e mostrou ser adequado e eficaz para a determinação de CQO e quantificação fluoretos. Em relação ao doseamento de sulfuretos não se realizaram análises por não existirem amostras disponíveis embora tenha sido construída a respetiva reta de calibração.

Os testes em cuvetes foram eficientes e asseguram a máxima confiança no procedimento analítico, menor tempo de análises, maior segurança operacional e a obtenção de resultados fiáveis.

As curvas de calibração construídas no fotómetro *DR 3900 Hach Lange* apresentaram uma linearidade apropriada à gama de trabalho em que foram aplicadas. Avaliou-se a linearidade das curvas de calibração recorrendo a interpretação da representação gráfica e análise dos coeficientes de correlação que foram superiores à 0,995. Os limiares analíticos (LD e LQ) determinados para CQO com o padrão preparado no laboratório foram 4,37 e 13,12 mg/L O₂ e com o padrão da *Hach* 3,97 e 11,90 mg/L O₂, respetivamente.

A precisão do método de CQO foi determinada através dos resultados dos ensaios de repetibilidade, para todos os parâmetros em estudo, sendo os valores do coeficiente de variação inferior à 5%. Deste modo, os ensaios apresentaram uma boa precisão em condições de repetibilidade.

Participou-se em dois ensaios interlaboratoriais com o objetivo de avaliar a exatidão do método. Os valores de *z-score* obtidos para a determinação de CQO foram -1,7 com padrão da *Hach* e 1,8 com o padrão preparado no laboratório, cumprindo o critério de aceitação ($-3 < z\text{-score} < 3$), sendo possível concluir que o método é exato.

Procedeu-se à estimativa da incerteza associada à precisão e exatidão com base nos resultados de repetibilidade e dos ensaios interlaboratoriais, respetivamente. Os valores encontrados para a incerteza combinada e para a incerteza expandida foram de 2,87% e 5,75%, respetivamente.

Os valores de CQO determinados em amostras de águas naturais (superficiais ou subterrâneas) destinadas a produção de água para o consumo humano situaram-se no intervalo entre 10 a 44 mg/L O₂, cumprindo com a legislação em vigor (Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto). Em relação a análise das amostras de águas residuais urbanas e industriais, os resultados estiveram entre 20 e 1026 mg/L O₂, verificando-se que, em alguns dos casos, se ultrapassou o limite de descarga 125 mg/L O₂ para águas residuais urbanas (Decreto-Lei n.º

152/97 de 19 de Junho, Quadro n.º1) e 150 mg/L O₂ para águas residuais industriais (Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto, Anexo XVIII).

Os resultados de CQO determinados na análise das amostras pelo método fotométrico para padrão do Laboratório e da *Hach* foram comparados com os obtidos através do método de referência (MMA40). O desvio entre os resultados foi de 25%, cumprindo assim o critério interno do LRA.

O teor em fluoretos nas amostras de águas naturais variou entre 1,18 e 0,18 mg/L F⁻ cumprindo os valores definidos na legislação (Decreto-Lei n.º236/98 de 1 de Agosto, Anexo I).

Na prática, a determinação de CQO pelo método do dicromato de potássio produz resíduos perigosos que contêm mercúrio, ácido sulfúrico, sais de prata e crómio hexavalente. A implementação do método fotométrico da *Hach Lange* permitiu o manuseamento seguro dos kits evitando o contacto direto com os reagentes incorporados.

Do ponto de vista ambiental este método tem vantagens para o laboratório em termos dos resíduos produzidos pois estes são recolhidos pelo fabricante, aplicando-lhes o tratamento adequado.

O método validado pode ser aplicado em análises de rotina laboratorial no LRA, em controlo da qualidade de águas naturais e residuais principalmente no que se refere ao parâmetro CQO.

No âmbito deste trabalho também foram elaborados protocolos com a descrição dos procedimentos analíticos para os três parâmetros (CQO, fluoretos e sulfuretos) apresentados nos Anexos III, IV e V, respetivamente, que serão usados posteriormente como suporte para análises dos padrões e das amostras no LRA.

O presente trabalho foi alvo de apresentação em painel no 5º fórum de Engenharia Química e Biológica no ISEL e de uma comunicação oral no XXIV Encontro Luso Galego de Química no Porto como se pode ver no Anexo VII.

Capítulo 7

Propostas de trabalho futuro

7. Propostas de trabalho futuro

O processo da validação de um método análise exige um determinado tempo para avaliar todos os parâmetros da validação, testar as amostras e padrões, a fim de garantir a máxima confiança no método de análise.

No seguimento desta dissertação um futuro trabalho poderá ser a conclusão do processo de validação do método fotométrico em cuvetes da *Hach Lange* nomeadamente para a análise de fluoretos e sulfuretos e a sua posterior utilização na determinação de sulfuretos em águas naturais e residuais.

Seria desejável a continuação deste trabalho na Guiné-Bissau uma vez que a problemática ligada a qualidade de águas naturais e residuais, representa um dos maiores problemas para a saúde pública, ambiente e ecossistemas.

A tecnologia usada para a determinação dos parâmetros de qualidade da água na Guiné-Bissau, é uma técnica que remonta dos anos 90 sem atualizações ao longo dos tempos. Então, nessa perspetiva, poder-se-á optar em experimentar métodos fotométricos da *Hach Lange* para testes em cuvetes como forma de garantir a máxima confiança nos procedimentos analíticos, e assim contribuir para a melhoria na análise da qualidade de água em todo o território nacional.

Para além dos parâmetros determinados neste trabalho, também se poderá alargar de forma aprofundada o estudo sobre a presença de azoto e fosforo nas águas destinadas ao consumo humano na Guiné-Bissau.

Capítulo 8

Referências bibliográficas

8. Referências Bibliográficas

- Alves, C., “Tratamento de Águas de Abastecimento”, 3a ed. Porto, 2010.
- APA., I.P., ARH., “Questões Significativas Da Gestão Da Água: Região Hidrográfica Do Vouga, Mondego, Lis e Ribeiras Do Oeste.”, 1–113., 2009, consultado em Dezembro de 2019.
- Baird, R.B., Eaton, A.D., Rice, E.W., “Standard Methods for Examination of Water and Wastewater”, 2017.
- Costa, S., “Avaliação de Fluoretos Na Água de Consumo Do Concelho Da Praia Da Vitória (Ilha Terceira, Açores) e Suas Consequências a Nível Da Saúde Pública.” Universidade dos Açores, 2013.
- Degrémont, “Mémento Technique de l’Eau”, 10^a. Edição, 2005.
- DL 152. 1997. “Decreto-Lei n.º 152/97 de 19 de Junho de 1997.” Diário da República - 1 Série-A No 139: 2959–67. disponível em <https://dre.pt/application/file/a/365412>.
- DL 236. 1998. “Decreto Lei n.º 236/98.” Diário da República - I Série -A 176: 3676–3722, disponível em <https://dre.pt/application/file/a/430505>.
- DL 506. 1999. “Decreto-Lei n.º 506/99 de 20 de Novembro, Ministério Do Ambiente.” : 2–4 disponível em <https://dre.pt/application/file/a/643185>.
- DL 58. 2005. “Lei n.º 58/2005 de 29 de Dezembro.” Diário da República: I Série 249: 7280–7310 disponível em <https://dre.pt/application/file/a/469114>.
- DL 83. 2011. “Decreto-Lei n.º 83/2011.” Diário da República, 1a série-No117: 3584–87 disponível em <https://dre.pt/application/file/a/670125>.
- DOQ-CGCRE-008. 2011. “Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos.” Inmetro: 20. http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf, consultado em Dezembro de 2019.
- DQA. 2000. “Diretiva 2000/60/CE.” Jornal Oficial das Comunidades Europeias (7): 1–72.
- Ellison, Stephen L R, and A Williams. 2012. “EURACHEM / CITAC Guide CG 4. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement.” English 2nd(3): 126. https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf, consultado em Fevereiro de 2020
- Hach., “Espectrofotómetro DR 3900 VIS Com Tecnologia RFID, Testes em Cuvete LCK”, 2012.
- Hipólito, J.R., Vaz, A.C., “Hidrologia e Recursos Hídricos”, 3^a. Edição, 2017.
- Hts, Termostato De Alta Temperatura. “Digestão Em 15 Minutos Para Análise de Águas

- Residuais”, 2017.
- IPAC., “Guia Para a Quantificação de Incerteza Em Ensaios Químicos.”, 2011
- IPQ. “Vocabulário Internacional de Metrologia.”, 1ª. Edição, 2012.
- ISO 5725-5 Accuracy (Trueness and Precision) of Measurement Methods and Results — Part 5: Alternative Methods for the Determination of the Precision of a Standard Measurement Method.” 1998.
- ISO 15705 — Qualité de l’eau — “Détermination de l’indice de Demande Chimique En Oxygène”, 2002.
- ISO 8466-1. Water Quality — “Calibration and Evaluation of Analytical Methods and Estimation of Performance Characteristics” — Part 1: Statistical Evaluation of the Linear Calibration Function, 1990.
- JCGM - “Evaluation of Measurement Data - Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement.” International Organization for Standardization Geneva, 2008.
<http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>, consultado em Fevereiro de 2020.
- Kolb, M., Bahadir, M., Teichgräber, B., “Determination of Chemical Oxygen Demand (COD) Using an Alternative Wet Chemical Method Free of Mercury and Dichromate”. Water Research, 2017.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135417305109?_rdoc=1&_fmt=high&_origin=gateway&_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeaa92ffb, consultado em Fevereiro de 2020.
- Marecos, H.M., Santos, M.T., Barreiros, A.M., Albuquerque, A., “Tratamentos de Águas Residuais”, 2016.
- Mendes, B., Santos Oliveira, J.F., “Qualidade Da Água Para Consumo Humano”, 2004.
- Mendes, S. I. S., “Valorização de Lamas de Tratamento de Águas Residuais Urbanas Para Utilização Agrícola”, 2014.
- Pacheco, T. “Validação de Método Fotométricos Em Cuvete: Determinação Do Azoto Total, Carência Química Oxigénio e Fósforo Total Em Águas Naturais e Residuais, 2015”
- Pereira, S. A. D., “Implementação e Validação de um Método Analítico para Determinação de Carbono Orgânico Total”, 2016.
- Pütz., P., “Test en Cuve de la DCO En Micro-Méthode : La DCO Par Tests En Cuve Hach Lange Des Avantages Incontournables.”, 2008.
- Guia Relacre 13, “Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química Validação

de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química”, 2000.

Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., “L ’ Analyse de l’Eau”, 10ª. Edição, 2016.

Vieira, J.M.P., “Água e Saúde Pública”, Lisboa, 2018

Waugh, D.T., Potter, W., Limeback, H., Godfrey, M., “Risk Assessment of Fluoride Intake from Tea in the Republic of Ireland and Its Implications for Public Health and Water Fluoridation.” International Journal of Environmental Research and Public Health 13, 2016.

Anexo I Protocolo de cooperação ISEL/APA, I.P.



PROTOCOLO DE COOPERAÇÃO
ENTRE O INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE LISBOA
E A AGÊNCIA PORTUGUESA DO AMBIENTE, I.P.
E O ESTUDANTE HANS QUETA

Entre

o **Instituto Superior de Engenharia de Lisboa**, pessoa coletiva nº 600 016 234, com sede na Rua Conselheiro Emídio Navarro, 1, 1959-007 Lisboa, neste ato representado pelo seu Presidente, Professor Doutor Jorge Alberto Mendes de Sousa, adiante designado por **ISEL**, na qualidade de primeiro outorgante,

a **Agência Portuguesa do Ambiente, I.P.**, pessoa coletiva nº 510 306 624, com sede na Rua da Murgueira, nº9/9ª, 2610-124 Amadora, neste ato representada pelo Presidente do seu Conselho Diretivo, Dr. Nuno Lacasta, adiante designado por **APA**, na qualidade de segundo outorgante,

e

o Estudante **Hans Queta**, portador da autorização da residência número 099559, NIF 288 964 306, residente em Fogueteiro, Rua 25 de Abril, 14-1º Esquerdo, 2845-166 Amora, na qualidade de terceiro outorgante, é celebrado e mutuamente aceite o Protocolo que se rege pelas cláusulas seguintes:

CLÁUSULA 1ª

Objetivo

1. O presente protocolo tem como objetivo a realização de estágio do estudante do ISEL Hans Queta no âmbito do trabalho final do mestrado em Engenharia da Qualidade e Ambiente.
2. Durante a vigência do estágio o aluno Hans Queta mantém o seu estatuto de estudante do ISEL.
3. Em anexo são apresentados o resumo e o plano de trabalho, que constam da proposta de Trabalho Final Mestrado.



CLÁUSULA 2ª

Duração, local e horário

1. O estágio tem início no dia 14 de fevereiro de 2018 e termina a 13 de julho de 2018.
2. O estágio será realizado nas instalações da APA.

CLÁUSULA 3ª

Orientação do estágio

Os responsáveis pela orientação do estágio devem estabelecer entre si os contactos necessários tendo em vista o bom cumprimento dos objetivos do estágio. São nomeados em representação do ISEL a Professora Doutora Maria Celeste Serra e em representação da APA a Engenheira Ana Filipa Pereira, como orientadoras do presente estágio.

CLÁUSULA 4ª

Seguro escolar

O estudante é abrangido pelo seguro escolar, cuja apólice consta em anexo ao presente protocolo e cujo pagamento é da responsabilidade do ISEL.

CLÁUSULA 5ª

Obrigações da(o) aluna(o)

O estudante fica obrigada ao cumprimento de todas as normas estabelecidas pela APA, nomeadamente no que concerne ao sigilo profissional, às regras de utilização e manutenção de recursos materiais colocados à sua disposição e às disposições relativas a segurança e saúde no trabalho.

CLÁUSULA 6ª

Vigência

O presente protocolo é válido durante o período de realização do estágio.



CLÁUSULA 7ª

Disposições finais

1. As dúvidas e omissões, bem como eventuais atualizações deste protocolo, serão resolvidas pelos Outorgantes.
2. Feito em três exemplares ficando um exemplar em poder do ISEL, outro em poder da APA e outro do estudante.

CLÁUSULA 8ª

Aceitação

As partes envolvidas declaram aceitar o presente protocolo, com todas as cláusulas que ficam exaradas, e vão assinar.

Lisboa, 12 de Fevereiro de 2018

Pelo ISEL

Professor Doutor Jorge Alberto Mendes de Sousa
Presidente do ISEL

Pela APA

Dr. Nuno Lacasta
Presidente do Conselho Diretivo da APA, I.P.

O Aluno

Hans Queta
O Estudante

Anexo II Método de referência de CQO -Dicromato de Potássio – MMA40

MMA40 Determinação de CQO - Método Dicromato de Potássio

1 OBJETIVO

É objetivo deste documento descrever o método para a determinação da carência química de oxigénio, através do Método do Dicromato de Potássio.

2 ÂMBITO

Este método aplica-se a águas naturais e residuais. O método é utilizado para determinar valores de CQO a partir de 5mg/L, podendo vir a aplicar-se a altas concentrações por diluição apropriada da amostra.

Para se determinarem valores de CQO inferiores a 50mg/L, utiliza-se solução padrão de dicromato de potássio diluído ($K_2Cr_2O_7$) 0,025N.

3 REFERÊNCIAS

3.303.LAB - Procedimento Operativo do Digestor de CQO;

3.002.LAB – Identificação e Preparação de Material para Colheita;

3.182.LAB – Técnicas Gerais de Amostragem Colheita e Conservação de Amostras;

3.284.LAB – Lavagem, Descontaminação e Armazenagem de Material de Laboratório;

3.125.LAB – Procedimento Operativo do Sistema Robotizado – Determinação de CQO;

3.297.LAB – Cálculo de Incertezas do Setor da Química Geral;

3.301.LAB - Controlo de Qualidade Analítica para a Carência Bioquímica e Química do Oxigénio;

3.272.LAB – Folha de cálculo dos CQO.

4 SIGLAS, ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES

CQO - Carência Química de Oxigénio;

L.Q. - Limite de quantificação;

L.D - Limite de deteção;

X_1 ; X_2 – valores lidos da amostra;

\bar{x} - Valor médio da amostra;

br – branco;

dp – desvio padrão.

5 RESPONSABILIDADES

O cumprimento das ações descritas neste procedimento é da responsabilidade dos técnicos do setor de Química Geral.

6 EXECUÇÃO

6.1 Fluxograma

Não aplicável.

6.2 Descrição

6.2.1 Resumo do Processo

- As substâncias orgânicas oxidáveis presentes na amostra são oxidados por uma mistura de dicromato de potássio e ácido sulfúrico à ebulição, sob condições de refluxo, em presença de um catalisador;
- O excesso de dicromato é determinado por titulação com uma solução de sulfato de ferro e amónio em presença de um indicador - complexo ortofenantrolina ferrosa - ou por titulação potenciométrica - sistema robotizado SP100 -.

6.2.2 Interferências

- O método não oxida uniformemente todas as espécies orgânicas. Alguns compostos possuindo estrutura de anel benzênico mostram oxidação parcial e não reprodutível. Certos compostos heterocíclicos por exemplo: hidrocarbonetos aromáticos e a piridina, são fortemente resistentes à oxidação. Compostos de cadeia ramificada são eficazmente oxidados em presença de um catalisador sulfato de prata. Por outro lado, o sulfato de prata reage com os cloretos, brometos e iodetos produzindo precipitados que são somente parcialmente oxidados, mas é essencial para a oxidação de cadeias ramificadas de álcoois e dos ácidos;
- Substâncias orgânicas muito voláteis podem perder-se por evaporação e não participarem na oxidação;
- O método é sensível a certas interferências, a mais importante das quais é a oxidação de iões inorgânicos tais como nitritos, sulfitos, ferro (II) e sulfuretos, que ao serem oxidados contribuem positivamente para o valor do CQO;
- O azoto orgânico é normalmente libertado como ião amónio, não vindo a ser oxidado neste teste;
- Os cloretos causam interferência positiva, sendo a sua magnitude dependente da sua concentração. O ião cloreto é oxidado pelo dicromato em meio ácido, podendo ser reduzido, mas não na totalidade pela adição de sulfato de mercúrio (II), resultando a formação de um complexo solúvel de cloreto de mercúrio;
- O método não se aplica a amostras contendo mais do que 2000mg/L de cloretos.

6.2.3 Equipamento e Material utilizados

6.2.3.1 Equipamento

- Sistema de Digestão com refluxo aberto (Robot SP100);

- Bureta automática.

6.2.3.2 Material

- Balões volumétricos;
- Balões de boca larga;
- Pipetas volumétricas;
- Esferas de vidro;
- Tubos de vidro.

6.2.4 Amostragem e Conservação

Ver procedimento 3.182.LAB.

6.2.5 Reagentes

Devem utilizar-se apenas reagentes de qualidade analítica reconhecida e água desmineralizada ou de qualidade equivalente.

6.2.5.1 Solução Padrão de Dicromato de Potássio, 0,25N

Dissolver 12,259g de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) previamente seco a $103^\circ C$, durante 2 horas, em água destilada e diluir a 1000mL.

Utilizar ampola de titrissol sempre que disponível.

6.2.5.2 Solução Padrão de Dicromato de Potássio, 0,025N

Diluir 100mL de solução padrão de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) 0,25N, em água destilada e completar a 1000mL.

Utilizar ampola de titrissol sempre que disponível.

6.2.5.3 Reagente de Ácido Sulfúrico/Sulfato de Prata

Dissolver 10g de sulfato de prata (Ag_2SO_4) em 1000mL de ácido sulfúrico concentrado ($d=1,84$).

Agitar a mistura, deixar em repouso durante doze horas e agitar novamente, de modo a dissolver todo o sulfato de prata.

Nota: Guardar em frasco de vidro escuro ao abrigo da luz solar.

6.2.5.4 Solução de Sulfato de Mercúrio a 20%(m/v)

Preparar uma solução a 10% (v/v) de ácido sulfúrico, pela adição cautelosa com agitação, de 50mL de ácido sulfúrico ($d=1,84$) a 450mL de água.

Dissolver 100g de sulfato de mercúrio em 500mL de ácido sulfúrico a 10% (v/v).

6.2.5.5 Solução Indicadora de Ortofenantrolina - Solução de Ferro (II)

Dissolver 1,485g de 1-10 ~~fenantrolina mono-hidratada~~ e 695mg de sulfato de ferro (II) ($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) em água destilada e diluir a 100mL.

Esta solução indicadora encontra-se comercializada, sob a designação de "Ferroína".

6.2.5.6 Solução Padrão de Sulfato de Ferro (II) e Amónio, \square 0,25N (Sal de Mohr)

Dissolver 98g de sulfato de ferro e amónio ~~hexa~~ hidratado ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 (\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) em cerca de 100mL de água destilada. Adicionar cuidadosamente 20mL de H_2SO_4 concentrado, arrefecer e diluir com água destilada a 1000mL.

6.2.5.7 Solução Padrão de Sulfato de Ferro(II) e Amónio, \square 0,025N

Diluir 100mL de solução de sulfato de ~~ferro~~(II) e amónio 0,25N em água destilada e completar a 1000mL.

6.2.5.8 Solução Padrão de Referência de Hidrogenoftalato de Potássio, 400mg/L O_2

Dissolver 85mg de hidrogenoftalato de potássio ($\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$) previamente seco a cerca de 120°C, durante 2 horas, em água destilada e diluir a 250mL.

Nota: Refrigerar.

6.2.5.9 Solução Padrão de Referência de Hidrogenoftalato de Potássio, 40mg/L O_2

Efetuar uma diluição de 1:10 da solução padrão de referência de Hidrogenoftalato de Potássio, 400mg/L O_2 . Preparar diariamente.

6.2.5.10 Solução Intermédia de Referência de Hidrogenoftalato de Potássio, 200mg/L O_2

Efetuar uma diluição de 1:2 da solução padrão de referência de Hidrogenoftalato de Potássio, 400mg/ LO_2 . Preparar diariamente.

6.2.5.11 Solução Padrão de Referência de Hidrogenoftalato de Potássio, 5mg/L O_2

Efetuar uma diluição de 1:40 da solução intermédia de referência de Hidrogenoftalato de Potássio, 200mg/ LO_2 . Preparar diariamente.

6.2.6 Técnica

6.2.6.1 Determinação do Título da Solução Padrão de Sulfato de Ferro (II) e Amónia 0,025N

Estas soluções devem ser padronizadas diariamente;

Diluir 10mL da solução padrão de dicromato de potássio 0,025N em 100mL de água destilada;

Adicionar 30mL de ácido sulfúrico concentrado ($d=1,84$), deixar arrefecer, tapando o ~~erlenmeyer~~ com um vidro de relógio;

Introduzir 2 a 3 gotas de solução indicadora de ferroína e titular com a solução de sulfato de ferro (II) e amónio 0,025N. Replicar o ensaio.

Se a titulação for potenciométrica colocar as alíquotas assim preparadas - mas sem adição de ferroína - no sistema robotizado SP100 e seguir o procedimento operativo respetivo.

A normalidade da solução de ferro(II) e amónio é dada por:

$$N = \frac{V \times 0,25}{V_1} \quad (\text{gama alta}) \qquad N = \frac{V \times 0,025}{V_1} \quad (\text{gama baixa})$$

em que:

V = volume em mL de $K_2Cr_2O_7$

V_1 = volume em mL de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$.

6.2.6.2 Eliminação dos Cloretos em Amostras que contenham até 2000mg/L Cl

Para 20mL de amostra, ou alíquota diluída a 20mL, adicionar no balão 2mL de solução de sulfato de mercúrio a 20% e misturar perfeitamente. Esta adição é suficiente para complexar 20mg de ião cloreto, quando são usados 20mL de amostra. Se estão presentes menos cloretos adicionar $HgSO_4$, de modo a manter a proporção de 10:1 de $HgSO_4 \cdot Cl$.

A CQO perde exatidão em amostras contendo mais do que 2000mg/L de cloretos.

6.2.6.3 Titulação com Indicador

Homogeneizar previamente a amostra antes de retirar a toma para o ensaio.

Colocar 20mL de amostra, ou uma alíquota diluída a 20mL com água destilada, num tubo do equipamento de digestão;

Adicionar 2mL de solução de solução de sulfato de mercúrio a 20%(m/v) e agitar para misturar;

Adicionar 10mL de solução padrão de dicromato de potássio, 0,025N, seguida da adição cuidadosa de 30mL de solução de ácido sulfúrico/sulfato de prata (m/v);

Ligar o equipamento e refluxar durante 2 horas a 148°C;

Remover o tubo da fonte de aquecimento e deixar arrefecer;

Passar o conteúdo para os Erlenmeyers, adicionando cerca de 70mL de água destilada;

Titular o excesso de dicromato de potássio com solução de sulfato de ferro(II) e amónio, 0,025N, em presença de 2 a 3 gotas de solução indicadora de ferroína;

O ponto de viragem é indicado pela mudança de cor azul a amarelo esverdeado e por fim a castanho;

Anexo III Procedimento analítico para a determinação de CQO – Método Fotométrico – *Hach Lange* CLK 1414

Método Fotométrico de CQO – Hach Lange CLK 1414

1 OBJETIVO

É objetivo deste documento descrever o método para a determinação da carência química de oxigénio, através do Método Fotométrico.

2 ÂMBITO

Este método aplica-se a águas naturais e residuais. Utiliza-se este método para quantificar valores de CQO a partir de 5mg/L, estendendo-se às altas concentrações por diluições apropriadas da amostra.

3 DOCUMENTAÇÃO APLICÁVEL

4 SIGLAS, ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES

CQO – Carência Química de Oxigénio;

L.Q. – Limite de quantificação;

L.D. – Limite de deteção;

br – branco;

dp – desvio padrão

5 RESPONSABILIDADES

O cumprimento das ações descritas neste procedimento é da responsabilidade dos técnicos do setor de Química Geral.

6 EXECUÇÃO

6.1 Fluxograma

Não aplicável.

6.2 Descrição

6.2.1 Resumo do processo

A determinação da carência química de oxigénio nas amostras é efetuada através do método fotométrico, utilizando a curva de calibração armazenada no equipamento (Fotómetro Hach Lange DR 3900) ou uma curva construída pelo laboratório. A leitura é efetuada nas cuvets LCK 414 e absorvância de 348nm.

Após a adição da amostra na respetiva cuvete, efetua-se a digestão no Termostato de alta temperatura HACH | LANGE HT 200 S, durante 2 horas a 148° C. A cuvete é arrefecida e em seguida faz-se a leitura na curva de

calibração armazenada no Fotómetro. Conhecendo o valor da absorvância da amostra, por interpolação o equipamento nos dá o valor da concentração em mg/L.

6.2.2 Equipamento e Material utilizados

6.2.2.1. Equipamento

- Termostato de Alta Temperatura HACH LANGE HT 200 S
- Fotómetro HACH LANGE DR 3900
- Balança
- Micropipeta

6.2.2.2. Material

- Balões volumétricas;
- Pipetas volumétricas;
- Cuvetes LCK 1414, HACH LANGE

6.2.3 Amostragem e conservação

Ver procedimento 3.182.LAB – Técnicas Gerais de Amostragem Colheita e Conservação de Amostras

6.2.4 Reagentes

Todas as soluções devem ser preparadas com água destilada ou de qualidade adequada.

6.2.4.1. Solução Padrão de Referência de Hidrogenoftalato de Potássio, 400mg/L O₂

Dissolver 85mg de Hidrogenoftalato de potássio (HOCC₆H₄COOK) previamente seco a cerca de 120°C, durante 2 horas, em água destilada e diluir a 250mL.

Nota: Refrigerar.

6.2.5 Técnica

6.2.5.1. Procedimento Operativo

Consultar o procedimento operativo do fotómetro e o manual de instruções do equipamento.

A leitura deve seguir os seguintes passos:

1. Agitar a cuvete antes de adicionar a amostra (limpar a cuvete antes de qualquer leitura);
2. Adicionar 2mL da amostra na cuvete;
3. Agitar, em seguida digerir durante 2h a 148°C;
4. Deixar arrefecer a temperatura 18 – 20 °C;
5. Limpar e efetuar a leitura da cuvete.

6.2.5.2. Preparação da Curva de Calibração

Pipetar para balões de 100mL: 5, 10, 15, 20, 30 e 40mg/L da solução padrão de Hidrogenoftalato de potássio 400mg/L (6.2.4.1.), perfazendo ao volume com água destilada, a que corresponde aos volumes de 1,25, 2,25, 3,75, 5, 7,5, e 10mL da solução Padrão de $\text{HOCC}_6\text{H}_4\text{COOK}$, respetivamente.

6.2.6 Resultados

Os resultados são expressos em mg/L $\text{HOCC}_6\text{H}_4\text{COOK}$, e todos os cálculos são efetuados pelo software instalado.

7 BIBLIOGRAFIA

8 ANEXOS

Listas de trabalho da aplicação ~~LabWay~~-LIMS.

Anexo IV Procedimento analítico para a quantificação de fluoretos – Método fotométrico-*Hach Lange* LCK 323

Procedimento analítico para a quantificação de Fluoretos – Método Fotométrico – Hach Lange CLK 323

1 OBJETIVO

É objetivo deste documento descrever o procedimento para a determinação de Fluoretos através do Método Fotométrico.

2 ÂMBITO

Este método aplica-se em águas superficiais, subterrâneas, de abastecimento e residuais para concentrações superiores a 0,1 mg/L de F⁻, podendo estender-se por diluição prévia.

3 DOCUMENTAÇÃO APLICÁVEL

IT.002.LAB - Identificação e preparação de material para colheita;

IT.044.LAB – Técnicas Gerais de Amostragem e Conservação das Amostras;

IT.109.LAB - Lavagem, Descontaminação e Armazenagem de Material de Laboratório;

IT.121.LAB - Cálculo de Incertezas do Setor da Química Geral;

IT.xxx.LAB - Procedimento Operativo do Fotómetro.

4 SIGLAS, ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES

Não aplicável

5 RESPONSABILIDADES

O cumprimento das ações descritas neste procedimento é da responsabilidade dos técnicos do setor de Química Geral.

6 EXECUÇÃO

6.1 Fluxograma

Não aplicável.

6.2 Descrição

6.2.1 Resumo do processo

A determinação do ião do fluoreto é efetuada através do método de fotométrico utilizando a curva de calibração armazenada no fotómetro ou construída uma pelo laboratório. A leitura é realizada nas cuvets LCK 323 e absorvância 580nm.

Catiões polivalentes de Si^{4+} , Fe^{3+} e Al^{3+} interferem pela formação de complexos com o ião fluoreto. Estas interferências são eliminadas pela adição da solução tampão a $\text{pH} = 5,0 - 5,5$ contendo um agente fortemente complexante, preferencialmente para o alumínio (interferência mais comum) silício e ferro

6.2.2 Equipamento e Material utilizados

6.2.2.1. Equipamento

- Fotómetro HACH LANGE DR 3900

- Balança

- Micropipeta

6.2.2.2. Material

- Balões volumétricas;

- Pipetas volumétricas;

- Cuvetes LCK 323, HACH LANGE

6.2.3 Amostragem e conservação

Ver procedimento 3.182.LAB – Técnicas Gerais de Amostragem Colheita e Conservação de Amostras

6.2.4 Reagentes

Todas as soluções devem ser preparadas com água destilada ou de qualidade adequada.

6.2.4.1. Solução Stock de Fluoreto de Sódio (NaF) 100ppm

Secar durante 2h, a 120°C , fluoreto de sódio (NaF) ($\approx 500\text{mg}$ de NaF). Pesar 221mg de NaF, dissolver em, aproximadamente, 500mL de água destilada e aferir a 1000mL ($1\text{mL} \diamond 100\mu\text{g F}$).

6.2.4.1.2. Solução Padrão de NaF 10ppm

Medir 100mL da solução 6.2.4.1 e diluir a 1000mL de água destilada ($1\text{mL} \diamond 10\mu\text{g F}$).

6.2.5. Técnica

6.2.5.1. Procedimento Operativo

Consultar o procedimento operativo do fotómetro e o manual de instruções do equipamento.

A leitura deve seguir os seguintes passos:

1. Leitura da cuvete só com os reagentes, antes de adicionar a amostra (limpar a cuvete antes de qualquer leitura). Esta leitura é para fazer o ajuste do zero do fotómetro;
2. Adicionar 3mL da amostra na cuvete;
3. Agitar e deixar de seguida em repouso durante 1min para desenvolver a cor;
4. Leitura da cuvete.

6.2.5.2. Preparação da Curva de Calibração

Pipetar para balões de 100mL: 1,0, 2,0, 5,0, 10, 20 e 25mL da solução padrão de 10ppmNaF (6.2.4.1.2), perfazendo ao volume com água destilada, a que corresponde as concentrações de 0,10, 0,20, 0,50, 1,0, 2,0 e 2,5mg/L NaF, respetivamente.

6.2.5 Resultados

Os resultados são expressos em mg/L NaF, e todos os cálculos são efetuados pelo software instalado.

7 BIBLIOGRAFIA

8 ANEXOS

Listas de trabalho da aplicação [LabWay-LIMS](#).

Anexo V Procedimento analítico para a determinação de sulfureto – Método fotométrico – *Hach Lange LCK 653*

Procedimento analítico para a determinação de Sulfureto – Método fotométrico- Hach Lange LCK 635

1 OBJETIVO

É objetivo deste documento descrever o método para a determinação de sulfuretos pelo Método Fotométrico.

2 ÂMBITO

Este método aplica-se em águas residuais para concentrações de sulfuretos entre 0,1 e 2,0 mg/L S²⁻, podendo ser estendida a gama de aplicação por diluição prévia da amostra.

3 DOCUMENTAÇÃO APLICÁVEL

IT.002.LAB – Identificação e Preparação de Material para Colheita;

IT.044.LAB – Técnicas Gerais de Conservação das Amostras;

IT.109.LAB – Lavagem, Descontaminação e Armazenagem de Material de Laboratório;

IT.135.LAB – Procedimento Operativo das Buretas Automáticas;

IT.133.LAB - Controlo de Qualidade Analítica para Métodos de Espectrofotometria de Absorção Molecular;

IT.121.LAB - Cálculo de Incertezas - Sector da Química Geral.

4 SIGLAS, ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES

x₁, x₂ – valores lidos da amostra

\bar{x} – Valor médio das amostras

br – branco

LD – limite de deteção

LQ – limite de quantificação

ER – ensaio de recuperação

MRC – material de referência certificado

5 RESPONSABILIDADES

O cumprimento das ações descritas neste procedimento é da responsabilidade dos técnicos do Setor de Química Geral.

6 EXECUÇÃO

6.1 Fluxograma

Não aplicável.

6.2 Descrição

6.2.1 Resumo do processo

O ião sulfureto e o dimetil-p-fenilendiamina reagem em meio ácido, com cloreto férrico como catalisador, para formar o azul de metileno. O hidrogenofosfato de amónio remove a cor, devida à presença do ião férrico.

A intensidade da cor é medida a 666nm.

Agentes fortemente redutores interferem com o método evitando a formação do composto corado ou diminuindo a sua intensidade.

Concentrações altas de sulfuretos podem inibir completamente a reação, mas uma diluição da amostra elimina essa interferência.

Concentrações de tiosulfato de cerca de 10mg/L podem retardar a formação da cor ou evitá-la completamente.

No processo da quantificação do Sulfureto, foi usada a cuvete LCK 653 da Hach Lange para uma gama de 0,1 a 2,0mg/L S²⁻ e a solução de Sulfureto da Hach Lange LCK 653 A.

6.2.2 Equipamento e Material utilizados

- Fotómetro HACH LANGE DR 3900

- Balança

- Micropipeta

6.2.2.2. Material

- Balões volumétricas;

- Pipetas volumétricas;

- Cuvetes LCK 653, HACH LANGE

- Solução de Sulfureto LCK 653 A, HACH LANGE]

6.2.3 Amostragem e conservação

Ver procedimento 3.182.LAB – Técnicas Gerais de Amostragem Colheita e Conservação de Amostras

6.2.4 Reagentes

6.2.4.1. Solução stock de Sulfureto 1000mg/L S

Dissolver cerca de 0,82g de sulfureto de sódio hidratado ($\text{Na}_2\text{S}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ou 0,75g de sulfureto de sódio hidratado ($\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$) em água destilada previamente fervida, durante 1 hora e arrefecida posteriormente.

Diluir a 100mL num balão de forma a minimizar o contacto desta solução com o ar atmosférico. Esta solução é preparada diariamente.

6.2.4.2. Solução padrão intermédio de sulfureto a 20mg/L S^{2-}

Medir 10mL da solução stock de sulfureto 1000mg/L S^{2-} e diluir a 500mL com água Milli-Q, previamente fervida e arrefecida.

6.2.5 Técnica

6.2.5.1. Procedimento operativo

Consultar o procedimento operativo do fotómetro e o manual de instruções do equipamento.

A leitura deve seguir os seguintes passos:

1. Limpar a cuvete antes de qualquer leitura;
2. Adicionar 4mL da amostra na cuvete e 0,2mL da solução A (LCK 653A);
3. Agitar e deixar de seguida em repouso durante 10min para desenvolver a cor;
4. Leitura da cuvete.

6.2.5.2. Preparação da Curva de Calibração

Pipetar para balões de 100mL: 0,5, 1, 2, 2,5, 5, 7,5 e 10mL da Solução padrão intermédio de sulfureto a 20mg/L S^{2-} (6.2.4.2.), perfazendo ao volume com água destilada, a que corresponde as concentrações de 0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0mg/L S^{2-} , respetivamente.

Para a construção da curva de calibração, a leitura deve seguir os seguintes passos:

1. Limpar a cuvete antes de qualquer leitura;
2. Adicionar 4mL do padrão (0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0mg/L S^{2-}) e 0,2mL da solução A (LCK 653A) a cada cuvete;
3. Agitar, em seguida repousar durante 10 min para desenvolver a cor;
4. Limpar e efetuar a leitura da cuvete.

Nota: A curva de calibração é construída após as leituras de todos os padrões incluindo o branco.

6.2.6 Resultados

Os resultados são expressos em **mg/L S** e todos os cálculos são efetuados pelo software instalado.

7 BIBLIOGRAFIA

8 ANEXOS

Anexo VI Comunicação em painel no 5º Fórum de Engenharia Química e Biológica, ISEL (de 08 a 10 de Maio de 2018)



CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE AMOSTRAS NO ÂMBITO DA DIRETIVA QUADRO DE ÁGUA



Queta, H.^{1*}, Serra, M.C.¹, Pereira, A.F.²

¹Área Departamental de Engenharia Química, ISEL - Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa, R. Conselheiro Emídio Navarro 1, 1959-007 Lisboa, Portugal,.

²Laboratório de Referência de Ambiente, Agência Portuguesa do Ambiente, Rua da Murgueira, 9/9A - Zambujal Ap. 7585 2610-124 Amadora, Portugal.

*a43270@alunos.isel.pt

RESUMO

- A Diretiva Quadro de Água é o principal diploma legislativo da União Europeia relativo à proteção do estado das águas [1].
- Tendo por objetivo a validação de métodos de análise de parâmetros físico-químicos da água em cuvetes da Hach Lange, reporta-se no presente trabalho a determinação da carência química de oxigénio (CQO). Encontra-se em fase de desenvolvimento o doseamento dos iões fluoreto e sulfureto.

INTRODUÇÃO

Devido à capacidade de dissolução e de transporte de diversas matérias em suspensão, a água no estado puro praticamente não existe na natureza. Atualmente, a qualidade de uma água é avaliada através da determinação de algumas das suas propriedades físico-químicas e microbiológicas, seguida da comparação com os valores limites autorizados pela legislação [3]. A carência química do oxigénio (CQO) é um dos parâmetros mais importantes na caracterização físico-química de águas cujo valor representa a quantidade de oxigénio necessária para oxidar, a partir de meios químicos, a matéria orgânica presente numa água [4].

A implementação dos ensaios de CQO em cuvette da Hach Lange vai permitir reduzir consideravelmente o tempo de análise pelo que, após validação e acreditação do método, vai ser possível diminuir o prazo de entrega dos resultados com a mesma garantia de qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Equipamento

- Fotómetro DR 3900 Hach Lange;
- Digestor HT 200 5 Hach Lange;
- Cuветes LCK 414, 323 e 653.

Método Fotométrico à pequena escala.

Validação do método

- Validação da gama de trabalho, linearidade, repetibilidade [5].
- A validação dos restantes parâmetros de desempenho dos métodos de análise encontra-se em curso.

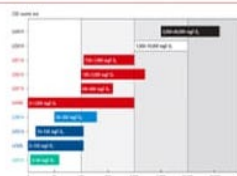


Figura 1: Gamas de Trabalho CQO Hach Lange.

Curva de Calibração para CQO

- Padrão de hidrogenofalato de potássio 400 mg/L O₂.
- Curva de calibração para a gama mais baixa de concentração (5 – 40 mg/L O₂), como referido na Figura 1 [2].

Procedimento experimental

Quantificação do Fluoreto

Adicionar 3ml de amostra na cuvette LCK 323; após 1 minuto ler a absorvância da mistura reacional a 580 nm.

CQO

Determinação de CQO
Adiciona-se 2mL da amostra na cuvette LCK 414; digestão da amostra durante 2h à 148 °C; arrefecer entre 18–20 °C; efetuar a leitura de absorvância a 348 nm.

Fluoretos/Sulfuretos

Quantificação do Sulfureto

Adicionar 4 ml da amostra na cuvette LCK 653; após 10 minutos ler a absorvância da mistura reacional a 666 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de calibração para CQO, Fluoretos e Sulfuretos foram construídas e armazenadas no software do fotómetro e utilizadas posteriormente para a quantificação dos analitos em amostras de águas superficiais, subterrâneas e residuais.

Para o caso da determinação de CQO:

- Foram preparados padrões com concentrações de 5, 10, 15, 20, 30 e 40 mg/L O₂ a partir de uma solução mãe de hidrogenofalato de potássio;
- Usando a cuvette LCK414, procedeu-se à medida da absorvância das soluções ao comprimento de onda de 348 nm;
- Na Figura 2 apresenta-se a curva de calibração obtida com o padrão preparado no laboratório, com base na qual se determinou CQO nas amostras de águas.

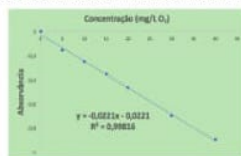


Figura 2: Curva de Calibração de CQO

Ensaio de Repetibilidade

Tabela 1: Resultados dos ensaios de repetibilidade para o padrão preparado no laboratório e para o padrão da Hach*.

Concentração (mg/L O ₂)	5	6*	9*	10	24*
Média	3,63	6,56	9,173	9,9	24,84
Desvio Padrão	0,33	0,75	0,27	0,54	0,35
CV%	9,09	11,43	2,96	5,45	1,40

Os valores apresentados são a média de pelo menos seis determinações experimentais realizadas para o padrão preparado no laboratório e dez para Hach*, em condições de repetibilidade.

Os valores do coeficiente de variação obtidos são inferiores a 5% para as concentrações 9 e 24 mg/L O₂, pelo que o método apresenta repetibilidade para essas concentrações. Estão em curso ensaios para concluir a avaliação deste parâmetro de validação.

REFERÊNCIAS

- Diretiva Quadro da Água 2000/60/CE. 2000.
- Alex C. Tratamento de águas de abastecimento, 2010, 2a ed. Puris.
- Petra Putz - 10 + COD: a COD range for every application - Hach Lange, 2008.
- Kob, M., Bahadir, M. and Teichgraber, B., Determination of chemical oxygen demand (COD) using an alternative wet chemical method free of mercury and dichromate. 2017, Water Res., 122, 645–654.
- Guia Referece 13 - Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química, Relisco, 2000.

Tabela 2: Comparação dos valores de concentração obtidos com padrão da Hach, padrão do laboratório e método tradicional.

Amostra	M.Tradicional (mg/L O ₂)	Padrão Hach (mg/L O ₂)	Padrão Laboratório (mg/L O ₂)	Comparação do método tradicional com padrão Hach			Comparação do método tradicional com padrão laboratório		
				Média	Rn	Rin%	Média	Rn	Rin%
573	13,0	12,94	11,19	13	0,1	0,5	12	1,8	15,0
574	12,2	11,42	10,00	12	0,8	6,6	11	2,2	19,8
575	16,4	15,68	13,61	16	0,7	4,5	15	2,8	18,6
576	13,5	12,77	11,25	13	0,7	5,6	12	2,3	18,2
577	12,6	10,79	9,42	12	1,8	15,5	11	3,2	28,9
578	13,5	10,78	9,95	12	2,7	22,4	12	3,6	30,3
579	11,4	10,75	9,54	11	0,7	5,9	10	1,9	17,8
580	14,0	10,94	9,82	12	3,1	24,5	12	4,2	35,1
581	11,2	10,62	9,30	11	0,6	5,3	10	1,9	18,5

Rn - diferença relativamente ao método tradicional;
Rin% - percentagem de desvio relativamente ao método tradicional

Os valores CQO determinados com base nas retas de calibração do padrão preparado no laboratório e do padrão da Hach foram semelhantes aos obtidos pelo método tradicional para as amostras de águas residuais, superficiais e subterrâneas em análise (% Rin% < 25%), à exceção das amostras 577, 578 e 580.




CONCLUSÕES

- Os testes em cuvetes da Hach permitem maior segurança operacional e possuem um sistema fechado com poucos reagentes, em que se utiliza menos 90% dos produtos químicos do que nos métodos tradicionais, com vantagens para o meio ambiente e custos mais reduzidos.
- O presente trabalho ainda se encontra em desenvolvimento.

Agradecimentos

Ao Setor de Química Geral do Laboratório de Referência do Ambiente da Agência Portuguesa do Ambiente

Anexo VII Comunicação oral apresentada no XXIV Encontro Luso-Galego de Química, Porto 2018 (de 21 a 23 de Novembro de 2018).



Caracterização Físico-Química de Amostras no Âmbito da Diretiva Quadro de Água

Apresentado por:
Hans Queta

Orientadoras:

- Dr.^a Maria Celeste Serra ADEQ/ISEL
- Eng.^a Ana Filipa Pereira LRA/APA