



Teresa Isabel Ferros Pimentel de Serra Pacheco

**VALIDAÇÃO DE MÉTODOS FOTOMÉTRICOS EM CUVETE
DETERMINAÇÃO DE AZOTO TOTAL, CARÊNCIA QUÍMICA OXIGÉNIO E FÓSFORO TOTAL
EM ÁGUAS NATURAIS E RESIDUAIS**

Mestrado em Química

Departamento de Química

FCTUC

Setembro de 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Teresa Isabel Ferros Pimentel de Serra Pacheco

Validação de métodos fotométricos em cuvete

**Determinação de Azoto Total, Carência Química Oxigénio e Fósforo
Total em Águas Naturais e Residuais**

Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Química, Área de especialização
em Controlo de Qualidade e Ambiente

Orientadores: Professora Doutora Maria Emília Azenha
Professor Doutor Jorge Costa Pereira

Coimbra, Setembro 2015

UNIVERSIDADE DE COIMBRA
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Departamento de Química



Agradecimentos	4
Resumo	5
Abstract	6
Abreviaturas	7
1 Introdução	8
1.1 Enquadramento.....	8
1.2 Evolução do ordenamento jurídico português em termos Águas Residuais, Superficiais e Subterrâneas	9
1.3 Seleção de Métodos Analíticos	10
2 Validação e controlo de qualidade de métodos analíticos	13
2.1 Objetivo.....	13
2.2 Parâmetros de Validação.....	14
2.2.1 Especificidade e seletividade.....	14
2.2.2 Gama de trabalho/Linearidade	14
2.2.3 Limiares analíticos	15
2.2.4 Precisão	16
2.2.5 Exatidão	17
2.2.6 Incerteza de medição	19
2.3 Testes de Significância.....	21
2.3.1 Comparação de um valor experimental com um valor verdadeiro	21
2.3.2 Comparação de duas variâncias independentes.....	22
2.3.3 Diagnóstico de valores aberrantes	22
2.4 Controlo Qualidade	23
2.4.1 Controlo Qualidade Interno	24
2.4.2 Controlo Qualidade externo	25
3 Procedimento experimental	26
3.1.1 Carência química de oxigénio (LCK 314/514).....	26
3.1.2 Azoto Total (LCK 138)	27
3.1.3 Fósforo Total (LCK 348).....	28
3.2 Equipamento e Reagentes	30
3.3 Instruções Técnicas	33
3.3.1 Carência química de oxigénio	33
3.3.2 Azoto Total	34
3.3.3 Fósforo Total	35
3.4 Controlo de Qualidade.....	35



4	Resultados e discussão	37
4.1	Linearidade.....	37
4.1.1	Carência química oxigénio (LCK 314).....	37
4.1.2	Carência química oxigénio (LCK 514).....	42
4.1.3	Azoto Total (LCK 138).....	46
4.1.4	Fósforo Total (LCK 348).....	50
4.2	Limiares Analíticos – Limite de Quantificação	56
4.3	Repetibilidade	60
4.4	Precisão intermédia.....	62
4.5	Exatidão.....	65
4.5.1	Ensaio Interlaboratoriais	65
4.5.2	Ensaio de Recuperação.....	65
4.5.3	Comparação com método de referência validado.....	68
4.6	Incerteza de medição.....	74
4.6.1	CQO LCK 314.....	75
4.6.2	CQO LCK 514.....	76
4.6.3	Nt LCK 138	77
4.6.4	Pt LCK 348	78
5	Conclusões.....	79
	Bibliografia.....	82
6	Anexo I – Ensaio Interlaboratoriais – Relatórios originais	86
6.1	CQO LCK 314.....	86
6.2	CQO LCK 514.....	86
6.3	Nt LCK 138.....	87
6.4	Pt LCK 348.....	87



AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor Doutor Jorge Costa Pereira e à Professora Doutora Maria Emília Azenha pela superior orientação e ensinamentos.

Agradeço à Dr.^a Fátima Coimbra por me ter incentivado a concluir este projeto e, acima de tudo, pelo seu exemplo de coragem e determinação.

Agradeço às minhas colegas do Laboratório da Águas do Mondego, com particular carinho à Filomena e à Patrícia pela sua preciosa ajuda e pelas horas de trabalho despendidas.

Agradeço aos meus Pais e ao meu Irmão, pelo constante apoio e encorajamento e por serem sempre e incondicionalmente, o meu “porto de abrigo”.

Agradeço ao Tiago e ao João pela sua paciência e compreensão e, por nunca me terem deixado desistir! Por caminharem ao meu lado, dando cor aos momentos mais negros, apesar de tantas dificuldades atravessadas ao longo deste ano.



RESUMO

No presente trabalho, pretendeu-se validar os métodos em cuvete “Hach Lange” para determinação da Carência Química Oxigénio, Azoto Total e Fósforo Total em águas residuais e naturais. No processo de validação e verificação da sua adequabilidade à rotina de trabalho do Laboratório da Águas do Mondego, foram avaliados os parâmetros: especificidade e seletividade, gama de trabalho e linearidade, limite de quantificação, precisão, exatidão e incertezas.

A Carência Química de Oxigénio, o Azoto Total e o Fósforo Total são alguns dos parâmetros mais analisados, em particular nas águas residuais domésticas.

A decisão do AdMondego Lab, de validar e acreditar os métodos analíticos referidos, baseia-se na necessidade de obter resultados fiáveis no mais curto espaço de tempo, minimizando a mão-de-obra necessária e os riscos humanos e ambientais.

Os resultados de validação obtidos permitem concluir que os métodos em estudo cumprem os requisitos legais com 10% precisão e 10% exatidão produzindo resultados equivalentes aos obtidos pelos métodos de referência.



ABSTRACT

In this study, we want to validate Hach Lange cuvette test methods in order to determine Chemical Oxygen Demand, Total Nitrogen and Total Phosphorus in wastewater and natural waters. In the process of validation and verification of their suitability to work routine of the Laboratório da Águas do Mondego, were evaluated several parameters like specificity and selectivity, the working range and linearity, quantification limit, precision, accuracy and uncertainties.

Chemical Oxygen Demand, Total Nitrogen and Total Phosphorus are some of the parameters frequently analyzed, particularly in domestic wastewater.

The decision of AdMondego Lab in validate and accreditation of these analytical methods is based on the need to obtain reliable results in the shortest possible time, reducing the working hours required and the human and environmental risks.

Validation of the results obtained showed that those methods under consideration meet the legal requirements of 10% precision and 10% accuracy and give equivalent results to those obtained by reference methods.



ABREVIATURAS

AdMondego Lab	Laboratório Águas do Mondego
APA	Agência Portuguesa Ambiente
ARH	Administração Região Hidrográfica
CA	Critério de Aceitação
CBO5	Carência Bioquímica Oxigénio
CE	Comunidade Europeia
CQ	Controlo Qualidade
CQO	Carência Química Oxigénio
CV	Coefficiente de variação
DL	Decreto-lei
DQA	Diretiva Quadro da Água
EIL	Ensaios Interlaboratoriais
ER	Erro relativo
FQ	Físico-químico
IPAC	Instituto Português de Acreditação
LD	Limite Deteção
LQ	Limite Quantificação
MRC	Materiais de Referência Certificados
Nt	Azoto Total
PC	Padrão Controlo
PI	Precisão Intermédia
PLQ	Padrão Limite Quantificação
Pt	Fósforo Total
SMEWW	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater
UE	União Europeia



1 INTRODUÇÃO

1.1 Enquadramento

“A água é um bem essencial e precioso que realiza um ciclo natural entre o solo e a atmosfera, sendo um dos elementos predominantes na composição humana e vegetal. Sem água não há vida nem qualidade de vida, por isso, esta carta estabelece as devidas precauções necessárias à preservação da sua qualidade, origem e conservação, evitando a poluição do ecossistema. Esse património comum deve ser inventariado e protegido pelas autoridades de cada Estado, que devem estabelecer uma gestão racional desse recurso. A proteção da qualidade da água e a sua poupança é um dever cívico para cada cidadão do Mundo, a fim de preservar a vida e a sobrevivência de gerações futuras.” [1]

O crescimento demográfico, o desenvolvimento urbanístico, a explosão do sector industrial e descarga direta de efluentes domésticos, industriais e agropecuários não sujeitos a tratamento, têm tornado os recursos hídricos cada vez mais escassos e degradados, despoletando a necessidade de desenvolver infraestruturas de saneamento básico, principalmente no que diz respeito a sistemas de abastecimento de água e de drenagem e tratamento de águas residuais, no sentido de controlar a degradação das águas superficiais e subterrâneas.

Embora de um modo geral, os meios hídricos sejam capazes de, por si só, eliminar determinadas cargas poluentes, o que lhes permite recuperar de situações adversas, a introdução de pesadas cargas orgânicas e/ou contaminantes sem tratamento adequado, coloca muitas vezes em causa a capacidade regeneradora dos ecossistemas.

A autodepuração torna-se particularmente importante na degradação da matéria orgânica e na diluição de compostos tóxicos, permitindo ao meio hídrico retornar total ou parcialmente às suas condições iniciais. Porém, na maior parte dos casos, a capacidade de autodepuração de um dado ecossistema, é ultrapassada, havendo acumulação de poluentes não biodegradáveis e de carga orgânica em excesso, determinando a degradação total do meio.

As descargas não controladas de águas residuais apresentam-se como situações particularmente inconvenientes, dado que, para além de causarem impactos significativos no meio recetor, podem também causar vários inconvenientes, quer ao nível da saúde pública, quer de cariz socioeconómicos.

A preocupação com a degradação e conseqüente escassez dos recursos hídricos, deixou de ser apenas uma bandeira de luta de ambientalistas fervorosos, sendo um efetivo problema de saúde pública.

A compatibilização das atividades humanas com a necessidade de preservação dos recursos hídricos, é um processo complexo, constituindo pois uma matéria que carece de análise e planeamento numa perspetiva integrada, tendo em consideração horizontes de curto, médio e longo prazo.



Uma gestão correta dos recursos hídricos pressupõe uma adequada política de planeamento, assente numa abordagem territorialmente integrada e numa perspetiva qualitativa e quantitativa dos recursos disponíveis. O planeamento pode ser entendido, como o procedimento organizado com vista à definição das melhores soluções para os problemas, presentes e futuros e é concretizado, mediante elaboração de planos de recursos hídricos, que tratarão temáticas envolvendo, valorização, proteção e gestão, com salvaguarda da harmonização do desenvolvimento regional e sectorial, colocando a tónica na economia e racionalização do seu uso. [2]

A implementação de uma política de gestão dos recursos hídricos, deve contemplar de forma integrada, todos os aspetos envolvidos, nomeadamente, de natureza ambiental, económica, técnica, sociais e legal.

1.2 Evolução do ordenamento jurídico português em termos Águas Residuais, Superficiais e Subterrâneas

O tratamento das Águas Residuais Urbanas foi regulado através da Diretiva 91/271/CEE do Conselho Europeu, de 21 de Maio de 1991, transposta para a legislação portuguesa, pelo Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de Junho.

Em conjunto com o D.L. 236/98 de 1 de Agosto que estabelece normas, critérios e objetivos de qualidade com a finalidade de proteger o meio aquático e melhorar a qualidade das águas em função dos seus principais usos, estes diplomas estabelecem normas de descarga de águas residuais, mais ou menos exigentes, em função da dimensão dos aglomerados populacionais, do estado do meio recetor e da sua capacidade de autodepuração

A Diretiva Quadro da Água (DQA)^[3] iniciou uma nova era na política europeia da água, estendendo a proteção a todas as águas naturais. Tenta-se, com isso, conseguir o seu bom estado, utilizando o princípio da gestão integrada, baseada em bacias hidrográficas, com introdução do conceito de preço da água, assente em vertentes como: uso sustentável e controlo da sua degradação (poluição).

Esta Diretiva, publicada no Jornal Oficial das Comunidades Europeias de 22 de Dezembro de 2000, foi transposta para a ordem jurídica interna pela Lei n.º 58/2005 de 29 de Dezembro, também designada por Lei da Água. Esta Lei visa estabelecer as bases e o quadro institucional, para a gestão sustentável das águas superficiais e das águas subterrâneas.

O enquadramento institucional da Lei da Água procede em conformidade com o princípio da região hidrográfica como unidade principal de planeamento e gestão.

Foram pois criadas as Administrações de Região Hidrográfica (ARH), a quem cabe as atribuições de gestão das Águas, incluindo o respetivo planeamento, licenciamento e utilização.



De acordo com o definido no artigo 89º, da Lei n.º 58/2005, de 29 de Dezembro, compete aos Organismos de Administração Pública observar o princípio da precaução e da prevenção, sem prejuízo de fiscalização das atividades que envolverem utilização dos recursos hídricos. Na aplicação da presente Lei, a verificação do cumprimento das normas previstas pode revestir a forma de fiscalização e inspeção.

A fiscalização está pois atribuída às ARH com jurisdição na área da utilização e às demais entidades a quem for conferida legalmente competência para o licenciamento da utilização dos recursos hídricos nessa área, cabendo-lhes igualmente a competência para a instauração, a instrução e o sancionamento dos processos de contraordenações por infrações cometidas na sua área de jurisdição.

A Lei n.º 58/2005, de 29 de Dezembro, em articulação com Decreto-Lei n.º 226-A/2007, de 31 de Maio, ao abrigo do princípio da precaução e da prevenção, determina que as atividades com um impacte significativo no estado da água, só podem ser desenvolvidas desde que escudadas em título de utilização. A emissão de tais títulos decorre da aplicação do Decreto-Lei n.º 226-A/2007, de 31 de Maio, relativo à utilização de recursos hídricos. Este regime impõe aos titulares de licença ou concessão um sistema de autocontrolo ou programa de monitorização das respetivas utilizações e às Administrações de Região Hidrográfica a monitorização do meio que interfere com os recursos hídricos. A titularidade dos recursos hídricos encontra-se associada à autorização prévia, à licença prévia e à prévia concessão.

A 31 de Julho de 2009 é publicada a diretiva 2009/90/CE transposta para a ordem jurídica interna pelo Decreto-Lei n.º 83/2011 de 20 de Junho. Este diploma legal, estabelece as especificações técnicas para análise e monitorização dos parâmetros químicos e físicos caracterizadores do estado das massas de água superficiais e subterrâneas, em ordem à obtenção dos objetivos de qualidade estabelecidos na diretiva 2000/60/CE (DQA).

O DL 83/2011 exige que, de forma a garantir a qualidade e a comparabilidade dos resultados analíticos dos laboratórios, para efetuar a monitorização química do estado da água, todos os laboratórios cumpram o estabelecido na norma portuguesa de acreditação NP EN ISO/IEC 17025 ^[4], no que se refere à validação dos métodos analíticos utilizados.

1.3 Seleção de Métodos Analíticos

O Laboratório da Águas do Mondego, acreditado pelo Instituto Português de Acreditação (IPAC) desde 2002, implementou, no seu sistema de gestão da qualidade, um procedimento de validação de métodos analíticos, de forma a dar cumprimento aos requisitos legais e aos requisitos da norma de acreditação. ^[5]

Com uma equipa técnica especializada de sete colaboradores, o AdMondego Lab presta serviços de análises de águas residuais, naturais e consumo humano, para clientes internos e externos, quer para controlo de processo, quer para avaliação de conformidade de requisitos legais ou outros, realizando cerca de 33 000 determinações por ano.



Tendo como objetivo principal a total satisfação das necessidades dos seus clientes, reveste-se de crucial importância, não apenas a qualidade técnica dos resultados produzidos, garantida pela validação inicial dos métodos de ensaio implementados e pela aplicação em rotina de um plano de controlo de qualidade interno e externo, mas também a obtenção destes resultados no menor prazo possível.

A implementação, validação e acreditação dos testes em cuvette, com procedimentos operacionais simples, completos e de fácil compreensão, permitiu diminuir consideravelmente o tempo da análise e a quantidade de mão-de-obra, diminuindo o prazo de entrega dos resultados com a mesma garantia de qualidade.

Para além das questões operacionais, a utilização deste tipo de métodos reveste-se também de grandes vantagens em termos de segurança para os analistas, com utilização de reagentes em pequenas quantidades e pré doseados em cuvets fechadas, evitando a sua manipulação.

No campo ambiental, a utilização deste tipo de métodos também se reveste de enormes vantagens, não apenas pela utilização de reagentes em quantidades diminutas, mas também porque as cuvets usadas são recolhidas pelo fabricante e sujeitas a tratamento adequado ao tipo de resíduos.

Na presente dissertação, procurou-se descrever a metodologia de implementação e validação de métodos de ensaio em cuvette da empresa Hach Lange, para determinação da Carência Química Oxigénio, Azoto Total e Fósforo Total em águas residuais e naturais, bem como efetuar a comparação entre estes métodos e os métodos de referência até então utilizados, e justificar a opção do Laboratório da Águas do Mondego pela implementação destas metodologias.

A Hach Lange, que possui, atualmente, 22 filiais a nível mundial, distribuídas pela Europa, China e EUA, resultou da associação, em 2004, do Dr. Bruno Lange com a HACH, uma empresa norte-americana especializada nas áreas de eletroquímica e fotoquímica.

Além de fornecer soluções práticas para as águas residuais, de processamento e potáveis, concentra-se também na sustentabilidade na área de análise da água. Nos últimos anos, a Hach Lange conseguiu reduzir consideravelmente a quantidade de matérias-primas utilizadas com os testes em cuvette. Além disso, dispõe desde 1978, de um serviço de eliminação das cuvets de teste que deixou apenas de recolher e classificar os reagentes, passando a recicla-los no centro de ambiente, especialmente construído em Düsseldorf.

A gestão dos sistemas urbanos de tratamento de águas é baseada, geralmente, na análise química de um conjunto de indicadores de qualidade.



As águas residuais domésticas são ricas numa vasta variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, propícios ao crescimento microbiológico. Nestas, estão presentes compostos essenciais em elevadas quantidades como o carbono, hidrogénio, azoto e fosforo, bem como compostos necessários em menores quantidades, como o magnésio, potássio, cálcio e manganês.

O azoto e o fósforo, são nutrientes essenciais ao crescimento de plantas, animais e microrganismos e são os principais causadores de eutrofização no meio recetor. Por outro lado o tratamento biológico das águas residuais é maximizado pelo correto balanço em azoto e em fósforo, pois estes, logo depois do carbono, são os constituintes do material celular que mais limitam o crescimento biológico.^[6]

A Carência Química Oxigénio (CQO) dá-nos informações em relação ao nível de contaminação orgânica de uma água residual. A análise de CQO é usada para avaliar a eficiência do tratamento biológico de uma água residual e a sua carga orgânica. Trata-se do parâmetro de monitorização mais referido na legislação europeia e serve como base para a construção e avaliação da eficiência de estações de tratamento de águas residuais domésticas ou industriais.



2 VALIDAÇÃO E CONTROLO DE QUALIDADE DE MÉTODOS ANALÍTICOS

2.1 Objetivo

“Um resultado para ser dado como válido tem de satisfazer os requisitos de qualidade que lhe sejam exigidos.” [7]

Todos os dias são efetuadas inúmeras medições analíticas - na verificação da qualidade da água, na realização de provas forenses em investigações criminais, nas análises clínicas, na análise de ligas metálicas, etc. – de tal forma que podemos afirmar que todos os aspetos da sociedade são suportados, de alguma forma, por medições analíticas. Em qualquer uma destas situações, é indispensável não apenas determinar o resultado correto mas também ser capaz de demonstrar que ele é, de fato, correto. [8]

O laboratório deve começar por pesquisar a existência de métodos normalizados com as características de desempenho adequadas ou, se necessário, desenvolver novos métodos de ensaio. O processo de desenvolvimento e verificação da adequabilidade deverá continuar até que o método seja capaz de satisfazer os requisitos. Este processo de verificação das características de desempenho e confirmação da adequabilidade do método, constitui a sua validação.

A validação do método deve ser efetuada sempre que são implementados novos métodos, quando são implementadas alterações a métodos já validados ou quando o controlo de qualidade efetuado em rotina indicar alterações a métodos já implementados.

Os estudos de validação devem ser progressivamente mais exigentes e exaustivos quanto mais e mais significativas as alterações efetuadas na aplicação dos métodos a novos laboratórios, novos instrumentos, novos analistas ou alterações das circunstâncias sob as quais os métodos serão realizados. [9]

Tendo em conta que se trata de um processo com custos elevados e, portanto, com possíveis constrangimentos de tempo e dinheiro, o laboratório deve decidir que parâmetros de desempenho do método devem ser avaliados, procurando efetuar a sua melhor caracterização, tendo em consideração as necessidades do cliente e a experiência existente no método em causa ou em métodos semelhantes. [8]

Atualmente, a tónica deixou de estar no desenvolvimento de métodos, passando para a seleção e avaliação de métodos normalizados ou adaptados já estudados e validados e verificação da sua aplicabilidade e cumprimento dos requisitos exigidos, em finalidades específicas.



2.2 Parâmetros de Validação

Os parâmetros de desempenho de um método analítico que devem ser considerados aquando da sua validação incluem:

- a) Especificidade e seletividade
- b) Limiares analíticos (limite de deteção e/ou limite de quantificação)
- c) Gama de trabalho e linearidade
- d) Precisão
- e) Exatidão
- f) Incertezas

2.2.1 Especificidade e seletividade

É indispensável assegurar que o sinal, atribuído a um determinado analito, produzido numa determinada medição, se deve apenas a esse analito e não à presença de algo físico ou quimicamente semelhante. – interferentes.

A seletividade de um método experimental é a sua capacidade de identificar e distinguir um determinado analito numa mistura complexa, sem interferência de outras espécies. Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão comprometidas. [10]

A especificidade refere-se à capacidade de um método analítico de dar resposta a um único analito.

Um método analítico é considerado específico ou seletivo quando a realização de testes de recuperação em amostras reais, contendo potenciais interferentes, originar taxas de recuperação próximas de 100%.

A percentagem de recuperação de uma amostra pode ser determinada através da seguinte expressão:

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{(\text{Camostra reforçada} - \text{Camostra})}{\text{Csolução reforço}} \times 100 \quad (2.1)$$

2.2.2 Gama de trabalho/Linearidade

Para qualquer método quantitativo, é necessário estabelecer a gama de concentração do analito ao longo da qual o método pode ser aplicado. A gama de trabalho de um método é o intervalo entre a maior e a menor concentração de analito numa determinada amostra, para o qual foi demonstrado que o método apresenta um adequado nível de precisão, exatidão e linearidade.



A gama linear é definida como a gama de concentrações onde a sensibilidade permanece constante, sendo expressa nas mesmas unidades do resultado obtido. [10]

Esta linearidade pode ser avaliada através de modelos estatísticos ou de representação gráfica do sinal em função da concentração do analito e determinação do coeficiente de determinação, r^2 . Este coeficiente deve ser superior a 0,995. [10]

Quando um método envolve a representação de uma curva de calibração, a gama de trabalho pode ser também avaliada pelo teste de **homogeneidade da variância**, ou seja, por comparação estatística da variância do padrão mais concentrado, S_a^2 , com a do padrão menos concentrado, S_b^2 , da curva de calibração, a partir da realização de, pelo menos, 10 determinações em condições de repetibilidade – Teste de Fisher.

2.2.3 Limiares analíticos

Atualmente, existem diversas metodologias para estimar os limiares analíticos de um método de ensaio, sendo a maioria das aproximações baseada na multiplicação do desvio padrão referente a réplicas de amostras independentes de concentração ao nível do branco, por um fator, ou baseada na multiplicação do desvio padrão do método por um fator, para os métodos com calibração analítica.

Os limiares analíticos podem ser estudados a partir da média e desvio padrão de uma série de ensaios com um branco representativo ou um padrão de baixa concentração [11].

O limite de deteção (LD) é a menor quantidade ou concentração de um analito na amostra, que pode ser distinguido, ao nível de confiança de 95%, do valor de zero ou do valor do branco [11].

Este valor pode ser estimado com base na eq. (2.2) [9]:

$$LD = 3,3S_0 + X_0 \quad (2.2)$$

em que X_0 representa a média dos valores medidos para o branco ou padrão e S_0 representa o erro padrão associado a X_0 , sendo recomendável que esta precisão seja estimada com base num conjunto de, pelo menos, 10 determinações independentes da concentração de analito.

O fator 3,3 corresponde a um nível de significância de $\alpha=0,01$ [11]

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração do determinando que pode ser quantificada, com um nível de fiabilidade aceitável e pode ser estimado com base na eq. (2.3):

$$LQ = 10S_0 + X_0 \quad (2.3)$$



em que X_0 representa a média dos valores medidos para o branco ou padrão e S_0 representa o erro padrão associado a X_0 , sendo recomendável que esta precisão seja estimada com base num conjunto de, pelo menos, 10 determinações independentes da concentração de analito.

Geralmente, em rotina, assume-se que o limite de quantificação é um múltiplo fixo do limite de deteção: ^[11]

$$LQ = 3LD \quad (2.4)$$

2.2.4 Precisão

A precisão é definida como a “Concordância dos resultados obtidos no próprio laboratório, em ensaios espaçados no tempo e independentes, aplicando o mesmo método de análise à mesma amostra, e nas condições normais de funcionamento do laboratório com respeito aos operadores e equipamento utilizado”, e é geralmente expressa na forma numérica por desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação. ^[7]

As duas formas mais comuns de avaliar a precisão de um método é através da repetibilidade ou da reprodutibilidade. Estas grandezas representam as duas medidas extremas de precisão que podem ser obtidas, sendo ambas dependentes da concentração do analito, pelo que devem ser avaliadas em vários níveis de concentração.

A repetibilidade, a mais baixa precisão esperada, representa “a fidelidade de medição para um conjunto de condições de repetibilidade”, ou seja o mesmo laboratório, o mesmo método de ensaio, o mesmo equipamento, o mesmo analista no menor intervalo de tempo possível.

A partir do desvio padrão dos resultados dos ensaios sob condição de repetibilidade é possível determinar o coeficiente de variação da repetibilidade (CV_r) em torno das n medições efetuadas ^[10]:

$$CV_r = S_r/x_{med} \times 100 \quad (2.5)$$

Sendo S_r o desvio padrão de repetibilidade e X_{med} a média dos valores considerados.

A reprodutibilidade, traduz a estimativa da variabilidade do método á escala global e é obtida fazendo variar as condições de análise – diferentes laboratórios, diferentes analistas, diferentes equipamentos, tempos distintos.

O limite de reprodutibilidade pode ser estimado a partir do desvio padrão de pelo menos 10 leituras efetuadas em diferentes amostras, diferentes equipamentos e diferentes analistas.



A Precisão Intermédia representa uma situação intermédia entre a repetibilidade e a reprodutibilidade e é reconhecida como sendo a melhor medida da precisão dos resultados de um laboratório. Esta estimativa é efetuada através de resultados obtidos no próprio laboratório, aplicando o mesmo método de ensaio e o mesmo equipamento, mas em ensaios espaçados no tempo e realizados aleatoriamente pelos analistas qualificados.^[7]

2.2.5 Exatidão

A exatidão, definida como a aproximação entre um valor medido e um valor verdadeiro de uma mensuranda ^[35,12], assenta na comparação dos resultados produzidos por um determinado método de ensaio com um valor conhecido, isto é, um valor de referência.

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

- a) Utilização de materiais de referência certificados (MRC)
- b) Participação em ensaios interlaboratoriais (EIL)
- c) Comparação com métodos de referência
- d) Ensaio fortificados

Os MRC são uma ferramenta importante na validação de um método devendo, sempre que possível, ser utilizados pelos laboratórios. Estes materiais apresentam um valor de concentração bem definido (valor de referência) e uma incerteza associada. No entanto, se por um lado estes materiais têm a vantagem de apresentam grande estabilidade e homogeneidade, por outro, apresentam custos elevados e podem não ser representativos das amostras a analisar.

Para avaliar a exatidão entre os valores obtidos na análise de um MRC e o valor apresentado no certificado, o laboratório pode recorrer a vários critérios tais como o erro absoluto, o erro relativo ou o z-score. ^[10]

Erro absoluto

$$E = |\text{Valor experimental} - \text{valor referência}| \quad (2.6)$$

Erro relativo

$$\%ER = \frac{\text{Valor experimental} - \text{valor referência}}{\text{valor referência}} \times 100 \quad (2.7)$$

Z-score

$$z - score = \frac{(\text{Valor experimental} - \text{valor referência})}{u_c} \quad (2.8)$$



em que u_c representa a incerteza combinada determinada pela entidade promotora do ensaio.

Outra forma de avaliar a exatidão de um método é através dos ensaios interlaboratoriais (EIL), particularmente os ensaios interlaboratoriais de aptidão, que se destinam a avaliar o desempenho dos laboratórios participantes. Este tipo de EIL é uma condição imposta para a acreditação do laboratório.

Este tipo de ensaios, apenas deverá ser utilizado para estimativa da exatidão do método, se o laboratório possuir um histórico de pelo menos 6 participações satisfatórias num intervalo de tempo razoável. [13]

A exatidão do laboratório na análise de EIL é geralmente efetuada através da determinação do z-score, sendo o resultado considerado satisfatório, questionável ou insatisfatório de acordo com o valor de z-score obtido, sendo:

$ z - score \leq 2 :$	Satisfatório
$2 < z - score \leq 3 :$	Questionável
$ z - score > 3 :$	Insatisfatório

Para além dos MRC e EIL, a exatidão de um método de ensaio poderá ser avaliada através da realização de ensaios fortificados. Estes ensaios, permitem testar a resposta do método analítico na presença da própria matriz da amostra em causa, o que representa uma vantagem relativamente aos MRC uma vez que nem sempre existem estes produtos com matrizes semelhantes à matriz em estudo.

A comparação dos resultados obtidos pelo método em desenvolvimento, com os resultados obtidos a partir de um método tomado como referência, baseia-se na realização de ensaios em replicado, utilizando os dois métodos de ensaio, em separado sobre as mesmas amostras, considerando apenas uma gama restrita de concentrações ou em toda gama em que se pretende validar o método. [10]

Os resultados obtidos podem ser comparados através de:

- Teste de hipótese: teste t das médias;
- Teste de hipótese: teste t das diferenças (amostras emparelhadas);
- Avaliação da função de resposta entre os dois métodos.

Quando se pretende comparar dois métodos de ensaio em gamas alargadas de concentração, ou seja, validar um método em toda a gama de trabalho, é recomendado efetuar a avaliação da função de resposta entre os dois métodos. [10]



2.2.6 Incerteza de medição

A incerteza de medição é definida como um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem razoavelmente ser atribuídos à mensuranda. [14]

De forma a cumprir os requisitos definidos na norma NP EN ISO/IEC 17025, os laboratórios acreditados devem ter procedimentos para estimar as incertezas das suas medições.

Existem diversas metodologias para estimativa destas incertezas [15]:

- a) Abordagem passo a passo, onde é necessário identificar, quantificar e combinar todas as possíveis fontes de incerteza
- b) Abordagem baseada na informação interlaboratorial, sendo usado o desvio padrão dos resultados dos participantes nestes ensaios para estimativa das incertezas
- c) Abordagem baseada em dados de validação e/ou controlo de qualidade do método analítico que consiste na utilização dos parâmetros de desempenho global do método, de forma a combinar as incertezas relativas à precisão e exatidão do método ensaio.

Atualmente, o processo mais generalizado nos laboratórios para estimativa das incertezas de medição, reside na abordagem baseada nos dados de validação e/ou controlo de qualidade. De acordo com esta metodologia, as componentes correspondentes aos erros aleatórios e sistemáticos podem ser combinadas como componentes independentes de uma expressão de adição.

A componente de incerteza associada à precisão dos resultados (erros aleatórios), é avaliada através do desvio padrão de precisão intermédia, obtido a partir do desvio padrão de resultados replicados de uma amostra ou padrão:

$$u_{prec} = CV = \frac{S}{\bar{x}} \quad (2.9)$$

sendo S o desvio padrão dos resultados dos padrões e \bar{x} a sua média, ou a partir da amplitude média de resultados duplicados de diversas amostras:

$$u_{prec} = \frac{A}{1.128} \quad (2.10)$$

sendo A a amplitude média relativa dos duplicados e 1,128 o valor tabelado para um número de réplicas igual a 2

[11]



A componente de incerteza associada à exatidão dos resultados (erros sistemáticos), pode ser avaliada através do uso de MRC, EIL ou ensaios de recuperação.

Esta componente, pode ser estimada a partir da eq. (2.11) ^[13]

$$u_{exat} = \sqrt{RMS^2 + u(Cref)^2} \quad (2.11)$$

em que

$$RMS = \sqrt{\frac{\sum(\text{valor experimental} - \text{Valor referência})^2}{n}} \quad (2.12)$$

(n - número de ensaios considerados)

e deve sempre ter em conta a contribuição associada à incerteza da determinação do laboratório e a incerteza associada ao próprio valor de referência. De um modo geral, em rotina, este último fator pode ser desprezado, pelo que se considera ^[13]:

$$u_{exat} = \sqrt{\frac{\sum(\text{valor experimental} - \text{Valor referência})^2}{n}} \quad (2.13)$$

Uma vez estimadas as incertezas associadas à precisão e exatidão dos resultados, a incerteza padrão combinada é obtida pela eq. (2.14):

$$u_{comb} = \sqrt{u_{prec}^2 + u_{exat}^2} \quad (2.14)$$

A incerteza expandida é calculada para um grau de confiança de 95%, utilizando um fator de expansão K=2

$$U = K \times u_{comb} \quad (2.15)$$



2.3 Testes de Significância

Qualquer método analítico, livre de erros sistemáticos, está sempre sujeito a erros aleatórios que fazem com que a grandeza medida raramente seja exatamente igual ao valor tido como verdadeiro.

Os testes de significância são testes estatísticos que permitem avaliar se a diferença entre o valor medido e o valor verdadeiro se deve apenas à existência de erros aleatórios. [16]

As distribuições estatísticas *t-student* e a F de Fisher são as mais utilizadas neste tipo de testes, assumindo-se geralmente que a distribuição de dados é normal e independente.

Um teste de significância pretende avaliar a veracidade de uma hipótese, conhecida como hipótese nula (H_0).

2.3.1 Comparação de um valor experimental com um valor verdadeiro

A comparação direta de uma variável aleatória normal (x) com um determinado valor constante (μ), pode ser efetuado através de um teste do tipo *t-student*. De modo a decidir se a diferença entre o valor médio (\bar{x}) e o valor de referência (μ) é significativa, calcula-se o valor de t através da seguinte eq.:

$$TV = \frac{(\bar{x} - \mu)\sqrt{n}}{s} \quad (2.16)$$

sendo s o desvio padrão e n o tamanho da amostra.

Neste caso assume-se como hipótese nula (H_0), a igualdade entre \bar{x} e μ e como hipótese alternativa que existem diferenças significativas entre os dois valores, ou seja, que a diferença entre eles não se deve apenas a erros aleatórios.

Se o valor absoluto de TV exceder um determinado valor crítico, tabelado para um determinado nível de significância (geralmente 95%) e $n - 1$ graus de liberdade, a hipótese nula é rejeitada.

Estatisticamente, pode ser calculada a probabilidade de que a diferença entre os dois valores seja apenas devido a erros aleatórios. Para o nível de significância utilizado, a hipótese nula é rejeitada se esta probabilidade for superior a 5%.

Importa ressaltar que o facto de se reter uma hipótese nula não significa, necessariamente, que a mesma seja verdadeira mas sim que não foi demonstrado que é falsa.



2.3.2 Comparação de duas variâncias independentes

Quando está em causa a comparação de variâncias de distribuições normais aleatórias e independentes, determina-se um valor de teste, através do quociente entre as variâncias associadas a cada uma das distribuições:

$$TV = \frac{S_a^2}{S_b^2} \quad (S_a > S_b) \quad (2.17)$$

Como hipótese nula (H_0), assume-se que a diferença existente entre as variâncias é puramente aleatória, ou seja, não têm significado estatístico e como hipótese alternativa (H_1), assume-se que as duas variâncias são estatisticamente diferentes, o que corresponde a efetuar um teste bilateral para o quociente de variâncias.

O valor experimental obtido, TV, é comparado com o valor de F bilateral tabelado (distribuição de Fisher) para um determinado intervalo de confiança, $\alpha/2$, e considerando o número de graus de liberdade do numerador e do denominador, $F(\alpha/2, n-1, n-1)$. De acordo com as recomendações das normas ISO, o intervalo de confiança é, geralmente, de 95%.

A conclusão pode ser efetuada através da comparação com valores tabelados, em que:

- Se o valor TV não exceder o respectivo valor crítico significa que se aceita a hipótese nula, ou seja, que as diferenças entre as duas variâncias não são significativas e que a gama de trabalho está bem ajustada.
- Se o valor TV for superior ao respectivo valor crítico significa que se rejeita a hipótese nula, ou seja, as diferenças entre as duas variâncias são significativas e a gama de trabalho deve ser reduzida, dividida ou assumida uma regressão ponderada.

Atualmente, esta metodologia de comparação tem vindo a ser substituída pelo cálculo do valor prova, ou seja, a probabilidade de se observar um valor igual ou mais extremo do que o observado, se a hipótese nula é verdadeira.

Podemos interpretar o valor prova como a medida do grau de concordância entre os dados e H_0 ; assim, quanto menor for o p-value, menor é a consistência entre os dados e a hipótese nula.

Genericamente, se o valor de p for inferior ao nível de significância considerado (geralmente 5%), rejeitamos a hipótese nula.

2.3.3 Diagnóstico de valores aberrantes

Entende-se por valor aberrante, qualquer valor que não pertence a uma determinada distribuição.



Sempre que dispomos de um conjunto de dados, deve ser verificada a existência de possíveis “outliers”. A cada um dos conjuntos de valores obtidos é efetuado um teste estatístico para verificação da existência de valores aberrantes, como por exemplo, o teste de Grubbs, recomendado pelas normas ISO.

O teste de Grubbs, admite como hipótese nula (H_0), que o valor em causa não difere significativamente do valor médio e como hipótese alternativa (H_1), que este valor é significativamente diferente do valor médio. Assim, calcula-se o valor G através da eq. seguinte

$$G = \frac{|x_7 - \bar{x}|}{S_x} \quad (2.18)$$

sendo x_7 o valor em causa, \bar{x} e S_x valor médio e desvio padrão dos n valores experimentais, respetivamente.

O valor em causa é excluído se G exceder o valor crítico, para um intervalo de confiança de 95% e n valores experimentais.

2.4 Controlo Qualidade

A validação do método dá-nos ideia das suas limitações e capacidades, fatores que podem ser verificados experimentalmente quando o método se encontra sob controlo.

Na aplicação do método em rotina, é necessário utilizar ferramentas de controlo específicas de modo a verificar continuamente que o mesmo se encontra sob controlo, ou seja, que o método continua a produzir os resultados esperados.

O tipo de ferramentas de controlo de qualidade (CQ) a utilizar depende da natureza e frequência das determinações, do número de amostras a analisar, do grau de automatismo, das dificuldades do teste e de todos os factos que conseguimos apurar durante o desenvolvimento do processo de validação.

Os resultados quantitativos e qualitativos produzidos nos laboratórios analíticos, são utilizados em diversas tomadas de decisão, pelo que devem ser suficientemente fiáveis e esclarecedores. Resultados incorretos ou aproximados são, muitas vezes, piores do que um não resultado, uma vez que podem conduzir a interpretações incorretas.

Decisões sobre alterações em processos, modificações de infraestruturas ou construções de instalações, podem basear-se nos resultados analíticos produzidos, pelo que, as implicações financeiras, sociais ou legais que tais decisões podem acarretar, justificam o extremo cuidado e rigor, a que os processos analíticos devem estar obrigados.



O analista deve estar ciente, não apenas da sua responsabilidade na caracterização fiável da amostra em causa, mas também que a sua competência profissional, a validade dos procedimentos de ensaio e os valores dos resultados reportados, podem sempre ser questionados, pelo que devem ser mantidos registos do programa de controlo implementado, que suportem os resultados produzidos.

Os dados de controlo da qualidade devem ser analisados e, quando não satisfaçam os critérios predefinidos, devem ser tomadas ações para corrigir o problema e evitar a apresentação de resultados incorretos.

A tarefa do CQ é administrar a frequência das falhas de qualidade. É necessário equilibrar o custo do CQ com o benefício na redução das falhas de qualidade a um nível aceitável.

De acordo com a NP EN ISO/IEC 17025:2005 cap. 5.9: “O laboratório deve ter procedimentos de controlo da qualidade para monitorizar a validade dos ensaios e calibrações realizados. Os dados daí resultantes devem ser registados por forma a que se possam detetar tendências e, sempre que praticável, ser aplicadas técnicas estatísticas na análise dos resultados. Esta monitorização deve ser planeada e revista, e pode incluir as seguintes ações:

- a) uso regular de materiais de referência certificados e/ou controlo da qualidade interno com recurso a materiais de referência secundários;
- b) participação em programas de comparação interlaboratorial ou ensaios de aptidão;
- c) ensaios e/ou calibrações em replicado, utilizando os mesmos métodos ou métodos diferentes;
- d) novo ensaio ou calibração de itens retidos;
- e) correlação dos resultados de características diferentes de um mesmo item”

As ações de controlo de qualidade são habitualmente divididas em controlo qualidade interno e controlo qualidade externo

2.4.1 Controlo Qualidade Interno

O controlo de qualidade interno consiste no conjunto de técnicas operacionais usados pelos analistas para assegurar continuamente a qualidade dos resultados analíticos produzidos focando-se, principalmente, na monitorização da precisão do método. Este controlo, depende apenas da vontade e meios do laboratório e não de um fator externo, e deve incluir a utilização regular de:

- calibração
- brancos
- padrões de controlo
- amostras reforçadas
- amostras em duplicado



Os resultados dos programas de controlo de qualidade podem ser usados de várias maneiras: o analista terá à sua disposição um importante indicador da qualidade do seu trabalho diário, o cliente poderá concluir da qualidade do laboratório e o laboratório pode usar os resultados na estimativa da incerteza da medição.

A interpretação dos resultados de CQ deve ser baseada em critérios objetivos, devidamente documentados, sempre que possível, em princípios estatísticos. ^[17]

O controlo de qualidade desenvolvido em rotina deve ser parte de um sistema de qualidade e ser formalmente revistos numa base regular.

Para este efeito, o Laboratório da Águas do Mondego aprovou um documento, Plano Controlo Qualidade Métodos Físico-químicos, onde define, para cada um dos métodos implementados, quais as ferramentas de controlo de qualidade a utilizar em rotina, bem como a sua periodicidade.

Todas estas ferramentas são controladas em cartas de controlo ou mediante o estabelecimento de critérios de aceitação.

2.4.2 Controlo Qualidade externo

As ações de controlo de qualidade externo atuam, principalmente, ao nível da exatidão dos resultados.

Uma das melhores maneiras de um laboratório analítico monitorizar o seu desempenho, é participar regularmente em ensaios de aptidão (EIL) ou efetuar a análise de Materiais de referência certificados (MRC), que ajudam a aferir não só o desempenho entre laboratórios, mas também a existência de erros sistemáticos.

Ao nível do controlo de qualidade externo, o Laboratório participa regularmente, geralmente com uma frequência anual, em programas de ensaios interlaboratoriais promovidos por entidades aprovadas pelo IPAC. Estes ensaios são selecionados de modo a que, pelo menos, num ciclo de acreditação de 4 anos, todas as gamas de trabalho validadas sejam ensaiadas.



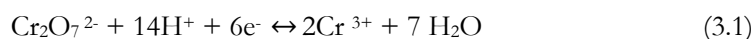
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Existem vários métodos analíticos para determinação laboratorial dos parâmetros indicadores referidos, geralmente baseados em normas nacionais e internacionais. Estes métodos, apesar de bem estudados e documentados são, geralmente, demasiados sofisticados com tempos de análise demasiado longos, para além de utilizarem substâncias tóxicas prejudiciais para os analistas e para o ambiente. Assim, tem surgido uma necessidade crescente de desenvolver novos métodos analíticos, mais rápidos, mais baratos e utilizando menores quantidades de substâncias tóxicas, que sejam suficientemente confiáveis, precisos e com capacidade de dar resposta em tempo real. [18]

3.1.1 Carência química de oxigénio (LCK 314/514)

A CQO é uma medida da quantidade de oxigénio necessária para oxidar completamente, a partir de meios químicos, a matéria orgânica presente numa água e é um dos parâmetros mais importantes na caracterização físico-química de águas residuais.

Para este efeito, o oxigénio equivalente à matéria orgânica é medido pela utilização de um agente oxidante forte, como o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) que, na presença de sulfato de prata como catalisador e sulfato de mercúrio, agente de eliminação de cloratos, oxida a matéria orgânica, sendo o crómio (VI) reduzido a crómio (III), de acordo com a Eq. (3.1):



A Hach Lange dispõe de 10 diferentes gamas de testes em cuvete para determinação do CQO permitindo, na maioria dos casos, a determinação direta a partir da amostra perfeitamente homogeneizada, sem diluições prévias, figura 3.1 [19]:

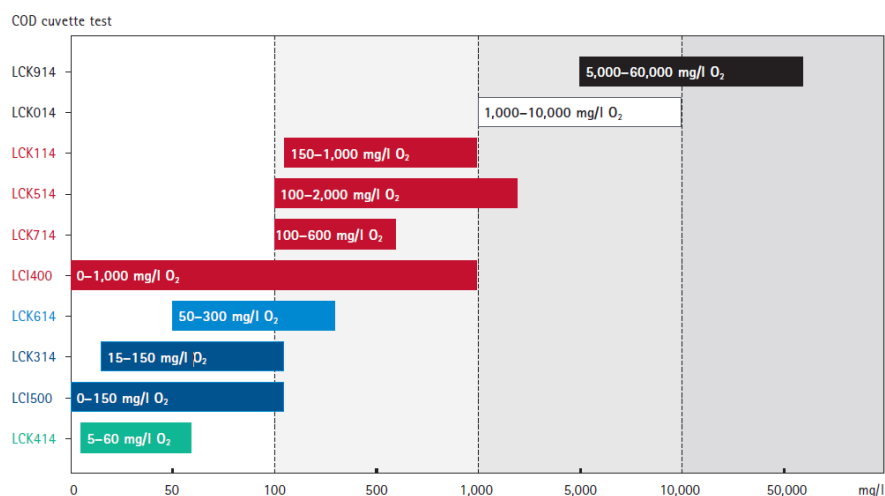


Figura 3.1- Gamas trabalho CQO Hach Lange



As gamas de trabalho selecionadas pelo Laboratório da Águas do Mondego para desenvolvimento dos testes de validação e posterior acreditação, foram as gamas correspondentes ao LCK 314 (15 a 150 mg O₂/L) e LCK 514 (100 a 2 000 mg O₂/L), ambas aplicáveis a águas residuais e naturais, uma vez que com estas se consegue enquadrar a maioria das amostras ensaiadas, sem necessidades de efetuar diluições prévias.

No caso da gama mais baixa de concentrações, correspondente ao LCK 314, a quantidade de dicromato necessária para oxidar toda a matéria orgânica, é medida espectrofotometricamente a 448 nm, através da redução da coloração amarela do ião Cr⁶⁺; Para a gama de trabalho correspondente ao LCK 514, a determinação é efetuada a 605 nm, através do aumento da coloração verde do ião Cr³⁺

O presente método, baseado na ISO 15705:2002, é sensível a certas interferências, principalmente à presença de cloretos cujo teor não deve exceder os 1500 mg Cl/L. Amostras com concentrações de cloretos superiores a este valor, deverão ser previamente diluídas; se tal não for possível, a determinação de CQO não deverá ser efetuada através deste método analítico.

3.1.2 Azoto Total (LCK 138)

A eliminação dos compostos de azoto é um aspeto fundamental no tratamento das águas residuais. Os processos de nitrificação e desnitrificação devem ser controlados de forma tão eficiente quanto possível, de modo a garantir que os valores de azoto no efluente final cumpram os requisitos legais.

As principais causas de contaminação das águas residuais com azoto são a degradação do material vegetal e animal e a agricultura. Os fertilizantes sintéticos e os resíduos do processamento de alimentos são também fonte de contaminação com azoto; estes compostos podem ainda ser libertados pelos microrganismos nos sistemas de tratamento, seja por metabolismo ou pela sua morte.

A presença dos diversos compostos de azoto nas águas superficiais, Figura 3.2, resulta em variados efeitos nocivos, como a forte depleção de oxigénio, o aumento de pH para valores altamente tóxicos para as espécies aquáticas e fenómenos de eutrofização de lagoas, pântanos e cursos de água. ^[20]

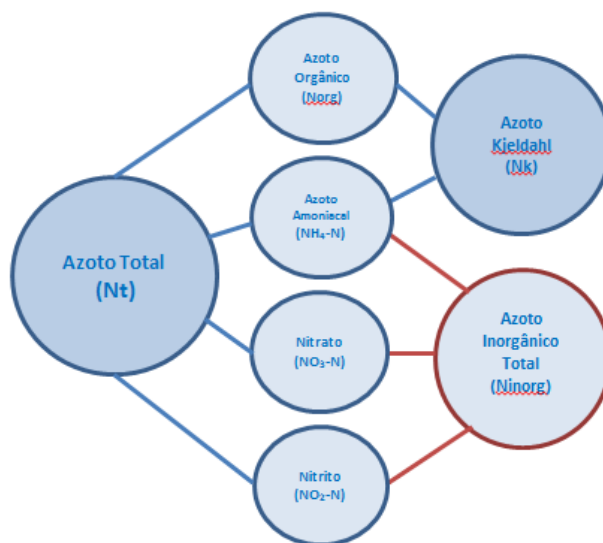


Figura 3.2 – Diagrama representativo da especiação de compostos Azoto, sua classificação e terminologia de quantificação [19]

Assim, foram definidos pela legislação, os valores limite da concentração dos compostos de azoto nas águas residuais a descarregar para as águas superficiais. Para além das diretivas europeias, cada Estado Membro define outros requisitos adicionais, sendo, no caso do Estado Português, estes limites definidos pela APA/ARH e expressos nas licenças de utilização dos recursos hídricos para rejeição de águas residuais.

O método LCK 138, baseado na ISO 11905-1:1997, é aplicável a águas residuais e naturais, com uma concentração de Azoto Total entre 3 e 15 mg N/L. No presente método, o azoto orgânico e inorgânico é oxidado a nitratos, por digestão com peroxodissulfato em solução alcalina (NaOH), na presença do tetraborato de sódio como catalisador; após eliminação da turvação da amostra com azida de sódio, o ião nitrato reage com o 2,6-dimetilfenol, numa mistura de ácido sulfúrico e fosfórico, formando um composto de nitrofenol (4-nitro-2,6-dimetilfenol). A medição é efetuada espectrofotometricamente a 345 nm.

3.1.3 Fósforo Total (LCK 348)

Os compostos de fósforo presentes nas águas residuais ou descarregados diretamente nas águas superficiais, podem ter origem em fertilizantes arrastados dos solos, excreções humanas e animais ou detergentes e agentes de limpeza

Altas concentrações de compostos de fósforo nas águas superficiais, favorecem o crescimento de algas, podendo ocorrer fenómenos de eutrofização (enriquecimento do meio aquático com nutrientes, sobretudo compostos de azoto e ou de fósforo, que provoque o crescimento acelerado de algas e de formas superiores de plantas aquáticas, perturbando o equilíbrio biológico e a qualidade das águas em causa). Apenas 1 g de fósforo sob a forma de fosfatos, pode provocar o crescimento de cerca de 10 g de algas; quando estas algas morrem, o seu processo de decomposição provoca uma carência de oxigénio de cerca de 150 g. [21]



O fósforo ocorre nas águas superficiais e residuais, principalmente sob a forma de fosfatos - ortofosfatos, polifosfatos e compostos orgânicos de fósforo, estando, normalmente, os primeiros em maior proporção.

A análise do fósforo total compreende duas etapas gerais: a conversão de todas as formas de fósforo em ortofosfatos dissolvidos (digestão ácida) e a determinação colorimétrica destes ortofosfatos. Uma vez que o fósforo pode ocorrer na natureza em combinação com a matéria orgânica, os processos de digestão devem ser capazes de oxidar efetivamente toda a matéria orgânica, transformando o fósforo em ortofosfatos.^[22]

A figura 3.3 representa os métodos de análise para as diversas formas de compostos de fósforo:

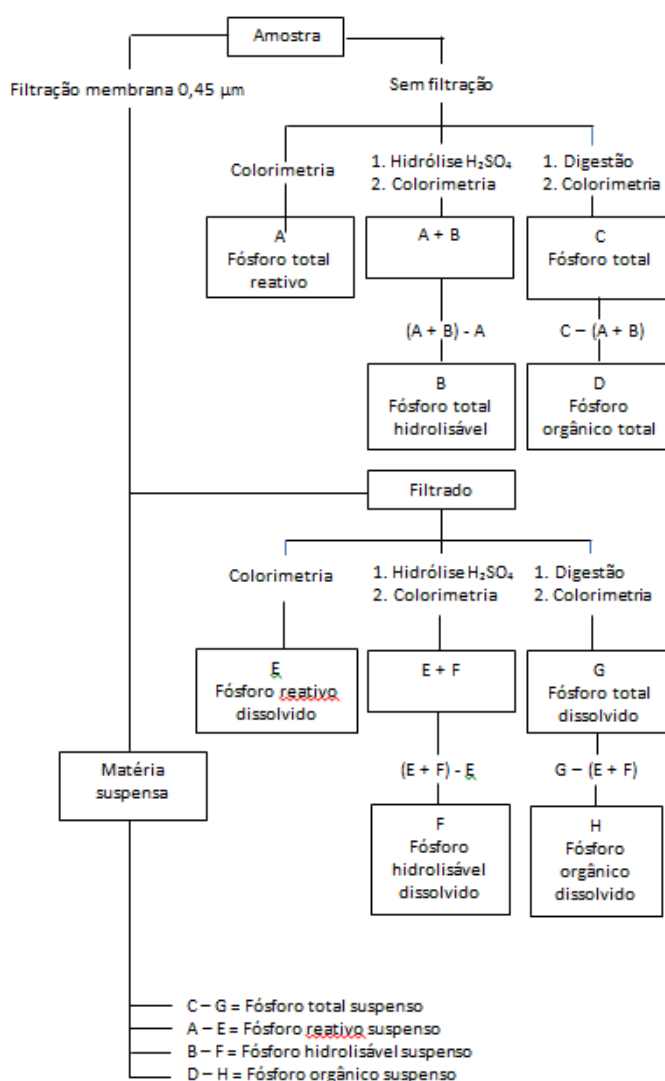
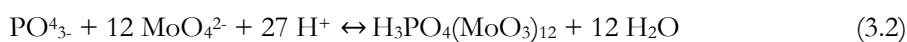


Figura 3.3 – Diagrama representativo das diversas formas de compostos de fósforo em amostras ambientais, sua classificação e metodologias de análise [22]



O controlo e monitorização da eliminação dos compostos de fósforo e, em última análise, o controlo dos seus valores limite, requerem a análise regular da concentração destes compostos em diversos pontos do processo de tratamento de águas residuais.

O presente método, baseado na ISO 6878:2004 aplicável a águas residuais e águas naturais com uma concentração de Fósforo Total entre 1,0 e 5,0 mg P/L, compreende a oxidação prévia de todas as formas de fosfatos a ortofosfatos por digestão com peroxidissulfato na presença do metaborato de sódio como catalisador e na posterior reação do ião fosfato com os iões de molibdato e antimónio, em solução ácida, formando um complexo, o heteropoliácido 12-molibdofosfórico (Eq. 3.2) que, na presença de ácido ascórbico, se reduz a azul de fosfomolibdato (Eq. 3.3), um complexo de cor azul determinado fotometricamente a 880 nm.



3.2 Equipamento e Reagentes

Os testes em cuvete da Hach Lange são utilizados com equipamentos dedicados, de modo a garantir a máxima confiança no procedimento analítico. O equipamento assim desenvolvido, é manuseado de forma simples e sistemática, minimizando a ocorrência de erros.

- Termoreator marca Hach Lange HT 200 S capaz de atingir temperaturas de 170 °C. Este equipamento é sujeito anualmente a um estudo de perfil das temperaturas, de modo a garantir que a temperatura desejada é alcançada em todos os pontos



Figura 3.4 - Termoreator Hach Lange HT 200 S [23]



- Fotómetro marca Hach Lange modelo DR 2800 com capacidade para efetuar leituras entre os 340 e os 900 nm.

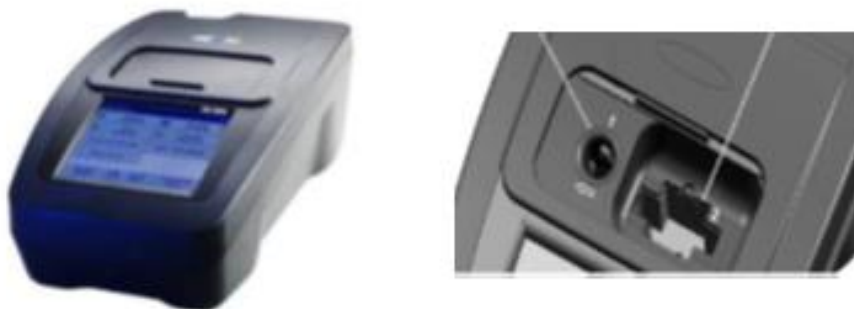


Figura 3.5 - Fotómetro Hach Lange DR 2800 [24]

As cuvetes de teste são colocadas no fotómetro Hach Lange DR2800, o software do fotómetro reconhece automaticamente o código de barras presente em cada cuvete, identificando o comprimento de onda e a curva de calibração de fábrica em que a amostra/padrão deve ser interpolada.

Este fotómetro com calibrações analíticas de fábrica, identifica o teste através do código de barras da cuvete e roda a cuvete efetuando 10 medições rotativas e excluindo os erros – quaisquer riscos, sujidade ou defeitos no vidro da cuvete são detetados e as medições efetuadas nesse ponto são rejeitadas. [25]

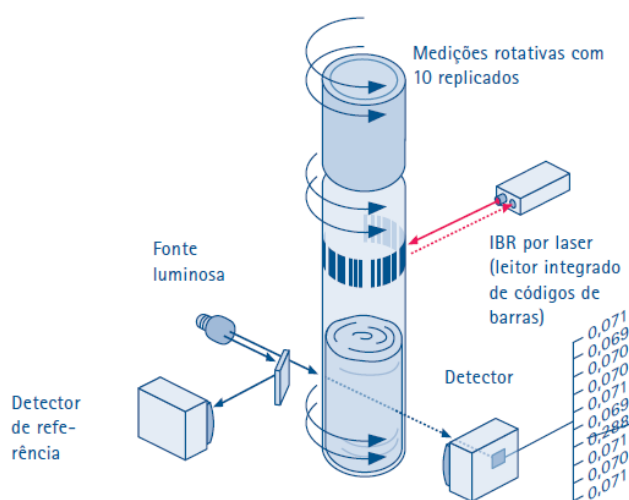


Figura 3.6 - Medição rotativa dos testes em cuvete

Anualmente é efetuada pelo fabricante uma verificação do funcionamento deste equipamento de modo a garantir as características de desempenho, nomeadamente no que se refere a comprimentos de onda e absorvâncias.



A linearidade das curvas de calibração pré gravadas é avaliada periodicamente e sempre após esta verificação externa.

- Micropipeta marca Eppendorf modelo Research, capaz de medir volumes entre 100 e 1000 μL . Este equipamento é sujeito anualmente a uma calibração de modo a garantir a fiabilidade dos volumes pipetados.
- Micropipeta marca Eppendorf modelo Research, capaz de medir volumes entre 500 e 5000 μL . Este equipamento é sujeito anualmente a uma calibração de modo a garantir a fiabilidade dos volumes pipetados.

Reagentes CQO

- **Soluções Padrão**

Solução Padrão de CQO, 2 000 mg O₂/L

Dissolver 0,850 g de hidrogenoftalato de potássio $\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{-K}$ (CAS n.º 877-24-7), previamente seco na estufa a cerca de 105°C durante aproximadamente 2 horas, em água ultra pura e diluir a 500 mL (preparar mensalmente)

Solução Padrão de CQO, 5000 mg O₂/L

Dissolver 2,125 g de hidrogenoftalato de potássio $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ (CAS n.º 877-24-7), previamente seco na estufa a cerca de 105°C durante aproximadamente 2 horas, em água ultra pura e diluir a 50 mL. (preparar mensalmente)

- **Cuvetes de teste**

A cubete de teste contém as quantidades exatas de todos os reagentes que intervêm na reação (dicromato de potássio, sulfato de prata e sulfato de mercúrio), sendo apenas necessária a adição da amostra perfeitamente homogeneizada.

LCK 314 (gama de 15 a 150 mg O₂/L)

LCK 514 (gama de 300 a 2 000 mg O₂/L)

Reagentes Nt

- **Soluções Padrão**

Solução de Glicina, 100mg/l

Dissolver 0,536 g de glicina, $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$ (CAS n.º 56-40-6) em água ultra pura, transferir para um balão de diluição de 1000 mL e completar o volume com água ultra-pura

- **Cuvetes de teste**

Os reagentes a adicionar são fornecidos em cada caixa das cuvetes de teste.

LCK 138 A - Hidróxido sódio, NaOH

LCK 138 B - Peroxodissulfato potássio e metaborato sódio



LCK 138 Microcap C – Sulfto de sódio e azida de sódio

LCK 138 D – Solução de 2,6 dimetilfenol em ácido sulfúrico e ácido fosfórico

Reagentes Pt

- **Soluções Padrão**

Solução Padrão de Fosfato de potássio, KH_2PO_4 (CAS n. ° 7732-18-5) – solução comercial com concentração de **1000 mg PO_4^{3-} /L (326 mg P /L)**

- **Cuvetes de teste**

LCK 348 DosisCap Zip – Peroxidissulfato de sódio e metaborato de sódio

LCK 348 B – Ácido sulfúrico, Heptamolibdato de amónio e tartarato de antimónio e potássio

LCK 348, DosiCap C – Ácido ascórbico e metaborato de sódio

3.3 Instruções Técnicas

3.3.1 Carência química de oxigénio

Homogeneizar a amostra e o sedimento contido nas cuvetes de teste, pipetar 2,0 mL da amostra, inverter a cuvette várias vezes e colocar a digerir durante 15 min a 170 °C no digestor HT 200 S.

Uma vez terminada a digestão, deixar arrefecer a amostra à temperatura ambiente, inverter 2 vezes a cuvette de teste, cuidadosamente, limpar o exterior da cuvette, colocar no fotómetro DR 2800, selecionar “programas de código de barras”.

Através do reconhecimento do código de barras, é identificado o comprimento de onda e a curva de calibração onde o resultado deve ser interpolado. A cuvette de teste vai rodando enquanto o equipamento efetua 10 leituras sucessivas.

Fluxograma

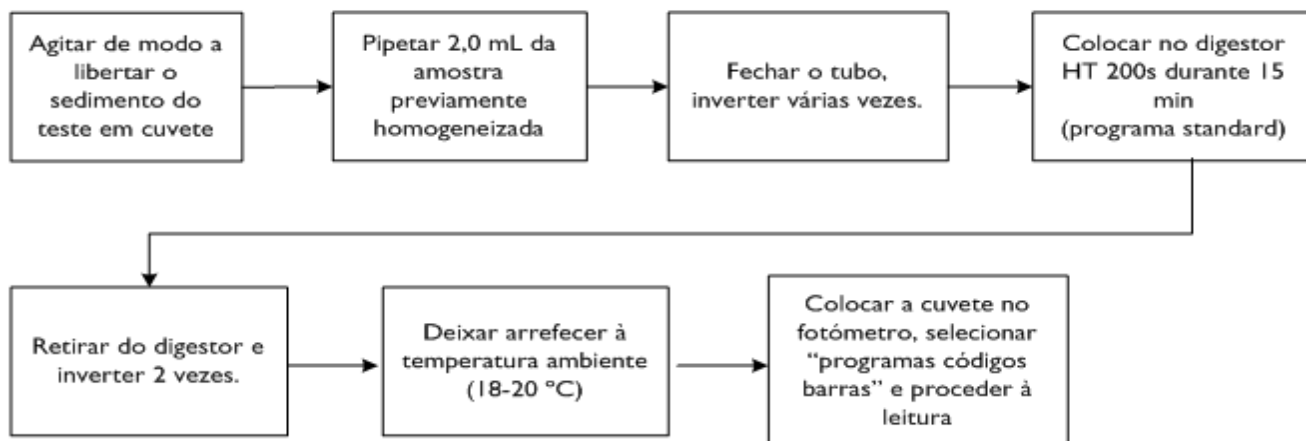


Figura 3.7 - Fluxograma do procedimento experimental referente à determinação de CQO



3.3.2 Azoto Total

Para um tubo de digestão pipetar rapidamente 1,3 mL da amostra a analisar +1,3 mL da solução A+1 comprimido oxidante B, fechar imediatamente, sem inverter, colocar de imediato no digestor HT 200 S durante 15 min a 170 °C.

Após terminar a digestão, deixar arrefecer a amostra até à temperatura ambiente, adicionar 1 Microcap C, voltar a fechar o tubo e inverter várias vezes até que seja removido todo o reagente liofilizado contido na Microcap C e até que não haja vestígios de reagente nas paredes do tubo de digestão.

Pipetar, cuidadosamente, 0,5 mL da amostra digerida para a cuvete de teste e 0,2 mL da solução D, fechar de imediato e inverter várias vezes até que não sejam visíveis quaisquer estrias na cuvete de teste.

Após 15 min, limpar o exterior da cuvete, colocar no fotómetro DR 2800, seleccionar “programas de código de barras”. Através do reconhecimento do código de barras, é identificado o comprimento de onda e a curva de calibração onde o resultado deve ser interpolado. A cuvete de teste vai rodando enquanto o equipamento efetua 10 leituras sucessivas.

Fluxograma

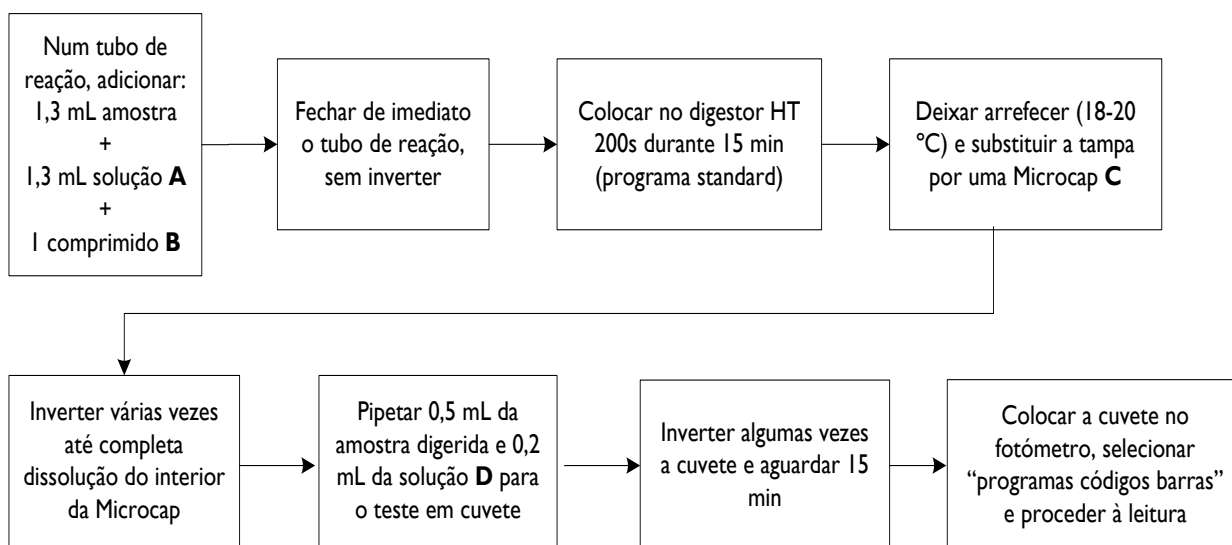


Figura 3.8 - Fluxograma do procedimento experimental referente à determinação de Nt



3.3.3 Fósforo Total

Para uma cuvete de teste, pipetar 0,5 mL de amostra perfeitamente homogeneizada, fechar a cuvete invertendo a tampa, agitar e digerir durante 15 min a 170 °C no digestor HT 200 S

Uma vez terminada a digestão, deixar arrefecer à temperatura ambiente, agitar, pipetar 0,2 mL do reagente B, fechar a cuvete com a DosiCap C, inverter algumas vezes e deixar arrefecer.

Após 10 min, voltar a inverter as cuvetes algumas vezes, limpar o exterior da cuvete, colocar no fotómetro DR 2800, seleccionar “programas de código de barras”. Através do reconhecimento do código de barras, é identificado o comprimento de onda e a curva de calibração onde o resultado deve ser interpolado. A cuvete de teste vai rodando enquanto o equipamento efetua 10 leituras sucessivas.

Fluxograma

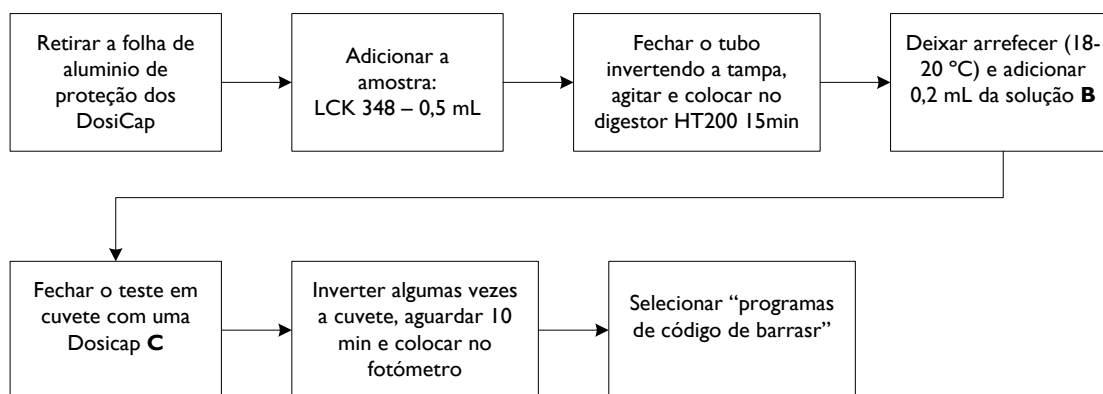


Figura 3.9 - Fluxograma do procedimento experimental referente à determinação de Pt

3.4 Controlo de Qualidade

De forma a comprovar que, diariamente, os resultados produzidos pelos métodos de ensaio em estudo, têm a qualidade exigida, os ensaios efetuados são acompanhados por um conjunto de ferramentas de controlo de qualidade, planeadas de forma a garantir a qualidade dos resultados sem, no entanto, imputar às determinações custos excessivos.

Para tal, o AdMondego Lab elaborou um documento, Plano Controlo Qualidade Métodos Físico-químicos (Figura 3.10), que identifica as ferramentas de controlo de qualidade a utilizar, bem como a sua periodicidade.

Todas as ferramentas utilizadas são controladas em cartas de controlo de indivíduos ou através da utilização de critérios de aceitação.



	Parâmetro	Conservação		Tipo CQ	Periodicidade			
		Preferencial	Máxima					
Fotometria (testes em cuvete)	Azoto Total LCK 138 (Método Interno)	Próprio dia (Instruções fabricante)	30 d -18 °C (ISO 5667-3:2012)	Linearidade da curva da calibração	Anual (após verificação externa do fotómetro)			
				Duplicado	Semanal			
				Ensaio de recuperação	Quinzenal			
				Padrão de limite de quantificação (3 mg/L)	Por sessão de trabalho			
				Padrão do extremo da gama (15 mg/L)				
	CQO LCK 515 (Método Interno)	Próprio dia (Instruções fabricante)	28 d pH<2 H ₂ SO ₄ 5±3 °C (SMEWW 22 ed 1060)	Linearidade da curva da calibração	Anual (após verificação externa do fotómetro)			
				Duplicado	Semanal			
				Ensaio de recuperação	Quinzenal			
				Padrão de limite de quantificação (300 mg/L)	Por sessão de trabalho			
				Padrão do extremo da gama (2000 mg/L)				
				Branco	Por caixa			
	CQO LCK 314 (Método Interno)	Próprio dia (Instruções fabricante)	28 d pH<2 H ₂ SO ₄ 5±3 °C (SMEWW 22 ed 1060)	Linearidade da curva da calibração	Anual (após verificação externa do fotómetro)			
				Duplicado	Semanal			
				Ensaio de recuperação	Quinzenal			
				Padrão de limite de quantificação (15 mg/L)	Por sessão de trabalho			
				Padrão de controlo (150 mg/L)				
				Branco	Por caixa			
				Nota: Se a matriz ensaiada for água de consumo ou natural , deve fazer-se um duplicado e um ensaio de recuperação por sessão de trabalho				
	Fósforo Total LCK 348 (Método Interno)	Próprio dia (Instruções fabricante)	28 d 5±3 °C pH<2 H ₂ SO ₄ (SMEWW 22 ed 1060)	Curva de calibração	Semestral e obrigatoriamente após verificação externa do fotómetro			
				Duplicado	Semanal			
				Ensaio de recuperação	Quinzenal			
				Padrão de limite de quantificação (1 mg/L)	Por sessão de trabalho			
				Padrão do extremo da gama (5 mg/L)				
				Nota: É necessário fazer o auto zero do equipamento com um branco digerido				

Figura 3.10 - Plano Controlo Qualidade Métodos Físico-químicos (AdMondego LAB)



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os métodos de ensaio em cuvete da Hach Lange, são comercializados com indicação precisa das gamas de trabalho e matrizes aplicáveis, bem como indicação de todos os potenciais interferentes a considerar e respectivos níveis de concentração.

4.1 Linearidade

A linearidade das curvas de fábrica pré gravadas no fotómetro DR 2800 foi avaliada a partir da leitura de 4 padrões de calibração e branco de cada um dos analitos em estudo, preparados em 3 dias diferentes, de modo a cobrir todas as gamas de trabalho.

Para além da verificação visual da linearidade, foi também efetuada uma comparação entre a concentração teórica dos padrões e a concentração obtida nas curvas Hach Lange, através do traçado da relação entre ambas as leituras.

Foi ainda efetuado o teste de homogeneidade de variâncias entre os padrões dos extremos das retas de calibração em todas as gamas de trabalho.

4.1.1 Carência química oxigénio (LCK 314)

Os padrões de calibração para verificação da linearidade da curva de calibração da gama LCK 314, foram preparados a partir de uma solução de hidrogenoftalato de potássio com uma concentração teórica de 2 000 mg O₂/L, medindo-se rigorosamente os volumes definidos no quadro seguinte:

Tabela 4.1 - Padrões CQO LCK 314 para preparação curva calibração

Conc. final O ₂	Conc. Inicial O ₂	Volume pipetar	Volume balão
Branco	0 mg/L	Preparar um ensaio com água ultra pura	
P1	15 mg/L	375 µL	50 mL
P2	30 mg/L	750 µL	50 mL
P3	100 mg/L	2 500 µL	50 mL
P4	150 mg/L	3 750 µL	50 mL

**Curvas de calibração e relação concentração teórica/concentração obtida**

A leitura destes padrões foi efetuada a 448 nm em unidades de absorvância e traçadas as respetivas curvas de calibração (Figuras 4.1, 4.3 e 4.5). Foi ainda traçada a relação entre a concentração teórica dos padrões e a respectiva concentração experimental (Figuras 4.2, 4.4 e 4.6).

Tabela 4.2 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de CQO LCK 314 – curva 1

	Conc. Teórica (mg O ₂ /L)	Conc. Obtida (mg O ₂ /L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 1	0,000	0,802	0,815	-
	15,000	15,3	0,746	2,000
	30,000	28,4	0,670	-5,333
	100,000	97,8	0,397	-2,200
	150,000	151,6	0,216	1,067

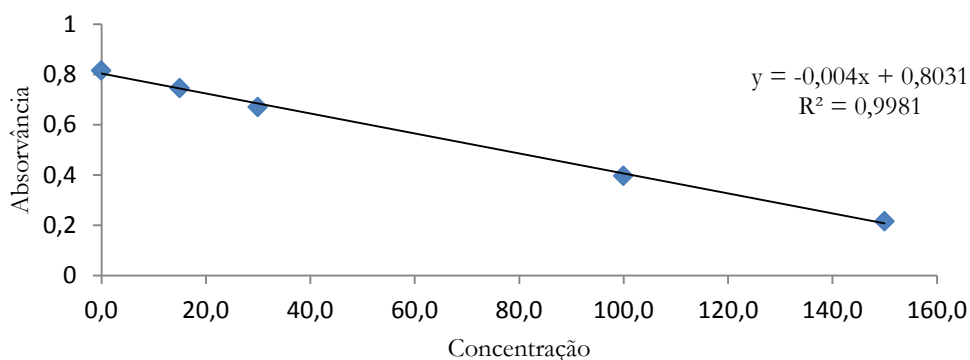
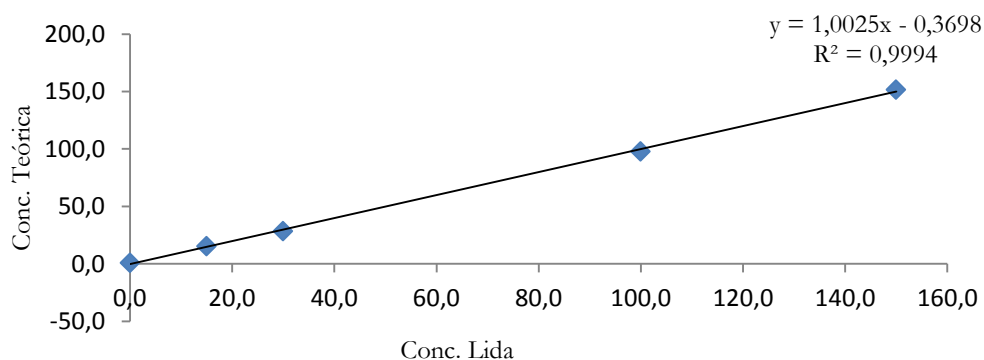
**Figura 4.1 – Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de CQO: valores da absorvância (448 nm) em função da concentração (mg O₂/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 1****Figura 4.2 – Representação dos valores obtidos para a concentração de CQO (mg O₂/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 1**



Tabela 4.3 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de CQO LCK 314 – curva 2

	Conc. Teórica (mg O ₂ /L)	Conc. Obtida (mg O ₂ /L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 2	0,000	0,702	0,802	-
	15,000	16,4	0,753	9,333
	30,000	28,8	0,672	-4,000
	100,000	103,0	0,403	3,000
	150,000	151,0	0,214	0,667

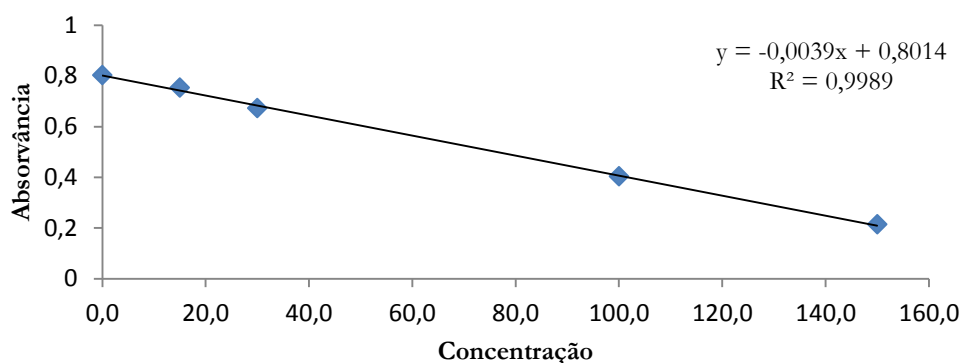
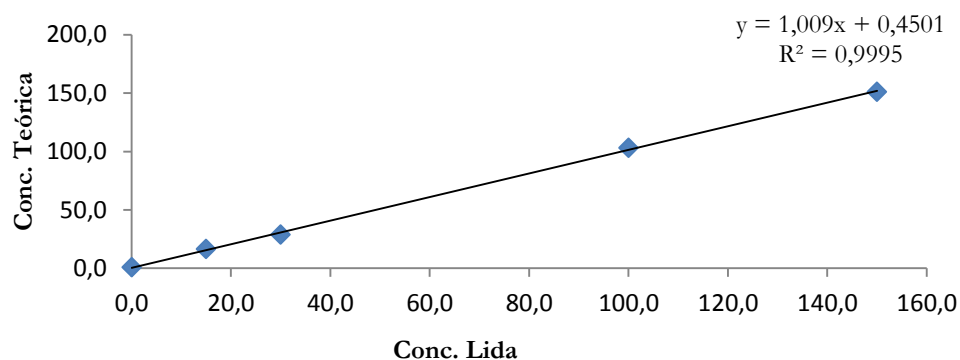
Figura 4.3 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de CQO: valores da absorvância (448 nm) em função da concentração (mg O₂/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 2Figura 4.4 - Representação dos valores obtidos para a concentração de CQO (mg O₂/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 2



Tabela 4.4- Verificação linearidade curva calibração de fábrica de CQO LCK 314 – curva 3

	Conc. Teórica (mg O ₂ /L)	Conc. Obtida (mg O ₂ /L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 3	0,000	0,763	0,815	
	15,000	16,4	0,753	9,333
	30,000	30,3	0,698	1,000
	100,000	99,6	0,425	-0,400
	150,000	152,0	0,216	1,333

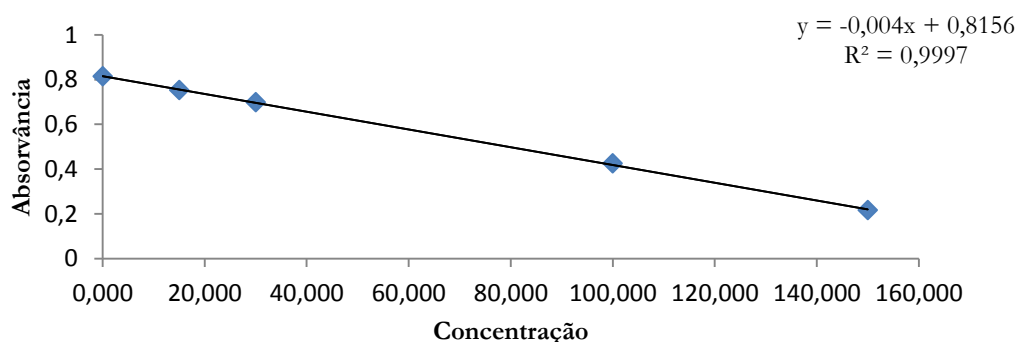


Figura 4.5 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de CQO: valores da absorvância (448 nm) em função da concentração (mg O₂/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 3

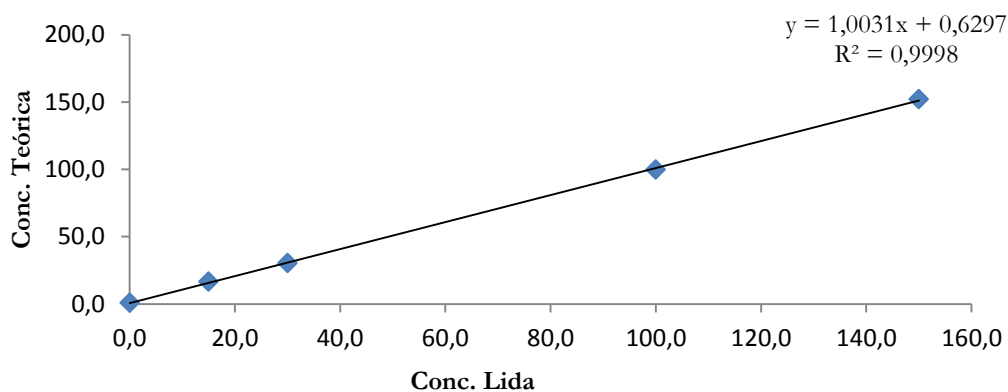


Figura 4.6 - Representação dos valores obtidos para a concentração de CQO (mg O₂/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 3



Homogeneidade variâncias

Foi verificada a existência de homogeneidade entre as variâncias dos padrões extremos da gama de trabalho (15 e 150 mg O₂/L), analisando 10 vezes cada um dos padrões, em condições de repetibilidade (tabela 4.5):

Tabela 4.5-Homogeneidade variância nos extremos da gama de trabalho CQO LCK 314

	Absorvância (448 nm)	
	Padrão 15 mg O ₂ /L	Padrão 150 mg O ₂ /L
1	0,752	0,201
2	0,729	0,219
3	0,749	0,211
4	0,759	0,222
5	0,739	0,214
6	0,750	0,220
7	0,752	0,205
8	0,735	0,217
9	0,745	0,214
10	0,743	0,203
Média	0,745	0,213
Variância (σ)	8,11 × 10⁻⁵	5,49 × 10⁻⁵
Graus liberdade	9	9
TV	2,18	

H0:	$\sigma^2_{P15} = \sigma^2_{P150}$
H1:	$\sigma^2_{P15} \neq \sigma^2_{P150}$

Fcrit(0,025;9;9) =	4,03
p-value =	0,571

Verifica-se que o valor experimental (TV) é inferior ao valor crítico (Fcrit), pelo que se aceita a hipótese nula, ou seja, não há diferenças significativas entre as variâncias.

O valor prova de 57,1%, superior ao nível de significância de 5% , indica que os dados obtidos são consistentes com a hipótese nula



4.1.2 Carência química oxigénio (LCK 514)

Para a gama correspondente ao LCK 514, foram preparados os seguintes padrões de calibração, a partir de uma solução de hidrogeno-ftalato de potássio com uma concentração teórica de 50 000 mg O₂/L, medindo-se rigorosamente os volumes definidos no quadro seguinte:

Tabela 4.6-Padrões CQO LCK 514 para preparação curva calibração

Conc. final O ₂	Conc. Inicial O ₂	Volume pipetar	Volume balão	
Branco	0 mg/L	Preparar um ensaio com agua ultra pura		
P1	300 mg/L	50 000 mg/L	300 µL	50 mL
P2	500 mg/L	50 000 mg/L	500 µL	50 mL
P3	1000 mg/L	50 000 mg/L	1 000 µL	50 mL
P4	2000 mg/L	50 000 mg/L	2 000 µL	50 mL

Curvas de calibração e relação concentração teórica/concentração obtida

A leitura destes padrões foi efetuada a 605 nm em unidades de absorvância e traçadas as respetivas curvas de calibração (Figuras 4.7, 4.9 e 4.11). Foi ainda traçada a relação entre a concentração teórica dos padrões e a respectiva concentração experimental (Figuras 4.8, 4.10 e 4.12).

Tabela 4.7 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de CQO LCK 514 – curva 1

	Conc. Teórica (mg O ₂ /L)	Conc.Obtida (mg O ₂ /L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 1	0,0	8,28	0,058	-
	300,0	298	0,204	-0,667
	500,0	506	0,303	1,200
	1000,0	1014	0,546	1,400
	2000,0	2094	1,060	4,700

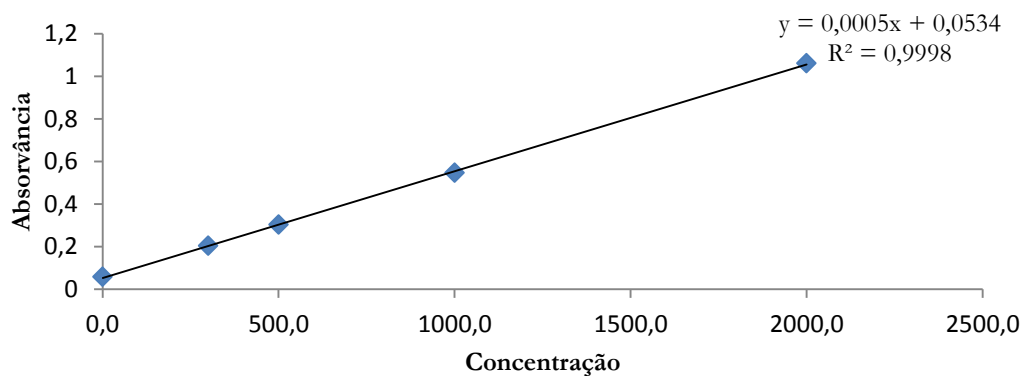


Figura 4.7 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de CQO: valores da absorvância (605 nm) em função da concentração (mg O₂/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 1

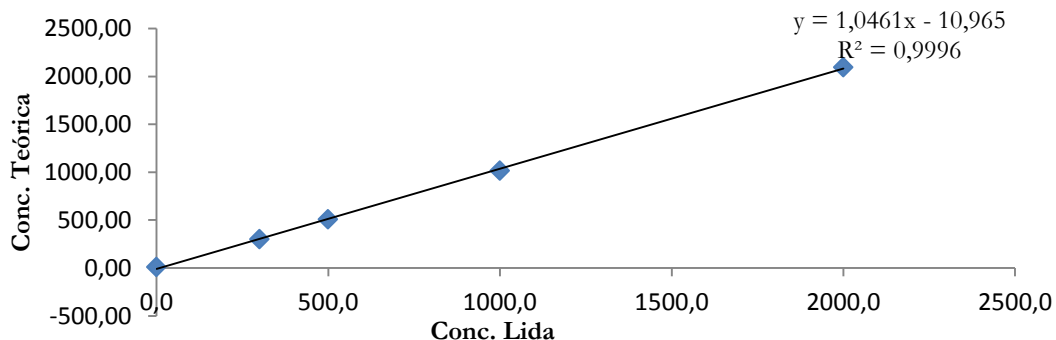


Figura 4.8 - Representação dos valores obtidos para a concentração de CQO ($\text{mg O}_2/\text{L}$) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 1

Tabela 4.8 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de CQO LCK 514 – curva 2

	Conc. Teórica ($\text{mg O}_2/\text{L}$)	Conc. Obtida ($\text{mg O}_2/\text{L}$)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 2	0,0	9,57	0,050	-
	300,0	291	0,201	-3,000
	500,0	499	0,310	-0,200
	1000,0	1005	0,556	0,500
	2000,0	1984	1,008	-0,800

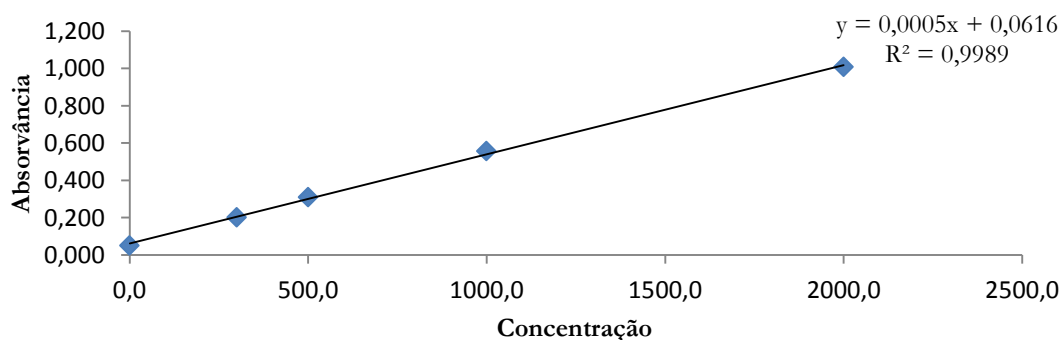


Figura 4.9 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de CQO: valores da absorvância (605 nm) em função da concentração ($\text{mg O}_2/\text{L}$) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 2

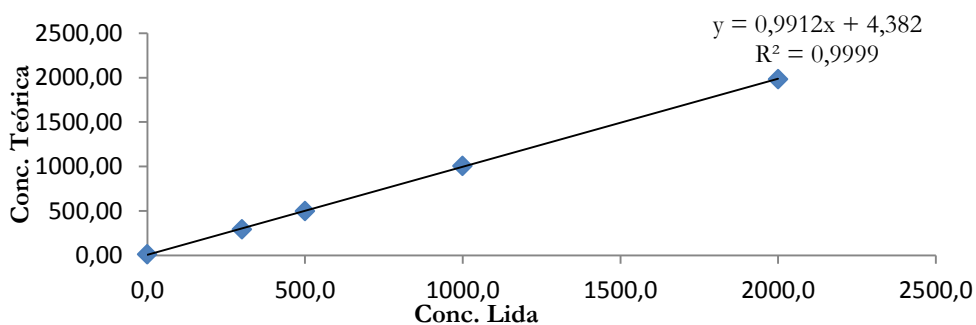


Figura 4.10 - Representação dos valores obtidos para a concentração de CQO (mg O₂/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 2

Tabela 4.9 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de CQO LCK 514 – curva 3

	Conc. Teórica (mg O ₂ /L)	Conc.Obtida (mg O ₂ /L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 3	0,0	14,40	0,036	-
	300,0	314	0,212	4,667
	500,0	515	0,301	3,000
	1000,0	998	0,562	-0,200
	2000,0	1992	1,011	-0,400

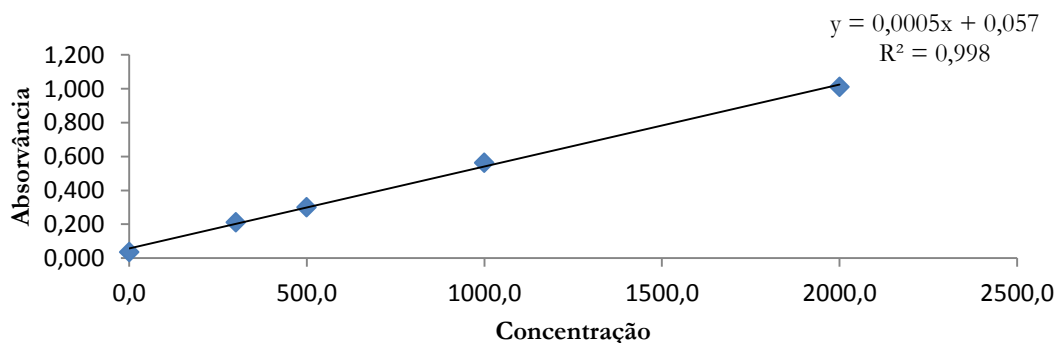


Figura 4.11 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de CQO: valores da absorvância (605 nm) em função da concentração (mg O₂/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 3

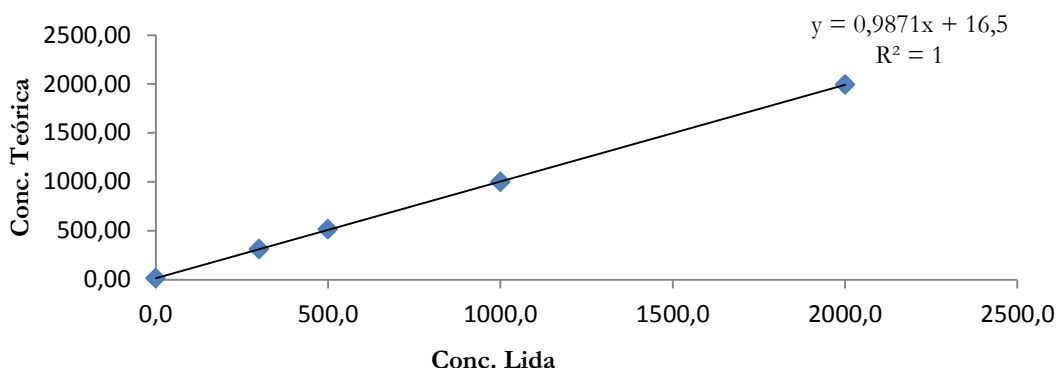


Figura 4.12 - Representação dos valores obtidos para a concentração de CQO (mg O₂/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 3

Homogeneidade variâncias

Foi verificada a existência de homogeneidade entre as variâncias dos padrões extremos da gama de trabalho (300 e 2 000 mg O₂/L), analisando 10 vezes cada um dos padrões, em condições de repetibilidade (tabela 4.10):

Tabela 4.10 - Homogeneidade variância nos extremos da gama de trabalho CQO LCK 514

	Absorvância (605 nm)	
	Padrão 300 mg O ₂ /L	Padrão 2000 mg O ₂ /L
1	0,215	1,005
2	0,190	1,012
3	0,214	1,053
4	0,210	1,021
5	0,206	1,010
6	0,219	1,014
7	0,211	1,047
8	0,205	1,010
9	0,207	1,032
10	0,227	1,009
Média	0,210	1,021
Variância (σ)	9,56 × 10⁻⁵	2,88 × 10⁻⁴
Graus liberdade	9	9
TV	3,01	

$$H_0: \sigma^2_{P300} = \sigma^2_{P2000}$$

$$H_1: \sigma^2_{P300} \neq \sigma^2_{P2000}$$

$$F_{crit}(0,025;9;9) = 4,03$$

$$p\text{-value} = 0,116$$



Verifica-se que o valor experimental (IV) é inferior ao valor crítico (Fcrit), pelo que se aceita a hipótese nula, ou seja, não há diferenças significativas entre as variâncias.

O valor prova de 11,6%, superior ao nível de significância de 5% , indica que os dados obtidos são consistentes com a hipótese nula

4.1.3 Azoto Total (LCK 138)

Os padrões de calibração para verificação da linearidade da curva de calibração do Azoto Total, foram preparados a partir da solução padrão de Glicina ($C_2H_5NO_2$) 100 mg/L, medindo-se rigorosamente os volumes definidos no quadro seguinte:

Tabela 4.11-Padrões Nt LCK 138 para preparação curva calibração

Conc. final N		Conc. Inicial N	Volume pipetar	Volume balão
Branco	0 mg/L	Preparar um ensaio com água ultra pura		
P1	3 mg/L	100 mg/L	1 500 μ L	50 mL
P2	5 mg/L	100 mg/L	2 500 μ L	50 mL
P3	10 mg/L	100 mg/L	2 500 μ L	25 mL
P4	15 mg/L	100 mg/L	3 750 μ L	25 mL

Curvas de calibração e relação concentração teórica/concentração obtida

A leitura destes padrões foi efetuada a 345 nm em unidades de absorvância e traçadas as respetivas curvas de calibração (Figuras 4.13, 4.15 e 4.17). Foi ainda traçada a relação entre a concentração teórica dos padrões e a respectiva concentração experimental (Figuras 4.14, 4.16 e 4.18).

Tabela 4.12 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de Nt LCK 138 – curva 1

	Conc. Teórica (mg N/L)	Conc.Obtida (mg N/L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 1	0	0,180	0,119	-
	3	2,95	0,251	-1,667
	5	4,92	0,353	-1,600
	10	9,91	0,628	-0,900
	15	14,6	0,89	-2,667

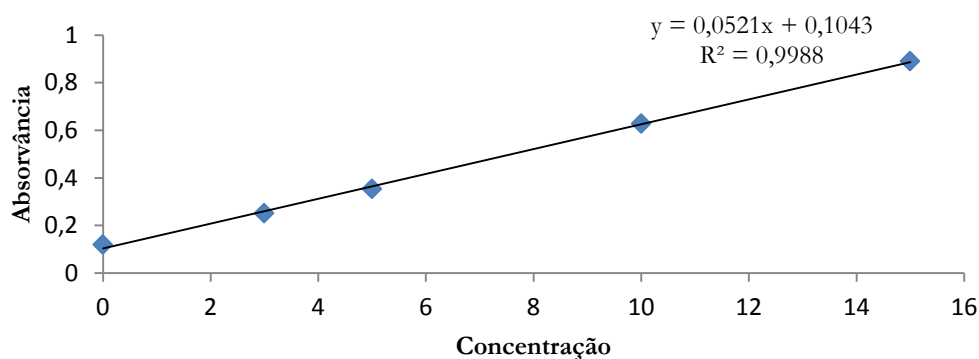


Figura 4.13 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de Azoto: valores da absorvância (345 nm) em função da concentração (mg N/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 1

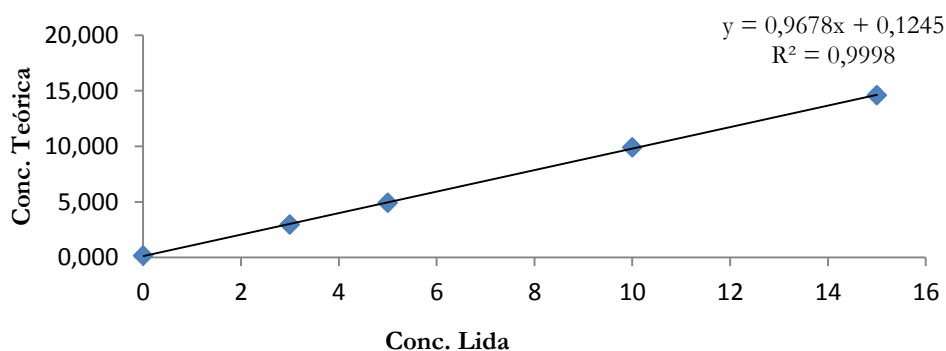


Figura 4.14 - Representação dos valores obtidos para a concentração de Azoto (mg N/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 1

Tabela 4.13 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de Nt LCK 138 – curva 2

	Conc. Teórica (mg N/L)	Conc.Obtida (mg N/L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 2	0	0,20	0,125	-
	3	3,13	0,283	4,333
	5	4,71	0,369	-5,800
	10	10,0	0,653	0,000
	15	14,8	0,905	-1,333

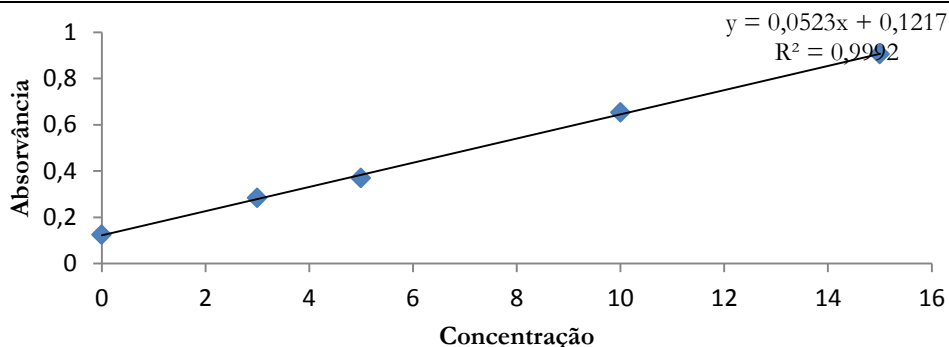


Figura 4.15 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de Azoto: valores da absorvância (345 nm) em função da concentração (mg N/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 2

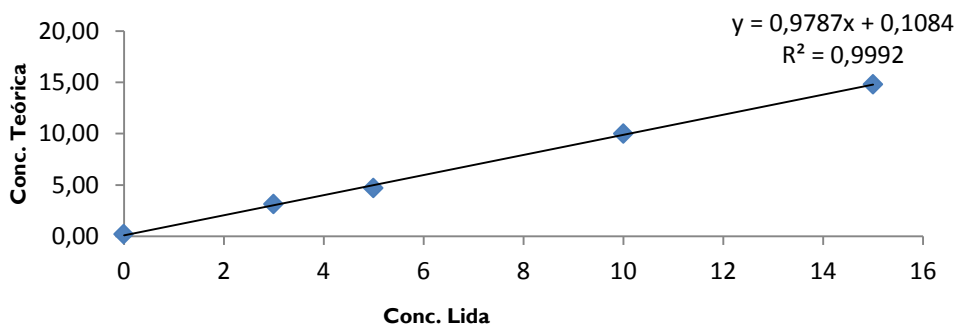


Figura 4.16 - Representação dos valores obtidos para a concentração de Azoto (mg N/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 2

Tabela 4.14 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de Nt LCK 138 – curva 3

	Conc. Teórica (mg N/L)	Conc. Obtida (mg N/L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 3	0	0,26	0,149	-
	3	3,17	0,299	5,667
	5	4,87	0,387	-2,600
	10	10,1	0,666	1,000
	15	15,1	0,919	0,667

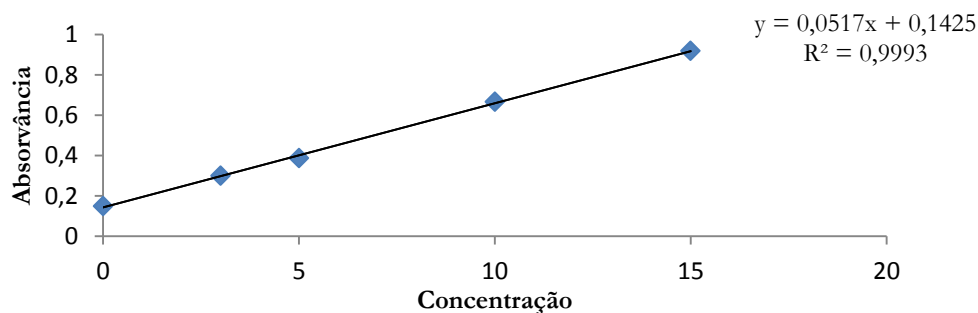


Figura 4.17 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de Azoto: valores da absorvância (345 nm) em função da concentração (mg N/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 3

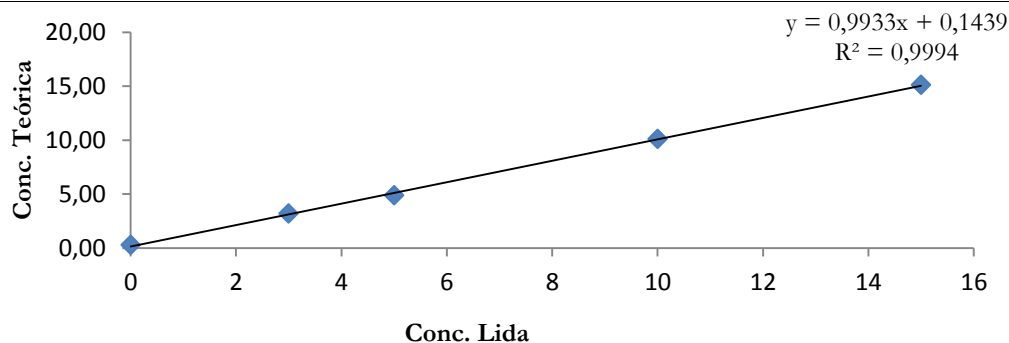


Figura 4.18 - Representação dos valores obtidos para a concentração de Azoto (mg N/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 3

Homogeneidade variâncias

Foi verificada a existência de homogeneidade entre as variâncias dos padrões extremos da gama de trabalho (3 e 15 mg N/L), analisando 10 vezes cada um dos padrões, em condições de repetibilidade (tabela 4.15):

Tabela 4.15 - homogeneidade variâncias nos extremos da gama de trabalho Nt LCK 138

	Absorvância (345 nm)	
	Padrão 3,0 mg N/L	Padrão 15,0 mg N/L
1	0,299	0,956
2	0,286	0,919
3	0,301	0,923
4	0,275	0,935
5	0,281	0,948
6	0,290	0,927
7	0,292	0,919
8	0,277	0,925
9	0,293	0,963
10	0,275	0,934
Média	0,287	0,935
Variância (σ)	$9,28 \times 10^{-5}$	$2,46 \times 10^{-4}$
Graus liberdade	9	9
TV	2,65	
H0:	$\sigma^2_{P3} = \sigma^2_{P15}$	
H1:	$\sigma^2_{P3} \neq \sigma^2_{P15}$	
Fcrit(0,025;9;9) =	4,03	
p-value =	0,162	

Verifica-se que o valor experimental (TV) é inferior ao valor crítico (Fcrit), pelo que se aceita a hipótese nula, ou seja, não há diferenças significativas entre as variâncias.

O valor prova de 16,2%, superior ao nível de significância de 5%, indica que os dados obtidos são consistentes com a hipótese nula



4.1.4 Fósforo Total (LCK 348)

Os padrões de calibração para verificação da linearidade da curva de calibração do Fósforo Total gama LCK 348, foram preparados a partir de uma solução intermédia de 32,6 mg P/L, preparada por diluição de uma solução comercial de Fosfato de Potássio 1000 mg PO₄³⁻/L (326 mg P/L).

Tabela 4.16 - Padrões Pt para preparação curva calibração

	Conc. Inicial P	Volume pipetar	Volume balão	Conc. final P
Sol. intermédia	326 mg/L	5 mL	50 mL	32,6 mg/L

	Conc. final P	Conc. Inicial P	Volume pipetar	Volume balão
Branco	0 mg/L	Preparar um ensaio com agua ultra pura		
P1	1 mg/L	32,6 mg/L	1,535 mL	50 mL
P2	2 mg/L	32,6 mg/L	3,070 mL	50 mL
P3	3 mg/L	32,6 mg/L	2,305 mL	25 mL
P4	5 mg/L	32,6 mg/L	3,835 mL	25 mL

Curvas de calibração e relação concentração teórica/concentração obtida

A leitura destes padrões foi efetuada a 880 nm em unidades de absorvância e traçadas as respectivas curvas de calibração (Figuras 4.19, 4.21 e 4.23). Foi ainda traçada a relação entre a concentração teórica dos padrões e a respectiva concentração experimental (Figuras 4.20, 4.22 e 4.24).

Tabela 4.17 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de Pt LCK 348 – curva 1

	Conc. Teórica (mgP/L)	Conc. Obtida (mg P/L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 1	0,0	-0,015	0,121	-
	1,0	1,04	0,296	4,000
	2,0	2,09	0,469	4,500
	3,0	3,20	0,653	6,667
	5,0	5,21	0,992	4,200

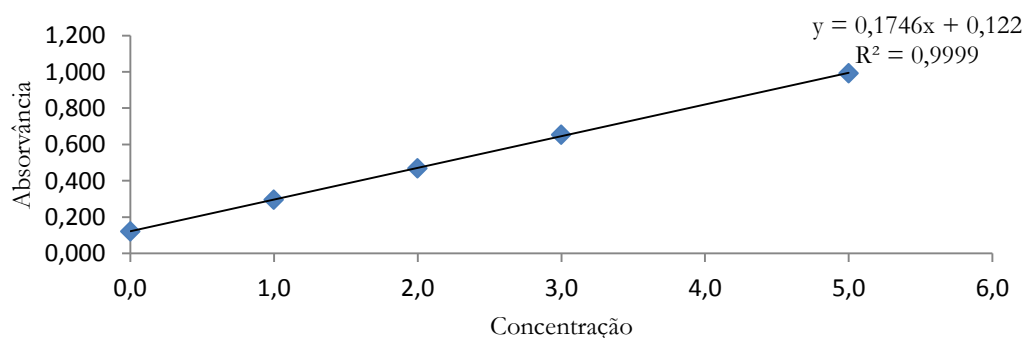


Figura 4.19 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de Fósforo: valores da absorvância (880 nm) em função da concentração (mg P/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 1

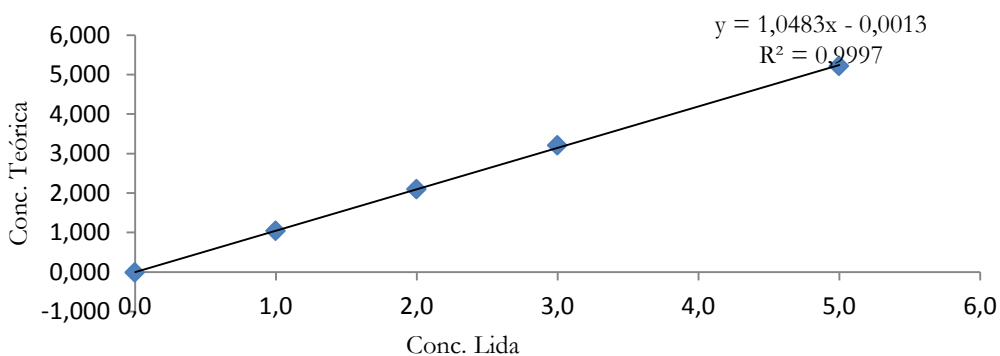


Figura 4.20 - Representação dos valores obtidos para a concentração de Fósforo (mg P/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 1

Tabela 4.18 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de Pt LCK 348 – curva 2

	Conc. Teórica (mgP/L)	Conc.Obtida (mg P/L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 2	0,0	-0,010	0,089	-
	1,0	0,98	0,225	-2,000
	2,0	2,05	0,415	2,500
	3,0	3,02	0,562	0,667
	5,0	4,95	0,902	-1,000

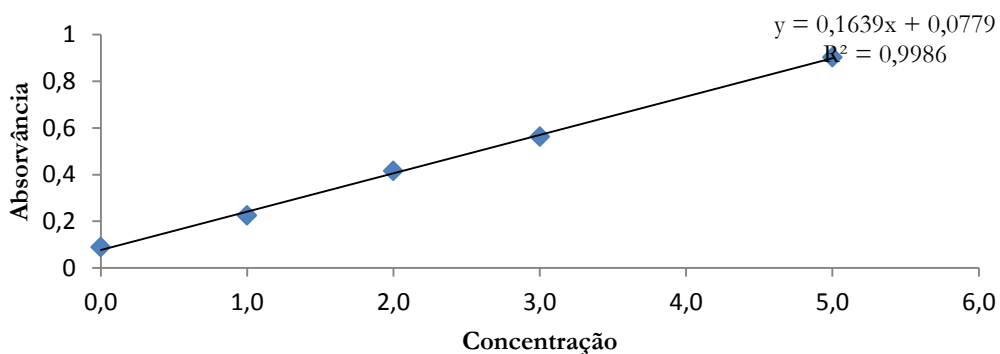


Figura 4.21 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de Fósforo: valores da absorvância (880 nm) em função da concentração (mg P/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 2

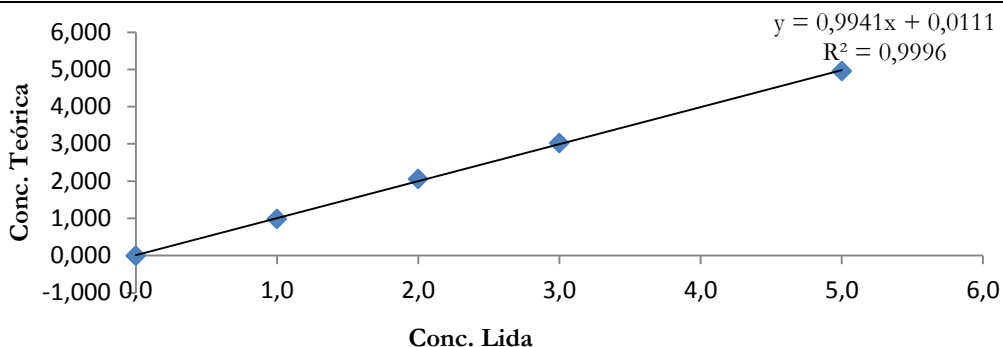


Figura 4.22 - Representação dos valores obtidos para a concentração de Fósforo (mg P/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 2

Tabela 4.19 - Verificação linearidade curva calibração de fábrica de Pt LCK 348 – Curva 3

	Conc. Teórica (mgP/L)	Conc.Obtida (mg P/L)	Abs (448 nm)	Desvio conc
Curva 3	0,0	-0,012	0,099	-
	1,0	1,03	0,241	3,000
	2,0	1,98	0,396	-1,000
	3,0	2,91	0,554	-3,000
	5,0	5,01	0,924	0,200

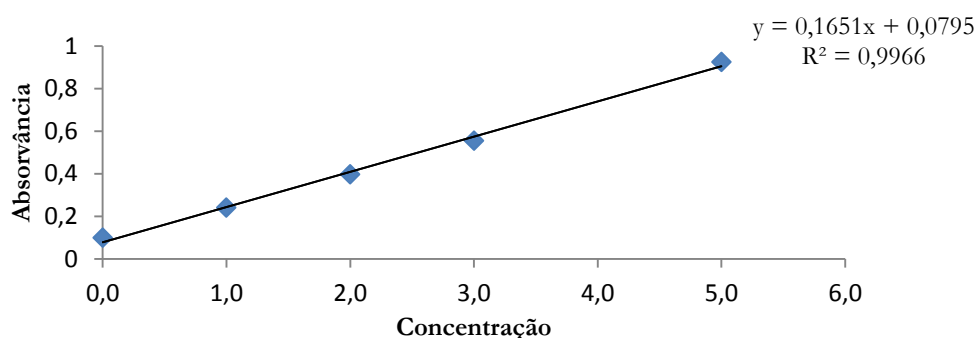


Figura 4.23 - Representação dos valores obtidos na curva de calibração referente à determinação de Fósforo: valores da absorvância (880 nm) em função da concentração (mg P/L) e representação da respectiva reta estimada por mínimos quadrados – curva 3

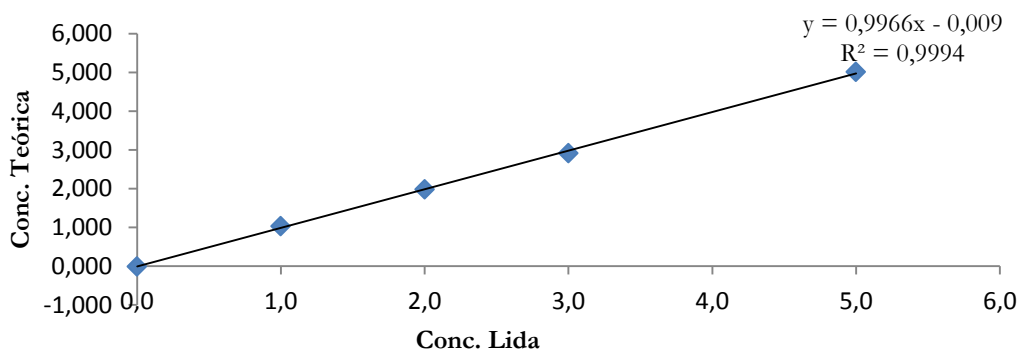


Figura 4.24 - Representação dos valores obtidos para a concentração de Fósforo (mg P/L) em função da concentração preparada e respectiva função de resposta – curva 3



Homogeneidade variâncias

Foi verificada a existência de homogeneidade entre as variâncias dos padrões extremos da gama de trabalho (1 e 5 mg P/L), analisando 10 vezes cada um dos padrões, em condições de repetibilidade (tabela 4.20):

Tabela 4.20 - homogeneidade variâncias nos extremos da gama de trabalho Pt LCK 348

	Absorvância	
	Padrão 1,0 mg/L	Padrão 5,0 mg/L
1	0,258	0,932
2	0,255	0,929
3	0,260	0,922
4	0,245	0,912
5	0,260	0,911
6	0,253	0,917
7	0,266	0,929
8	0,250	0,902
9	0,250	0,922
10	0,261	0,914
Média	0,256	0,919
Variância (σ)	$4,13 \times 10^{-5}$	$8,80 \times 10^{-5}$
Graus liberdade	9	9
TV	2,13	

H0:	$\sigma^2_{P1} = \sigma^2_{P5}$
H1:	$\sigma^2_{P1} \neq \sigma^2_{P5}$

Fcrit(0,025;9;9) =	4,03
p-value =	0,275

Verifica-se que o valor experimental (TV) é inferior ao valor crítico (Fcrit), pelo que se aceita a hipótese nula, ou seja, não há diferenças significativas entre as variâncias.

O valor prova de 27,5%, superior ao nível de significância de 5% , indica que os dados obtidos são consistentes com a hipótese nula



Pela análise da tabela seguinte, onde se resumem os valores de coeficiente de correlação obtidos para as curvas de calibração traçadas para todos os métodos em estudo, todos eles superiores a 0,995 (tabela 4.21) e pela visualização gráfica das curvas, podemos concluir que se trata de funções lineares.

Tabela 4.21- Coeficientes correlação da curva $Abs=f(Conc)$

Método ensaio	Curva	r ²
CQO LCK 314	Curva 1	0.9981
	Curva 2	0.9989
	Curva 3	0.9997
CQO LCK 514	Curva 1	0.9998
	Curva 2	0.9989
	Curva 3	0.9980
Nt LCK 138	Curva 1	0.9988
	Curva 2	0.9992
	Curva 3	0.9993
Pt LCK 348	Curva 1	0.9999
	Curva 2	0.9986
	Curva 3	0.9966

Para além da verificação visual da linearidade, a comparação entre a concentração teórica dos padrões e a concentração obtida nas curvas Hach Lange, resultou em relações perfeitamente lineares com declive e coeficiente de correlação aproximadamente igual à unidade (Tabela 4.22).

Tabela 4.22- Declive e coeficiente de correlação $C_{teor} = f(C_{exp})$

Método ensaio	Curva	r ²	b
CQO LCK 314	Curva 1	0.9994	1.0025
	Curva 2	0.9995	1.0090
	Curva 3	0.9998	1.0031
CQO LCK 514	Curva 1	0.9996	1.0461
	Curva 2	0.9999	0.9912
	Curva 3	1	0.9871
Nt LCK 138	Curva 1	0.9998	0.9678
	Curva 2	0.9992	0.9787
	Curva 3	0.9994	0.9933
Pt LCK 348	Curva 1	0.9997	1.0483
	Curva 2	0.9996	0.9941
	Curva 3	0.9994	0.9966



Além disso, os valores experimentais dos padrões, em concentração, permitem verificar que estes não se afastam mais do que 10% dos valores teóricos dos padrões.

Relativamente á homogeneidade de variância, considerando como H0 que não existem diferenças entre as variâncias nos extremos das gamas de trabalho e como H1 que estas variâncias apresentam diferenças significativas, determinam-se os valores de F experimentais (TV), verificando-se que são inferiores aos valores tabelados, ou seja, retêm-se a hipótese nula e conclui-se que as gamas de trabalho estão adequadamente definidas, tabela 4.23:

Tabela 4.23 - Comparação valores F experimentais (TV) com o valor crítico F bilateral e grau confiança 95%

	CQO LCK 314	CQO LCK 514	Nt LCK 138	Pt LCK 348
TV	1,47	3,01	2,65	2,13
p-values	57,1%	11,6%	16,2%	27,5%
Fcrit (0,025;9;9)	4,03			

Os valores prova (p-value) apresentados na tabela, todos eles superiores a 5% (nível de significância considerado), representam a probabilidade da hipótese nula ser verdadeira.



4.2 Limiares Analíticos – Limite de Quantificação

Nos ensaios em cuvete da Hach Lange, as gamas de trabalho estão previamente definidas pelo fabricante, pelo que o laboratório procurou encontrar um compromisso entre as gamas disponíveis e os limiares analíticos que respondem às necessidades dos seus clientes, validando os limites inferiores das gamas de trabalho.

Para todos os métodos de ensaio em estudo foram analisados 20 padrões com concentrações correspondentes aos limites inferiores de cada uma das gamas de trabalho (Tabelas 4.24, 4.25, 4.26 e 4.27), em condições de precisão intermédia (o mesmo laboratório e o mesmo equipamento mas em dias diferentes com diferentes analistas e preparações independentes):

Tabela 4.24 - Padrão de 15 mg O₂/L em condições de precisão intermédia - CQO LCK 314

Analista	Valores (mg O ₂ /L)	CA (20%)
Analista 1	17,1	Aceite
Analista 1	13,5	Aceite
Analista 2	14,5	Aceite
Analista 1	17,9	Aceite
Analista 2	15,2	Aceite
Analista 2	15,2	Aceite
Analista 3	16,7	Aceite
Analista 1	14,2	Aceite
Analista 1	13,0	Aceite
Analista 2	14,5	Aceite
Analista 2	14,9	Aceite
Analista 1	15,2	Aceite
Analista 1	16,0	Aceite
Analista 3	13,3	Aceite
Analista 1	14,1	Aceite
Analista 2	14,6	Aceite
Analista 3	13,9	Aceite
Analista 1	14,6	Aceite
Analista 3	15,3	Aceite
Analista 3	13,0	Aceite
Desvio-padrão	1,25	
Média	14,79	
C.V.	8,5%	
E.R.	1,4%	

Tabela 4.25 - Padrão de 300 mg O₂/L em condições de precisão intermédia - CQO LCK 514

Analista	Valores (mg O ₂ /L)	CA (20%)
Analista 1	315	Aceite
Analista 2	313	Aceite
Analista 2	324	Aceite
Analista 1	338	Aceite
Analista 1	343	Aceite
Analista 2	312	Aceite
Analista 1	317	Aceite
Analista 1	320	Aceite
Analista 3	339	Aceite
Analista 3	313	Aceite
Analista 1	303	Aceite
Analista 1	300	Aceite
Analista 2	304	Aceite
Analista 2	322	Aceite
Analista 3	309	Aceite
Analista 2	307	Aceite
Analista 2	306	Aceite
Analista 1	304	Aceite
Analista 1	307	Aceite
Analista 1	318	Aceite
Desvio-padrão	12,24	
Média	315,70	
C.V.	3,9%	
E.R.	5,2%	



Tabela 4.26 - Padrão de 3 mg N/L em condições de precisão intermédia - Nt LCK 138

Analista	Valores (mg N /L)	CA (20%)
Analista 1	3,38	Aceite
Analista 1	3,34	Aceite
Analista 2	2,78	Aceite
Analista 1	3,24	Aceite
Analista 1	3,27	Aceite
Analista 1	3,30	Aceite
Analista 1	2,88	Aceite
Analista 2	3,36	Aceite
Analista 1	2,79	Aceite
Analista 1	2,95	Aceite
Analista 2	3,20	Aceite
Analista 3	2,90	Aceite
Analista 3	3,44	Aceite
Analista 1	3,22	Aceite
Analista 1	3,34	Aceite
Analista 1	3,38	Aceite
Analista 1	3,44	Aceite
Analista 1	2,84	Aceite
Analista 2	2,97	Aceite
Analista 3	3,31	Aceite
Desvio-padrão	0,23	
Média	3,17	
C.V.	7,4%	
E.R.	5,6%	



Tabela 4.27 - Padrão de 1 mg P/L em condições de precisão intermédia - Nt LCK 348

Analista	Valores (mg P/L)	CA (20%)
Analista1	1,027	Aceite
Analista 2	1,020	Aceite
Analista1	1,030	Aceite
Analista1	1,034	Aceite
Analista 2	1,007	Aceite
Analista1	0,941	Aceite
Analista 2	1,030	Aceite
Analista1	0,970	Aceite
Analista1	1,005	Aceite
Analista 2	0,983	Aceite
Analista1	1,028	Aceite
Analista1	1,035	Aceite
Analista1	1,050	Aceite
Analista1	0,976	Aceite
Analista 3	1,091	Aceite
Analista1	0,985	Aceite
Analista1	1,071	Aceite
Analista1	0,992	Aceite
Analista 2	1,071	Aceite
Analista 3	0,973	Aceite
Desvio-padrão	0,04	
Média	1,02	
C.V.	3,8%	
E.R.	1,6%	

Os coeficientes de variação obtidos e resumidos na tabela 4.28, todos eles inferiores a 10%, cumprem os 10% de precisão estabelecidos pelo requisito legal (DL 236/98)^[26].

Tabela 4.28-Limiaries analíticos estabelecidos para CQO, Nt e Pt

Parâmetro	Gama	Limiar analítico	Coefficiente de variação
Carência Química Oxigénio	LCK 314	15 mg O ₂ /L	8,5 %
Carência Química Oxigénio	LCK 514	300 mg O ₂ /L	3,9 %
Azoto total	LCK 138	3 mg N /L	7,4 %
Fósforo Total	LCK 348	1 mg P/L	3,8 %

No caso da Carência Química de Oxigénio, gama LCK 514, o limite inferior da gama de trabalho de 100 mg/L inicialmente testado, apresentou um coeficiente de variação superior a 10%, valor que não cumpre com os requisitos necessários, pelo que o Laboratório optou por aumentar o valor do limite de quantificação desta gama de trabalho, testando um padrão de 300 mg O₂/L.



4.3 Repetibilidade

O coeficiente de variação de repetibilidade foi determinado para cada uma das gamas dos parâmetros em estudo, a partir do desvio padrão dos resultados de 10 ensaios sob a mesma amostra (Tabelas 4.29, 4.30, 4.31 e 4.32), em condições de repetibilidade, ou seja, o mesmo laboratório, o mesmo método ensaio, o mesmo analista, no mesmo dia, com os mesmos equipamentos:

Tabela 4.29 - Ensaio repetibilidade CQO LCK 314 com uma amostra água residual

Amostra	Água Residual –Efluente (mg O ₂ /L)
1	67,6
2	63,5
3	64,9
4	65,2
5	68,2
6	65,9
7	67,8
8	66,4
9	63,2
10	65,2
Média	65,8
Desvio-padrão	1,73
CV	2,6%

Tabela 4.30 - Ensaio repetibilidade CQO LCK 514 com uma amostra água residual

Amostra	Água Residual - Tanque Arejamento (mg O ₂ /L)
1	1442
2	1490
3	1485
4	1488
5	1465
6	1463
7	1497
8	1512
9	1502
10	1467
Média	1481
Desvio-padrão	21,35
CV	1,4%



Tabela 4.31 - Ensaio repetibilidade Nt LCK 138 com uma amostra água residual

Amostra	Água Residual – Afluente (mg N/L)
1	7,49
2	7,41
3	7,36
4	7,43
5	7,52
6	7,65
7	7,29
8	7,44
9	7,77
10	7,14
Média	7,45
Desvio-padrão	0,18
CV	2,4%

Tabela 4.32 - Ensaio repetibilidade Pt LCK 348 com uma amostra água residual

Amostra	Água Residual – Afluente (mg P/L)
1	1,47
2	1,45
3	1,39
4	1,52
5	1,46
6	1,39
7	1,50
8	1,41
9	1,43
10	1,48
Média	1,45
Desvio-padrão	0,05
CV	3,1%



Os valores de coeficiente de variação obtidos (< 5%), permitem-nos concluir que os métodos em estudo, em condições de repetibilidade, apresentam boa precisão (Tabela 4.33):

Tabela 4.33-Ensaio repetibilidade efetuados para cada um dos métodos (CQO, Nt e Pt)

Parâmetro	Gama	Tipo amostra	Concentração média	Coefficiente de variação (CV)
Carência Química Oxigénio	LCK 314	Água residual	65.6 mg O ₂ /L	2,6 %
Carência Química Oxigénio	LCK 514	Água residual	1442 mg O ₂ /L	1,4 %
Azoto total	LCK 138	Água residual	7,49 mg N /L	2,4 %
Fósforo Total	LCK 348	Água residual	5,0 mg P /L	3,1 %

4.4 Precisão intermédia

A precisão intermédia foi avaliada através da realização de 20 ensaios em duplicado, em dias diferentes, efetuadas por diferentes analistas, de modo a cobrir toda a gama de trabalho (Tabelas 4.34, 4.35, 4.36 e 4.37):

Tabela 4.34 - Recolha de 20 ensaios em duplicado - CQO LCK 314

Amostra (mg O ₂ /L)	Duplicado (mg O ₂ /L)	Média (mg O ₂ /L)	Amplitude Relativa	CA (20%)
43,2	48,5	45,9	11,6%	Aceite
146,0	142,0	144,0	2,8%	Aceite
17,0	16,4	16,7	3,6%	Aceite
100,0	97,6	98,8	2,4%	Aceite
19,7	17,3	18,5	13,0%	Aceite
37,4	41,1	39,3	9,4%	Aceite
53,0	46,4	49,7	13,3%	Aceite
34,2	35,0	34,6	2,3%	Aceite
103,0	106,0	104,5	2,9%	Aceite
15,6	14,9	15,3	4,6%	Aceite
48,2	46,0	47,1	4,7%	Aceite
38,9	39,3	39,1	1,0%	Aceite
89,1	88,2	88,7	1,0%	Aceite
124,0	110,0	117,0	12,0%	Aceite
58,6	60,2	59,4	2,7%	Aceite
76,2	80,8	78,5	5,9%	Aceite
62,0	61,6	61,8	0,7%	Aceite
66,3	60,6	63,5	9,0%	Aceite
92,3	101,0	96,7	9,0%	Aceite
67,7	71,9	69,8	6,0%	Aceite
Média amplitudes relativas			5,9 %	
Precisão intermédia			5,2 %	



Tabela 4.35 - Recolha de 20 ensaios em duplicado - CQO LCK 514

Amostra (mg O ₂ /L)	Duplicado (mg O ₂ /L)	Média (mg O ₂ /L)	Amplitude Relativa	CA (15%)
671,0	666,0	668,5	0,8%	Aceite
575,0	577,0	576,0	0,4%	Aceite
278,0	280,0	279,0	0,7%	Aceite
726,0	688,0	707,0	5,4%	Aceite
571,0	612,0	591,5	6,9%	Aceite
1026,0	1006,0	1016,0	2,0%	Aceite
806,0	798,0	802,0	1,0%	Aceite
881,0	878,0	879,5	0,3%	Aceite
509,0	486,0	497,5	4,6%	Aceite
458,0	508,0	483,0	10,4%	Aceite
155,0	158,0	156,5	1,9%	Aceite
618,0	618,0	618,0	0,0%	Aceite
730,0	702,0	716,0	3,9%	Aceite
790,0	909,0	849,5	14,0%	Aceite
873,0	882,0	877,5	1,0%	Aceite
492,0	442,0	467,0	10,7%	Aceite
276,0	274,0	275,0	0,7%	Aceite
1266,0	1253,0	1259,5	1,0%	Aceite
771,0	760,0	765,5	1,4%	Aceite
748,0	785,0	766,5	4,8%	Aceite
Média amplitudes relativas			3,6 %	
Precisão intermédia			3,2 %	

Tabela 4.36 - Recolha de 20 ensaios em duplicado - Nt LCK 138

Amostra (mg N/L)	Duplicado (mg N/L)	Média (mg N/L)	Amplitude Relativa	CA (15%)
11,40	11,40	11,400	0,0%	Aceite
19,70	18,80	19,250	4,7%	Aceite
5,26	4,80	5,030	9,2%	Aceite
0,91	1,31	1,108	36,5%	N.Aceite
4,44	3,99	4,215	10,7%	Aceite
5,81	5,74	5,775	1,2%	Aceite
5,98	5,78	5,880	3,4%	Aceite
8,30	8,90	8,600	7,0%	Aceite
108,00	111,00	109,500	2,7%	Aceite
3,31	3,39	3,350	2,4%	Aceite
11,50	11,30	11,400	1,8%	Aceite
13,40	12,90	13,150	3,8%	Aceite
3,84	3,62	3,730	5,9%	Aceite
5,85	5,90	5,875	0,9%	Aceite
6,04	6,14	6,090	1,6%	Aceite
10,60	11,00	10,800	3,7%	Aceite
7,34	7,50	7,420	2,2%	Aceite
3,34	2,97	3,155	11,7%	Aceite
5,11	4,88	4,995	4,6%	Aceite
4,43	4,61	4,520	4,0%	Aceite
Média amplitudes relativas			4,3 %	
Precisão intermédia			3,8 %	



Tabela 4.37 - Recolha de 20 ensaios em duplicado - Pt LCK 348

Amostra (mg P/L)	Duplicado (mg P/L)	Média (mg P/L)	Amplitude Relativa	CA (15%)
1,28	1,28	1,28	0,0%	Aceite
2,00	1,92	1,96	4,1%	Aceite
5,80	5,90	5,85	1,7%	Aceite
0,51	0,51	0,51	0,6%	Aceite
2,45	2,57	2,51	5,0%	Aceite
0,55	0,51	0,53	6,4%	Aceite
1,08	1,22	1,15	12,2%	Aceite
2,02	1,79	1,91	12,1%	Aceite
8,30	8,60	8,45	3,6%	Aceite
1,97	1,95	1,96	1,0%	Aceite
1,25	1,31	1,28	4,7%	Aceite
0,67	0,71	0,69	6,2%	Aceite
1,55	1,55	1,55	0,0%	Aceite
3,71	3,67	3,69	1,1%	Aceite
2,47	2,26	2,37	8,9%	Aceite
4,42	4,48	4,45	1,4%	Aceite
2,15	1,95	2,05	9,8%	Aceite
2,54	2,48	2,51	2,4%	Aceite
4,86	4,80	4,83	1,2%	Aceite
1,96	1,97	1,97	0,5%	Aceite
Média amplitudes relativas			3,5%	
Precisão intermédia			3,1%	

Os valores obtidos, todos eles inferiores a 10% (Tabela 4.38), cumprem os 10% de precisão estabelecidos pelo requisito legal (DL 236/98).

Tabela 4.38-Precisão intermédia inicial estimada para cada um dos ensaios (CQO, NT e Pt)

Parâmetro	Gama	Precisão Intermédia
Carência Química Oxigénio	LCK 314	5,2 %
Carência Química Oxigénio	LCK 514	3,2 %
Azoto total	LCK 138	3,8 %
Fósforo Total	LCK 348	3,1 %



4.5 Exatidão

A exatidão dos métodos de ensaio foi avaliada mediante a utilização de três ferramentas distintas, como participação em ensaios interlaboratoriais, realização de testes comparativos com métodos já validados e realização de ensaios de recuperação.

4.5.1 Ensaio Interlaboratoriais

Na sua rotina laboratorial, o Laboratório da Águas do Mondego, dispõe de um plano plurianual de participação em ensaios interlaboratoriais, sendo requisito da entidade acreditadora (IPAC), que este plano seja efetuado de modo a prever a participação em cada método de ensaio e cada matriz acreditada, pelo menos uma vez por ciclo de acreditação. Além disso, o IPAC estabeleceu como requisito necessário para acreditação de novos métodos, a participação em, pelo menos, um ensaio interlaboratorial, promovido por uma entidade reconhecida, com desempenho satisfatório, ou seja, com z-score <2.

Para os métodos de ensaio em estudo, conforme relatórios originais de participação, constantes do Anexo I, o Laboratório participou em ensaios promovidos pela Relacre e pelo LGC tendo obtido para cada uma das participações, os valores de z-score constantes da tabela 4.39:

Tabela 4.39 -Ensaio interlaboratoriais CQO, Nt e Pt

Matriz	Distribuição	Parâmetro	Gama	Unidades	Valor obtido	Valor alvo	Z-score
Água Natural	2012-AQ 433	Carência Química Oxigénio	LCK 314	mg O ₂ /L	143	150,8	-0,7
Água Residual	2012-AR–Abril	Carência Química Oxigénio	LCK 514	mg O ₂ /L	332	352	0,3
Água Residual	2012-AQ 435	Azoto total	LCK 138	mg N /L	29	30,6	-0,5
Água Residual	2012-AQ 435	Fósforo Total	LCK 348	mg P /L	12,6	11,4	1,4

A avaliação da exatidão do método com base na participação em EIL, permite concluir que se trata de métodos exatos, uma vez que os valores de z-score obtidos são todos inferiores a 2.

4.5.2 Ensaio de Recuperação

Outra ferramenta utilizada para avaliar a exatidão dos métodos analíticos em estudo, foi a realização de testes de recuperação. Foram realizados 20 ensaios de recuperação para cada um dos métodos (Tabelas 4.40, 4.41, 4.42 e 4.43), com amostras fortificadas em diversos níveis das gamas de trabalho:



Tabela 4.40 - Índices recuperação médio de 20 amostras CQO LCK 314

Amostra (mg O ₂ /L)	Reforço (mg O ₂ /L)	Amostra Reforçada (mg O ₂ /L)	Recuperação (%)	CA (20%)
16,7	15,00	30,7	93,3	Aceite
98,8	15,00	112,0	88,0	Aceite
18,5	15,00	33,3	98,7	Aceite
39,3	50,00	88,2	97,8	Aceite
49,7	50,00	92,8	86,2	Aceite
34,6	50,00	78,9	88,6	Aceite
104,5	50,00	149,0	89,0	Aceite
15,3	50,00	61,7	92,8	Aceite
47,1	50,00	97,0	99,8	Aceite
88,7	50,00	137,6	97,8	Aceite
117,0	50,00	172,6	111,2	Aceite
59,4	50,00	105,6	92,4	Aceite
88,1	50,00	138,0	99,8	Aceite
61,8	50,00	115,2	106,8	Aceite
90,0	50,00	143,0	106,0	Aceite
22,6	50,00	71,7	98,2	Aceite
112,0	50,00	158,2	92,4	Aceite
40,6	50,00	84,1	87,0	Aceite
247,5	50,00	300,0	105,0	Aceite
204,0	50,00	256,0	104,0	Aceite
% Recuperação média			96,7 %	
Desvio padrão			7,32	

Tabela 4.41- Índices recuperação de 20 amostras CQO LCK 514

Amostra (mg O ₂ /L)	Reforço (mg O ₂ /L)	Amostra Reforçada (mg O ₂ /L)	Recuperação (%)	CA (20%)
317	400	568	102,4	Aceite
544	400	699	106,8	Aceite
2296	400	1569	105,3	Aceite
607	400	713	102,4	Aceite
386	1000	1182	98,9	Aceite
328	1000	1137	97,3	Aceite
413	1000	1042	83,6	Aceite
641	1000	1216	89,6	Aceite
657	1000	1334	100,6	Aceite
648	1000	1327	100,3	Aceite
440	1000	1320	110,0	Aceite
553	1000	1384	110,8	Aceite
392	400	625	107,3	Aceite
570	1000	1440	115,5	Aceite
1167	1000	1458	87,5	Aceite
686	1000	1429	108,6	Aceite
649	1000	1221	89,7	Aceite
768	1000	1365	98,1	Aceite
815	1000	1422	101,5	Aceite
536	1000	1400	113,2	Aceite
% Recuperação média			101,4 %	
Desvio padrão			8,76	



Tabela 4.42 - Índices recuperação de 20 amostras Nt LCK 138

Amostra (mg N/L)	Reforço (mg N/L)	Amostra Reforçada (mg N/L)	Recuperação (%)	CA (20%)
8,25	5	12,50	85,1	Aceite
4,77	5	8,82	81,0	Aceite
7,35	5	12,40	101,0	Aceite
4,74	5	9,35	92,2	Aceite
7,88	5	12,30	88,4	Aceite
4,22	5	8,87	93,0	Aceite
4,12	5	9,00	97,6	Aceite
12,70	5	16,80	82,0	Aceite
8,09	5	13,40	106,2	Aceite
8,12	5	12,44	86,4	Aceite
3,02	5	8,04	100,4	Aceite
10,40	5	15,60	104,0	Aceite
3,54	5	8,44	98,1	Aceite
1,38	5	6,97	111,9	Aceite
10,95	5	15,80	97,0	Aceite
3,58	5	8,96	107,7	Aceite
11,10	5	16,10	100,0	Aceite
6,82	5	12,20	107,6	Aceite
4,93	5	9,46	90,6	Aceite
7,49	5	12,56	101,5	Aceite
% Recuperação média			96,6 %	
Desvio padrão			8,96	

Tabela 4.43 - Índices recuperação de 21 amostras Pt LCK 348

Amostra (mg P/L)	Reforço (mg P/L)	Amostra Reforçada (mg P/L)	Recuperação (%)	CA (20%)
2,61	1	3,54	93,0	Aceite
3,30	1	4,32	102,0	Aceite
0,71	1	1,70	-	<LQ
1,29	1	2,15	86,0	Aceite
5,68	1	6,53	85,0	Aceite
1,33	1	2,36	103,5	Aceite
3,04	1	4,00	96,0	Aceite
1,39	1	2,42	102,6	Aceite
1,93	1	3,03	110,0	Aceite
1,64	1	2,76	112,0	Aceite
2,78	1	3,74	96,5	Aceite
1,35	1	2,20	85,3	Aceite
2,43	1	3,33	89,4	Aceite
2,80	1	3,80	100,4	Aceite
3,21	1	4,11	89,8	Aceite
1,52	1	2,43	91,4	Aceite
4,05	1	4,99	94,7	Aceite
2,15	1	3,05	90,3	Aceite
4,18	1	5,09	91,1	Aceite
2,77	1	3,89	112,2	Aceite
3,42	1	4,39	97,0	Aceite
% Recuperação média			96,4 %	
Desvio padrão			8,502	



A cada um dos conjuntos de valores de índices de recuperação, foi efetuado o teste de Grubbs aos valores que apresentavam maior distância ao valor médio, de cada uma das distribuições, concluindo-se pela tabela 4.44, que não existe valores aberrantes.

Tabela 4.44 - Comparação valores G experimentais com o valor crítico (grau confiança 95% e n=20)

	CQO LCK 314	CQO LCK 514	Nt LCK 138	Pt LCK 348
Valor testado	111,2	83,6	81,0	112,2
G	1,98	2,04	1,74	1,86
Gcrit (0,5;20)	2,56			

Assumindo como hipótese nula (H0) que o valor de recuperação média obtido não difere significativamente do valor teórico esperado (100 %) e como hipótese alternativa (H1), que estes valores são significativamente diferentes, a realização de um teste de comparação do tipo t-student, permite concluir que os valores apresentados não diferem significativamente do valor esperado (tabela 4.45):

Tabela 4.45 – Valores t experimentais e valor prova

	CQO LCK 314	CQO LCK 514	Nt LCK 138	Pt LCK 348
t	1,99	0,75	1,70	1,89
p-values	6,1%	46,2%	10,5%	7,4%

Os valores prova (p-value) apresentados na tabela, todos eles superiores ao valor considerado para o nível de significância (5%), representam a probabilidade de se obter o efeito observado, sendo a hipótese nula verdadeira.

No entanto, os baixos valores prova obtidos, evidenciam que os resultados são pouco consistentes com o pressuposto da hipótese nula ser verdadeira.

4.5.3 Comparação com método de referência validado

Uma vez que o Laboratório da Águas do Mondego, para além dos testes em cuvete da Hach Lange em estudo, tinha já métodos de referência validados e acreditados para determinação da Carência Química Oxigénio, Azoto total e Fósforo total, a exatidão dos novos métodos analíticos foi avaliada também através da realização de ensaios de equivalência entre os resultados obtidos pelos novos métodos e pelos métodos já validados.

Esta equivalência foi avaliada através da seleção de um determinado número de amostras, representativas das gamas de trabalho e matrizes a validar e a sua análise pelos métodos de referência e pelos métodos em cuvete da Hach Lange (tabela 4.46):



Tabela 4.46-Amostras ensaiadas para comparação métodos referência com métodos Hach Lange

Parâmetro	Gama	Amostras ensaiadas	Intervalo Concentrações
Carência Química Oxigênio	LCK 314	13 amostras água residual	17,2 e 108,2 mg O ₂ /L
		2 amostras água natural	<15,0 mg O ₂ /L
Carência Química Oxigênio	LCK 514	10 amostras água residual	213 e 2543 mg O ₂ /L
Azoto total	LCK 138	18 amostras água residual	3,3 e 36 mg N/L
Fósforo Total	LCK 348	13 amostras água residual	1,3 e 18 mg P/L

CQO LCK 314 – Foram ensaiadas 13 amostras água residual e 2 amostras água natural, em paralelo, pelo método de determinação CQO por titulação (método referência) e pelo método em cuvete da Hach Lange (método experimental), obtendo-se os valores da tabela seguinte:

Tabela 4.47 - Resultados análise CQO pelo método referência e método Hach Lange LCK 314

Tipo Amostra	Método referência (mg O ₂ /L)	Método LCK 314 (mg O ₂ /L)
Água residual	40,5	41,4
Água residual	39,8	42,9
Água residual	50,4	52,1
Água residual	51,9	50,4
Água residual	33,1	32,1
Água residual	42,3	43,9
Água residual	82,6	80,7
Água residual	83,0	79,2
Água residual	41,4	39,3
Água residual	53,5	49,7
Água residual	17,2	15,3
Água residual	108,2	104,5
Água residual	31,5	34,6
Água natural	2,3	1,9
Água natural	4,5	4,3

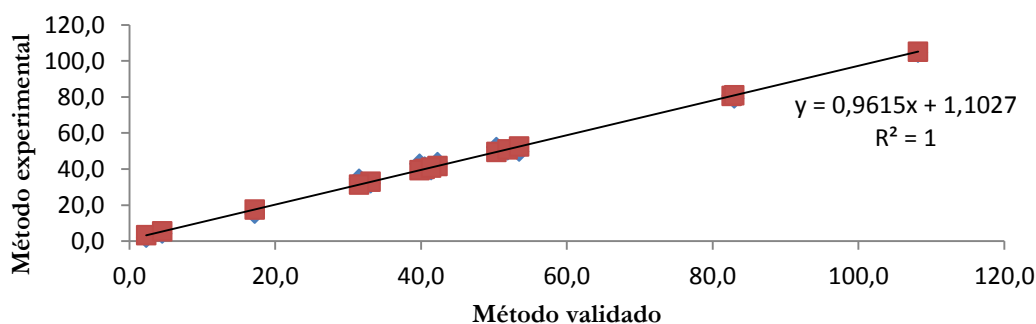


Figura 4.25 – Representação da função de resposta existente entre os valores obtidos para a concentração de CQO em amostras de água residual e natural, pelo método de referência validado e pelo método experimental LCK 314



CQO LCK 514 – Foram analisadas 10 amostras água residual, em paralelo, pelo método de determinação CQO por titulação (método referência) e pelo método em cuvete da Hach Lange (método experimental), obtendo-se os valores constantes na tabela 4.48:

Tabela 4.48 - Resultados análise CQO pelo método referência e método Hach Lange LCK 514

Tipo Amostra	Método referência (mg O ₂ /L)	Método LCK 514 (mg O ₂ /L)
Água residual	508,3	466,0
Água residual	852,7	909,0
Água residual	1008,3	976,0
Água residual	489,7	509,0
Água residual	219,0	255,0
Água residual	1274,0	1259,5
Água residual	786,0	765,5
Água residual	213,0	229,5
Água residual	352,5	368,4
Água residual	1463	1459

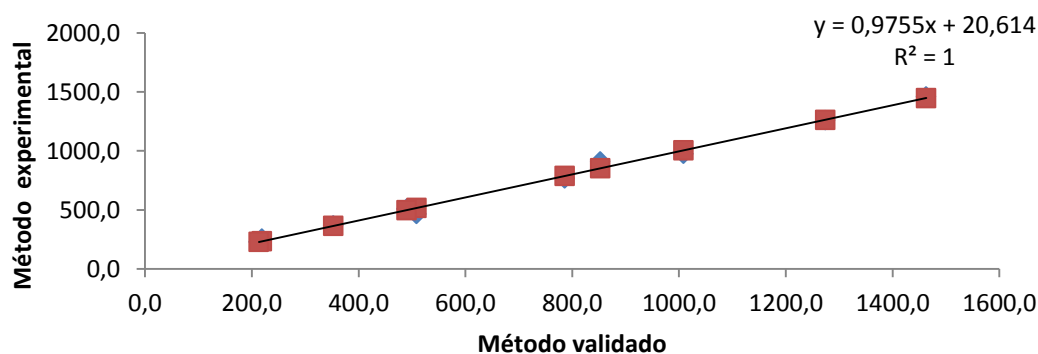


Figura 4.26 - Representação da função de resposta existente entre os valores obtidos para a concentração de CQO em amostras de água residual, pelo método de referência validado e pelo método experimental LCK 514



Azoto total LCK 138 – Foram analisadas 18 amostras água residual, em paralelo, pelo método de determinação azoto total por digestão e espectrofotometria absorção molecular (método referência) e pelo método em cuvete da Hach Lange (método experimental), obtendo-se os valores da tabela 4.49:

Tabela 4.49 - Resultados análise Nt pelo método referência e método Hach Lange LCK 138

Tipo Amostra	Método referência (mg N/L)	Método LCK 138 (mg N/L)
Água residual	20,0	20,0
Água residual	21,0	21,0
Água residual	16,0	15,0
Água residual	11,0	11,0
Água residual	11,0	10,0
Água residual	11,0	9,8
Água residual	6,5	6,7
Água residual	14,0	13,0
Água residual	3,8	3,2
Água residual	3,3	2,7
Água residual	3,3	3,0
Água residual	3,4	3,3
Água residual	12,0	12,0
Água residual	9,0	9,9
Água residual	18,0	18,0
Água residual	36,0	34,0
Água residual	19,6	19,0
Água residual	18,4	18,0

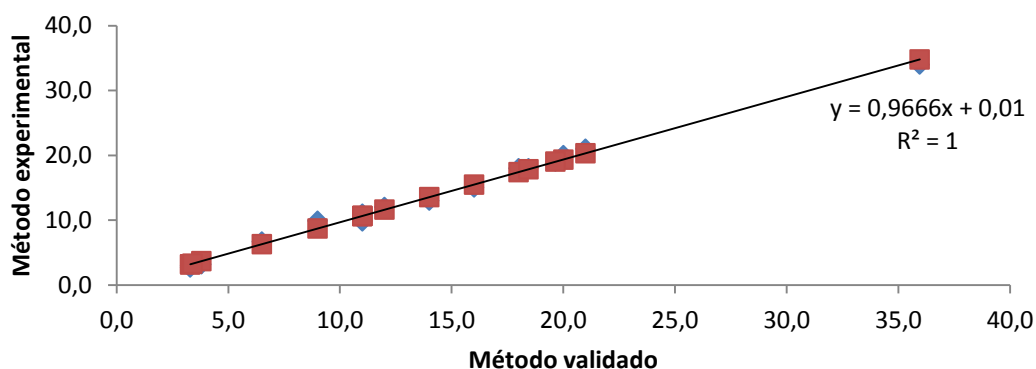


Figura 4.27 - Representação da função de resposta existente entre os valores obtidos para a concentração de Azoto em amostras de água residual, pelo método de referência validado e pelo método experimental LCK 138



Pt LCK 348 – Foram ensaiadas 13 amostras água residual analisadas, em paralelo, pelo método de determinação de Fósforo por espectrofotometria absorção molecular (método referência) e pelo método em cuvete da Hach Lange (método experimental), obtendo-se os seguintes resultados:

Tabela 4.50 - Resultados análise Pt pelo método referência e método Hach Lange LCK 348

Tipo Amostra	Método referência (mg P/L)	Método LCK 348 (mg P/L)
Água Residual	1,33	1,34
Água Residual	1,96	2,41
Água Residual	6,06	5,60
Água Residual	7,46	6,25
Água Residual	3,42	4,00
Água Residual	2,85	2,90
Água Residual	4,39	5,40
Água Residual	9,26	9,40
Água Residual	11,18	11,00
Água Residual	15,27	18,00
Água Residual	12,75	14,00
Água Residual	6,98	7,70
Água Residual	6,57	7,00

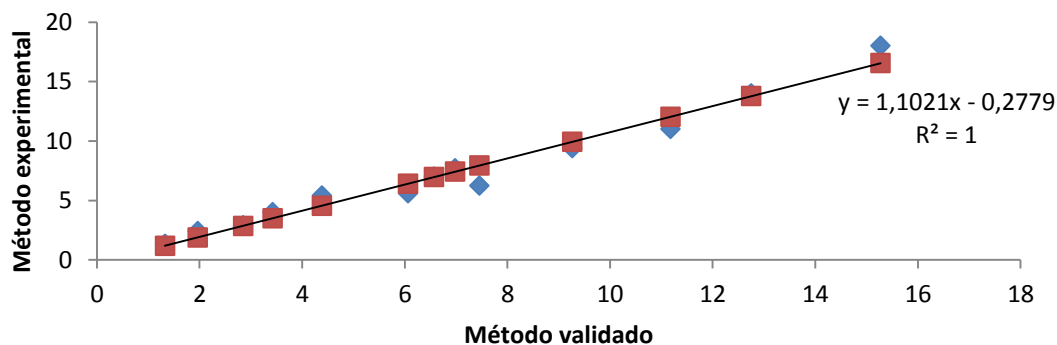


Figura 4.28 - Representação da função de resposta existente entre os valores obtidos para a concentração de Fósforo em amostras de água residual, pelo método de referência validado e pelo método experimental LCK 348



A avaliação da função de resposta entre os resultados obtidos por cada um dos métodos para todas as amostras consideradas, permite verificar que se obtêm funções lineares (Figura 4.25, 4.26, 4.27 e 4.28), com os seguintes valores de declive e ordenada na origem:

Tabela 4.51-Declive e ordenada origem da regressão linear entre métodos Hach Lange e métodos referência

Parâmetro	Gama	Declive	Ordenada origem
Carência Química Oxigénio	LCK 314	0,9615	1,1027
Carência Química Oxigénio	LCK 514	0,9755	20,614
Azoto total	LCK 138	0,9666	0,010
Fósforo Total	LCK 348	1,1021	-2,2779

Admitindo como hipótese nula (H_0), que o valor do declive não difere significativamente da unidade, podemos calcular o valor experimental de t (T_V) para cada uma das regressões lineares:

Tabela 4.52 - Teste t-student para comparação de declive com a unidade

	CQO LCK 314	CQO LCK 514	Nt LCK 138	Pt LCK 348
T ($H_0:b=1$)	1,94	1,03	1,89	1,74
p-values	7,2%	32,9%	9,1%	11,7%

Os valores prova calculados, indicam a probabilidade de cada um dos declives ser unitário.

Da mesma forma, admitindo como H_0 que a ordenada na origem é nula, podemos calcular as probabilidades desta hipótese ser verdadeira:

Tabela 4.53 - Teste t-student para comparação da ordenada na origem com o valor zero

	CQO LCK 314	CQO LCK 514	Nt LCK 138	Pt LCK 348
T ($H_0:a=0$)	1,04	1,05	0,04	0,59
p-values	31,4%	32,2%	97,2%	57,0%

A análise dos resultados obtidos, permite-nos concluir que não existem diferenças significativas entre os métodos de referência validados e acreditados pelo Laboratório da Águas do Mondego e os métodos de ensaio da Hach Lange agora em validação. Assumindo que a correlação entre cada um dos parâmetros é dada por uma equação do tipo **Método referência = Método experimental \times b + a**, considerando o declive estatisticamente igual à unidade e a ordenada na origem estatisticamente igual a zero, obtemos **Método referência = Método experimental**.



4.6 Incerteza de medição

A estimativa das incertezas associadas aos resultados, foi efetuada junto ao limite de quantificação e na restante gama de trabalho, com base nos dados de validação e/ou controlo de qualidade de cada um dos métodos analíticos, de forma a combinar as incertezas relativas à precisão e exatidão.

A estimativa da precisão foi efetuada através da avaliação dos padrões extremos das gamas de trabalho e através dos ensaios em duplicado. Uma vez efetuada esta avaliação, foram escolhidas para estimativa da incerteza combinada, as contribuições que apresentavam maior incerteza (Tabelas 4.54, 4.55, 4.56 e 4.57)

Para estimativa da componente relativa à exatidão dos métodos apenas foi considerada a análise de amostras reforçadas, uma vez que o Laboratório não utiliza MRC em rotina e o número de EIL disponíveis para os métodos em causa (<6), não permite a utilização desta ferramenta para estimativa da exatidão.



4.6.1 CQO LCK 314

Padrão LQ	Coefficiente de variação (CV %)	8,90%	μ
Componente precisão	Erro Relativo (ER %)	1,11%	8,9%
	n	20	
Padrão controlo	Coefficiente de variação (CV %)	3,44%	μ
Componente precisão	Erro Relativo (ER %)	1,45%	3,4%
	n	20	
Duplicados	Amplitude relativa média	5,88%	μ
Componente precisão	Precisão intermédia	5,22%	5,2%
	n	20	
Ensaio Recuperação	$\sum (\text{valor experimental} - \text{valor referência})^2$	12,30	μ
Componente exatidão			0,8%
	n	20	

Tabela 4.54 - Componentes Incerteza CQO LCK 314

Incerteza combinada junto ao LQ $u_{comb} = \sqrt{u_{prec}^2 + u_{exat}^2}$ $u_{comb} = \sqrt{u_{PLQ}^2 + u_{ER}^2}$ $u_{comb} = \quad \quad \quad \mathbf{0,089}$	Incerteza expandida junto ao LQ $U_{exp} = 2 \times u_{comb}$ $U_{exp} = \quad \quad \quad \mathbf{18\%}$
Incerteza combinada gama trabalho $u_{comb} = \sqrt{u_{prec}^2 + u_{exat}^2}$ $u_{comb} = \sqrt{u_{dupl}^2 + u_{ER}^2}$ $u_{comb} = \quad \quad \quad \mathbf{0,053}$	Incerteza expandida gama trabalho $U_{exp} = 2 \times u_{comb}$ $U_{exp} = \quad \quad \quad \mathbf{11\%}$



4.6.2 CQO LCK 514

Padrão LQ			μ
Componente precisão	Coefficiente de variação (CV %)	3,88%	
	Erro Relativo (ER %)	5,23%	3,9%
	n	20	
Padrão controlo			μ
Componente precisão	Coefficiente de variação (CV %)	1,36%	
	Erro Relativo (ER %)	1,77%	1,4%
	n	20	
Duplicados			μ
Componente precisão	Amplitude relativa média	3,60%	
	Precisão intermédia	3,19%	3,2%
	n	20	
Ensaio Recuperação			μ
Componente exatidão	$\sum (\text{valor experimental} - \text{valor referência})^2$	14,99	
	n	20	0,9%

Tabela 4.55 - Componentes Incerteza CQO LCK 514

Incerteza combinada junto ao LQ	
$u_{comb} = \sqrt{u_{prec}^2 + u_{exat}^2}$	
$u_{comb} = \sqrt{u_{PLQ}^2 + u_{ER}^2}$	
$u_{comb} =$	0,040

Incerteza expandida junto ao LQ	
$U_{exp} = 2 \times u_{comb}$	
$U_{exp} =$	8,0%

Incerteza combinada gama de trabalho	
$u_{comb} = \sqrt{u_{prec}^2 + u_{exat}^2}$	
$u_{comb} = \sqrt{u_{dupl}^2 + u_{ER}^2}$	
$u_{comb} =$	0,033

Incerteza expandida gama de trabalho	
$U_{exp} = 2 \times u_{comb}$	
$U_{exp} =$	6,6%



4.6.3 Nt LCK 138

Padrão LQ	Coeficiente de variação (CV %)	7,36%	μ
Componente precisão	Erro Relativo (ER %)	5,55%	7,4%
	n	20	
Padrão controlo	Coeficiente de variação (CV %)	4,00%	μ
Componente precisão	Erro Relativo (ER %)	1,07%	4,0%
	n	20	
Duplicados	Amplitude relativa média	4,28%	μ
Componente precisão	Precisão intermédia	3,80%	3,8%
	n	20	
Ensaio Recuperação	$\sum (\text{valor experimental} - \text{valor referência})^2$	17,59	μ
Componente exatidão			0,9%
	n	20	

Tabela 4.56 - Componentes Incerteza Nt LCK 138

Incerteza combinada junto ao LQ	
$u_{comb} = \sqrt{u_{prec}^2 + u_{exat}^2}$	
$u_{comb} = \sqrt{u_{PLQ}^2 + u_{ER}^2}$	
$u_{comb} =$	0,074

Incerteza expandida junto ao LQ	
$U_{exp} = 2 \times u_{comb}$	
$U_{exp} =$	15%

Incerteza combinada gama de trabalho	
$u_{comb} = \sqrt{u_{prec}^2 + u_{exat}^2}$	
$u_{comb} = \sqrt{u_{PC}^2 + u_{ER}^2}$	
$u_{comb} =$	0,041

Incerteza expandida gama de trabalho	
$U_{exp} = 2 \times u_{comb}$	
$U_{exp} =$	8,2%



4.6.4 Pt LCK 348

Padrão LQ	Coeficiente de variação (CV %)	3,79%	μ
Componente precisão	Erro Relativo (ER %)	1,60%	3,8%
	n	20	
Padrão controlo	Coeficiente de variação (CV %)	2,87%	μ
Componente precisão	Erro Relativo (ER %)	0,06%	2,9%
	n	20	
Duplicados	Amplitude relativa média	3,52%	μ
Componente precisão	Precisão intermédia	3,12%	3,1%
	n	20	
Ensaio Recuperação	$\sum (\text{valor experimental} - \text{valor referência})^2$	16,31	μ
Componente exatidão			0,9%
	n	20	

Tabela 4.57 - Componentes Incerteza Pt LCK 348

Incerteza combinada junto ao LQ $u_{comb} = \sqrt{u_{prec}^2 + u_{exat}^2}$ $u_{comb} = \sqrt{u_{PLQ}^2 + u_{ER}^2}$ $u_{comb} = 0,039$	Incerteza expandida junto ao LQ $U_{exp} = 2 \times u_{comb}$ $U_{exp} = 7,8\%$
Incerteza combinada gama de trabalho $u_{comb} = \sqrt{u_{prec}^2 + u_{exat}^2}$ $u_{comb} = \sqrt{u_{dupl}^2 + u_{ER}^2}$ $u_{comb} = 0,032$	Incerteza expandida gama de trabalho $U_{exp} = 2 \times u_{comb}$ $U_{exp} = 6,5\%$

De acordo com o DL 83/2011 ^[27], que estabelece critérios de desempenho mínimo para métodos de análise a serem aplicados sempre que se monitoriza o estado das águas, estas incertezas devem ser iguais ou inferiores a 50% para um fator de expansão K=2, pelo que podemos concluir pela análise das incertezas estimadas, que os métodos em estudo cumprem as disposições legais, em toda a gama de trabalho.



5 CONCLUSÕES

O presente trabalho pretendeu validar e verificar a adequabilidade ao uso em rotina no Laboratório da Águas do Mondego, dos seguintes métodos fotométricos em cuvete da Hach Lange, para águas residuais e naturais: Carência Química Oxigénio – gamas de 15 a 150 (Ref.^a LCK 314) e 100 a 2 000 mg O₂/L (Ref.^a LCK 514), Azoto Total – gama de 3 a 15 mg N/L (Ref.^a LCK 138) e Fósforo Total – gama de 1 a 5 mg P/L (Ref.^a LCK 348)

A utilização destas cuvetes, implica o uso de equipamentos específicos, nomeadamente um espectrofotómetro de absorção molecular, da marca Hach Lange, onde existem curvas de calibração para cada método de ensaio e para cada gama de trabalho definida, sendo cada uma delas reconhecida pelas cuvetes de teste através da leitura dos respetivos códigos de barras.

Na realização deste trabalho, começou por se verificar a linearidade destas curvas de calibração, através da preparação e leitura de 4 padrões e um ensaio em branco, e traçado das respectivas retas. A análise visual destas curvas de calibração e a avaliação do coeficiente de determinação, permitiu confirmar a sua linearidade nas gamas de trabalho analisadas. Além disso, foi ainda verificada a existência de homogeneidade de variância nos extremos de todas as gamas, o que evidencia que as mesmas se encontram bem definidas.

Os limiares analíticos, correspondentes aos extremos inferiores de cada uma das gamas de trabalho, foram avaliados através da preparação e análise, em condições de precisão intermédia, de padrões com concentrações de 15 e 100 mg O₂/L, 3 mg N/L e 1 mg P/L.

A análise destes conjuntos de dados, permitiu concluir que, à exceção do CQO gama LCK 514, todos eles apresentaram uma precisão inferior a 10%, cumprindo o exigido no Dec. Lei 236/98 para azoto total e fósforo total. No caso do CQO gama LCK 514, o padrão de 100 mg O₂/L apresentava um coeficiente de variação que ultrapassava os 10% de precisão pelo que, apesar do valor previsto no referido Dec. Lei ser de 25% o Laboratório optou por subir para 300 mg O₂/L o limite inferior desta gama de trabalho, verificando-se assim, uma precisão inferior a 10%, valor considerado aceite pelo laboratório para validação de novos métodos de ensaio.

A avaliação da precisão dos métodos foi ainda efetuada através da preparação e análise de padrões com concentrações correspondentes aos extremos superiores de cada uma das gamas de trabalho (padrão de 150 e 2 000 mg O₂/L, 15 mg N/L e 5 mg P/L), verificando-se coeficientes de variação sempre inferiores a 10%. Para além dos padrões de controlo, foi também efetuada a avaliação da precisão intermédia através da análise de duplicados de amostra, obtendo-se para este parâmetro, valores de precisão inferiores a 10%.



A precisão foi ainda avaliada em condições de repetibilidade, através da análise de 10 réplicas da mesma amostra, para cada um dos métodos e gamas em estudo, obtendo-se coeficientes de variação inferiores a 5% em todos os casos.

A exatidão dos métodos analíticos foi avaliada, através da utilização de ensaios interlaboratoriais, ensaios de recuperação e através da comparação com métodos normalizados, já implementados e validados no laboratório da Águas do Mondego.

No caso dos ensaios interlaboratoriais, apesar do número de resultados disponíveis ser ainda muito reduzido, todos os valores encontrados originaram z-score inferiores a 2, ou seja, todos resultados satisfatórios, o que indica que se trata de métodos com boa exatidão.

Os ensaios de recuperação foram efetuados em amostras reais, contendo potenciais interferentes, de modo a ensaiar todas as matrizes e gamas a validar. Os valores médios de índice de recuperação obtidos, todos eles estatisticamente iguais a 100%, permitem concluir a boa exatidão dos métodos em cuvette.

No que respeita à comparação com os métodos já validados, as determinações efectuadas permitiram concluir que os resultados obtidos por ambos os métodos são estatisticamente equivalentes uma vez que o teste da correlação linear entre os dois métodos origina uma reta de calibração do tipo **Método (1) = Método (2) b + a** com declive (b) igual à unidade e ordenada na origem (a) igual a zero.

O lançamento dos primeiros reagentes prontos a usar para análises fotométrica, na década de 60, produziu um efeito significativo na análise ambiental. Desde então, as inovações introduzidas simplificaram as análises e a respetiva confiança. Uma vez ultrapassado o problema do reconhecimento oficial, dado que os procedimentos de garantia da qualidade são efetuados e documentados, com bons resultados, a utilização dos testes em cuvette tem-se apresentado como uma alternativa válida aos métodos convencionais, com vantagens no plano operacional, económico e ambiental.

A vantagem de utilização deste tipo de testes começa desde logo, no seu processo de aquisição, uma vez que existindo apenas um fornecedor para os testes em estudo, é ultrapassada a obrigatoriedade de consulta a vários fornecedores. Além disso, estes métodos permitem a aquisição das cuvetes de teste à medida das necessidades do Laboratório, não sendo necessária a compra de grandes quantidades de material e reagentes.

No plano operacional, a utilização dos testes em cuvette dispensa a preparação de todos os reagentes para análise, uma vez que os reagentes necessários são fornecidos já preparados, nas quantidades e concentrações indicadas. A acrescentar às vantagens no plano operacional, surge ainda o fato da digestão das amostras para determinação de Carência Química de Oxigénio, Fósforo Total e Azoto Total, ser efetuada de forma mais rápida mediante a



utilização do digestor de altas temperaturas com arrefecimento rápido. Uma determinação de CQO, por exemplo, demorará apenas 35 minutos em vez dos 135 habituais.

Os testes em cuvete apresentam uma segurança operacional máxima para os utilizadores, graças ao seu sistema fechado, às pequenas quantidades de reagentes utilizadas – cerca de 90% de produtos químicos a menos do que os métodos tradicionais – e a dosagem exata de reagentes.

Ao contrário dos fotómetros de feixe único, os fotómetros da Hach Lange possuem um segundo feixe, que funciona como padrão de referência, o que permite compensar potenciais fatores de interferência como o envelhecimento da lâmpada e flutuações de corrente. As medições sucessivas com 10 réplicas, em conjunto com o leitor de código de barras, asseguram a máxima confiança nos resultados. Os erros causados por sujidade ou imperfeições na cuvete são reconhecidos e eliminados de forma a não influenciarem os resultados.

Outra das grandes vantagens dos testes em cuvete, reside na questão ambiental. Os produtos químicos e substâncias perigosas utilizados, em quantidades substancialmente mais reduzidas, são recolhidos pelo fornecedor e processados de acordo com os métodos de tratamento adequados a este tipo de resíduos.

Graças às técnicas de processamento utilizadas no Centro Ambiental da Hach Lange, certificado há mais de 10 anos, mais de 75% dos componentes de teste devolvidos, são reutilizados nos ciclos de produção.



BIBLIOGRAFIA

1. Carta Europeia da Água – Conselho da Europa, Estrasburgo, 6 de Maio de 1968
2. Decreto-Lei n.º 45/94 de 22 de Fevereiro, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território
3. Diretiva 2000/60/EC, de 23 de Outubro, Conselho do Parlamento Europeu
4. NP EN ISO/IEC 17025 - Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração, 2ª Edição, IPQ (2005)
5. Nordtest Repor TR 569 – Handbook for chemical Laboratories. Internal Quality Control, 4ªEd, Nordteste (2011)
6. Metcalf & Eddy – Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. 4ª edição. McGraw-Hill (2003)
7. Guia Relacre 3 - Validação de Resultados em Laboratórios Químicos, Relacre (1996)
8. Eurachem Working Group – The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics – Eurachem Guide (1998)
9. OGC 002 – Guia para Acreditação de Laboratórios Químicos, IPAC (2011)
10. Guia Relacre 13 - Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química, Relacre (2000)
11. ISO/TS 13530 - Water quality - Guidance on analytical quality control for chemical and physicochemical water analysis, 1ª Ed. (2009)
12. ISO/IEC Guide 99 - International vocabulary of metrology - Basic and general concepts and associated terms (2007)
13. Nordtest Repor TR 537 – Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories, Edição 3.1, Nordtest (2012)
14. CITAC and Eurachem - Guide CG4 - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement - 3ª Edição (2012)



15. OGC 007 – Guia para Quantificação de Incertezas em Ensaíos Químicos, IPAC (2007)
16. James N. Miller, Jane C. Miller - Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 5ª Edição, Pearson Education (2005)
17. Michael Thompson, Roger Wood – Harmonized Guidelines for internal quality control in analytical laboratories (Technical Report), IUPAC (1995)
18. Sonya D., Nadejda T., Kapka B., Vesela Z.; Svetlana L., Mariana K., Rumen A. and Tony V. - Comparison of spectrophotometric methods using cuvette tests and national standard methods for analysis of wastewater samples – International Journal of Water Resources and Environmental Engineering (2013)
19. Petra Putz - 10 × COD: a COD range for every application - Hach Lange (2008)
20. Petra Putz - Nitrogen parameters: Nitrification, Denitrification - Hach Lange (2012)
21. Petra Putz - Elimination and determination of phosphates - Hach Lange (2008)
22. Eaton, A., Clesceri, L., Greenberg, A.- Standard Methods for the examination of water and wastewater, 22th edition, American Public Health Association, Washington (2005)
23. Dr. Lange – Operating Manual Thermostat HT 200 S, 2ª Edição, Hach Lange (2004)
24. Hach Lange – DR 2800 Manual do utilizador (DOC022.79.00720/5A) – 5ª Edição, Hach Lange (2009)
25. Petra Putz - Testes em cuvette da LANGE: com os profissionais há 40 anos - Hach Lange (2007)
26. Decreto-Lei nº 236/98, de 01 de Agosto, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território
27. Decreto-Lei nº 83/2011 de 20 de Junho, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território
28. CITAC and Eurachem – Guide to Quality in Analytical Chemistry – An Aid to Accreditation (2002)
29. Coordenação Geral de acreditação – Orientação sobre validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008), rev. 03 (2010)
30. Decreto-Lei nº 103/2010 de 24 de Setembro, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território
31. Decreto-Lei nº 152/97, de 19 de Junho, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território



32. Decreto-Lei nº 226-A/2007, de 31 de Maio, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território
33. Decreto-Lei nº 58/2005, de 29 de Dezembro, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território
34. Diretiva 2009/83/EC, de 3 de Novembro, Conselho do Parlamento Europeu
35. Diretiva 98/83/EC, de 3 de Novembro 1998, Conselho do Parlamento Europeu
36. EPA-600/4-79-019 – Handbook for analytical quality control in water and wastewater laboratories (1979)
37. Guia Relacre 7 – Ensaios Interlaboratoriais em Química, Relacre (1996)
38. DR 2800 Spectrophotometer – Ed.2, Hach Lange (2007)
39. Examination and assessment of selected Hach Lange test methods for the analysis of drinking water in conformity with the 2001 Drinking Water Directive, Hach Lange (2006)
40. International Union of Pure and Applied Chemistry – Harmonized Guidelines for single laboratory validation of methods of analysis, IUPAC (2002)
41. ISO 11352 - Water quality – Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data (2012)
42. ISO 11905-1 – Water quality – Determination of nitrogen – Method using oxidative digestion peroxodisulfate (1997)
43. ISO 15705 - Water quality – Determination of chemical oxygen demand index – Small-scale sealed method (2002)
44. ISO 17381 - Water quality – Selection and application of ready-to-use teste kits methods in water analysis (2003)
45. ISO 6878 - Water quality – Determination of phosphorus – Ammonium molybdate spectrometric method (2004)
46. Jamie Bartrand, Richard Balance - Chapter 9 – Analytical Quality Assurance - UNEP/WHO (1996)
47. Jean Rodier, Bernard Legube, Nicole Merlet et coll. - L'Analyse de léau, 9ª Edição, Dunod (2009)



48. Lui; D. H. F.; Lipák, B. G. e Bouis, P. A. – Environmental Engineer's Handbook. 2ª Edição. Nova Iorque: Lewis Publishers (1997)
49. OGC 001 – Guia Interpretativo da Norma NP EN ISO/IEC 17025:2005, IPAC (2012)
50. Petra Putz - Confidence in your results with LANGE cuvette tests – Hach Lange (2008)
51. Syed R. Qasim - Waste Water Treatment Plants, 2ª Edição, CRC Press(1999)
52. UNEP/WHO - Water Quality Monitoring - A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programs - Chapter 9 – Analytical quality assurance (1996)



6 ANEXO I – ENSAIOS INTERLABORATORIAIS – RELATÓRIOS ORIGINAIS

6.1 CQO LCK 314

LGC Standards Proficiency Testing – Round 433 (Água natural); Z-score: -0,69

Scheme: AQUACHECK Proficiency Scheme

Round: 433

3 - Non-Specific Determinands

Analyte	Analyst	Method	Result	Units	z score (** z' score)	Assigned Value	Uncertainty	SDPA	No of results	Median	Mean	Robust SD	SD
BOD (5 day)	SM	Oxygen probe	2.43	mgO2/L	-0.33	2.53	0.01	0.300	42	2.50	2.50	0.460	0.471
COD	SM	Other	146.0	mgO2/L	-0.42	150.8	0.5	11.31	19	152.5	155.8	6.97	9.00
COD	FR	Closed reflux	162.0	mgO2/L	0.99	150.8	0.5	11.31	16	150.5	154.4	5.19	18.23
COD	SM	Closed reflux	158.0	mgO2/L	0.04	150.8	0.5	11.31	16	150.5	154.4	5.19	18.23
COD	TP	Other	143.0	mgO2/L	-0.69	150.8	0.5	11.31	19	152.5	155.8	6.97	9.00
Suspended solids	TP	Gravimetry	10.90	mg/L	0.90	10.00	0.13	1.000	73	10.00	10.15	0.868	1.137
Turbidity	TP	Nephelometric	3.92	NTU	0.03	3.91	0.04	0.391	75	3.91	3.92	0.274	0.393
Turbidity	AD	Nephelometric	3.80	NTU	-0.28	3.91	0.04	0.391	75	3.91	3.92	0.274	0.393
Turbidity	FR	Nephelometric	3.98	NTU	0.18	3.91	0.04	0.391	75	3.91	3.92	0.274	0.393
Turbidity	IM	Nephelometric	3.64	NTU	-0.69	3.91	0.04	0.391	75	3.91	3.92	0.274	0.393
Turbidity	SG	Nephelometric	4.05	NTU	0.36	3.91	0.04	0.391	75	3.91	3.92	0.274	0.393
Turbidity	SM	Nephelometric	4.03	NTU	0.31	3.91	0.04	0.391	75	3.91	3.92	0.274	0.393

Figura 6.1 - Extrato relatório EIL Águas naturais - LGC D433

6.2 CQO LCK 514

Relacre – AR2012 Abril – Água residual ; Z-score: 0,3

RELACRE													
LEGENDA dos Z-scores													
Z-scores Rosas indicam erros graves Z >5													
Z-scores Amarelos indicam resultados insatisfatórios Z >3													
Z-scores Brancos indicam resultados satisfatórios													
Parâmetro	Unidades	Z-score	En	!!	Resultado	Incerteza	Data	Z-score	En	!!	Resultado	Incerteza	Data
Alumínio Total	mg/L	1,7	0,8		7,58	0,4	19-04-20	0,0	---		6,9		16-abr
Laboratório 9							Laboratório 10						
pH a 20°C	Escala Sorel	0,7	---		7,64		12-abr	0,0	---		7,5		12-abr
Condutividade	µS/cm	0,3	---		1171		12-abr	-0,1	---		1156		13-abr
Cor Verdadeira	mg/L	2,1	---		53,4		13-abr	---	---		---		---
Carência Bioq	mg/L	-2,6	---		107		23-abr	2,3	---		165		17-abr
Carência Quir	mg/L	-1,9	---		296,3		16-abr	0,3	---		360		12-abr

Figura 6.2 - Extrato relatório EIL Água Residual - Relacre AR2012 Abril



6.3 Nt LCK 138

LGC Standards Proficiency Testing – Round 435 (Água residual); Z-score: -0,52

Scheme: AQUACHECK Proficiency Scheme

Round: 435

10 - Nutrients

Analyte	Analyst	Method	Result	Units	z score (** z' score)	Assigned Value	Uncertainty	SDPA	No of results	Median	Mean	Robust SD	SD
Nitrate	TP	Colorimetry	5.30	mgN/L	0.44	5.13	0.02	0.385	42	5.18	5.22	0.215	0.367
Nitrate	SM	Colorimetry	5.00	mgN/L	-0.34	5.13	0.02	0.385	42	5.18	5.22	0.215	0.367
Nitrate	TP	Other	5.98	mgN/L	2.21	5.13	0.02	0.385	5	5.02	5.10	0.104	0.306
Nitrite	FR	Colorimetry	0.69	mgN/L	-3.09	0.90	0.00	0.068	53	0.90	0.90	0.030	0.081
Nitrite	TP	Colorimetry	0.69	mgN/L	-3.09	0.90	0.00	0.068	53	0.90	0.90	0.030	0.081
Ammonia	SM	Titrimetry	11.08	mgN/L	0.07	11.02	0.04	0.827	15	10.67	10.74	0.400	0.401
Ammonia	SM	Other	10.70	mgN/L	-0.39	11.02	0.04	0.827	10	10.90	10.88	0.586	0.570
Ammonia	TP	Other	11.45	mgN/L	0.52	11.02	0.04	0.827	10	10.90	10.88	0.586	0.570
Chloride	TP	Other	143	mgCl/L	0.38	139	1	10.4	9	142	140	5.9	10.8
Chloride	FR	Titrimetry	138	mgCl/L	-0.10	139	1	10.4	30	141	144	3.0	7.6
Kjeldahl Nitrogen	TP	Various	10.9	mgN/L	-1.93	13.5	0.0	1.35	60	13.1	13.0	1.19	1.37
Kjeldahl Nitrogen	FR	Various	11.0	mgN/L	-1.85	13.5	0.0	1.35	60	13.1	13.0	1.19	1.37
Kjeldahl Nitrogen	SM	Various	11.0	mgN/L	-1.85	13.5	0.0	1.35	60	13.1	13.0	1.19	1.37
Total Nitrogen	FR	Colorimetry	30.2	mgN/L	-0.13	30.6	0.0	3.06	9	28.6	28.1	2.37	4.81
Total Nitrogen	SM	Colorimetry	30.2	mgN/L	-0.13	30.6	0.0	3.06	9	28.6	28.1	2.37	4.81
Total Nitrogen	SM	Other	29.0	mgN/L	-0.52	30.6	0.0	3.06	17	30.3	30.2	2.52	1.97
Total Nitrogen	TP	Summation of nitrogen compounds	28.1	mgN/L	-0.82	30.6	0.0	3.06	24	30.1	29.0	1.04	3.08

Figura 6.3 - Extrato relatório EIL Água residual- LGC D435

6.4 Pt LCK 348

LGC Standards Proficiency Testing – Round 435 (Água natural); Z-score: 1,40

Scheme: AQUACHECK Proficiency Scheme

Round: 435

10 - Nutrients

Analyte	Analyst	Method	Result	Units	z score (** z' score)	Assigned Value	Uncertainty	SDPA	No of results	Median	Mean	Robust SD	SD
Nitrate	TP	Colorimetry	5.30	mgN/L	0.44	5.13	0.02	0.385	42	5.18	5.22	0.215	0.367
Nitrate	SM	Colorimetry	5.00	mgN/L	-0.34	5.13	0.02	0.385	42	5.18	5.22	0.215	0.367
Nitrate	TP	Other	5.98	mgN/L	2.21	5.13	0.02	0.385	5	5.02	5.10	0.104	0.306
Nitrite	FR	Colorimetry	0.69	mgN/L	-3.09	0.90	0.00	0.068	53	0.90	0.90	0.030	0.081
Nitrite	TP	Colorimetry	0.69	mgN/L	-3.09	0.90	0.00	0.068	53	0.90	0.90	0.030	0.081
Ammonia	SM	Titrimetry	11.08	mgN/L	0.07	11.02	0.04	0.827	15	10.67	10.74	0.400	0.401
Ammonia	SM	Other	10.70	mgN/L	-0.39	11.02	0.04	0.827	10	10.90	10.88	0.586	0.570
Ammonia	TP	Other	11.45	mgN/L	0.52	11.02	0.04	0.827	10	10.90	10.88	0.586	0.570
Chloride	TP	Other	143	mgCl/L	0.38	139	1	10.4	9	142	140	5.9	10.8
Chloride	FR	Titrimetry	138	mgCl/L	-0.10	139	1	10.4	30	141	144	3.0	7.6
Kjeldahl Nitrogen	TP	Various	10.9	mgN/L	-1.93	13.5	0.0	1.35	60	13.1	13.0	1.19	1.37
Kjeldahl Nitrogen	FR	Various	11.0	mgN/L	-1.85	13.5	0.0	1.35	60	13.1	13.0	1.19	1.37
Kjeldahl Nitrogen	SM	Various	11.0	mgN/L	-1.85	13.5	0.0	1.35	60	13.1	13.0	1.19	1.37
Total Nitrogen	FR	Colorimetry	30.2	mgN/L	-0.13	30.6	0.0	3.06	9	28.6	28.1	2.37	4.81
Total Nitrogen	SM	Colorimetry	30.2	mgN/L	-0.13	30.6	0.0	3.06	9	28.6	28.1	2.37	4.81
Total Nitrogen	SM	Other	29.0	mgN/L	-0.52	30.6	0.0	3.06	17	30.3	30.2	2.52	1.97
Total Nitrogen	TP	Summation of nitrogen compounds	28.1	mgN/L	-0.82	30.6	0.0	3.06	24	30.1	29.0	1.04	3.08
Total Phosphorus	TP	Colorimetry	13.4	mgP/L	2.33	11.4	0.0	0.86	58	11.4	11.3	0.59	1.05
Total Phosphorus	FR	Colorimetry	13.5	mgP/L	2.44	11.4	0.0	0.86	58	11.4	11.3	0.59	1.05
Total Phosphorus	FR	Other	12.2	mgP/L	0.93	11.4	0.0	0.86	12	11.2	11.2	0.59	0.64
Total Phosphorus	SM	Colorimetry	13.1	mgP/L	1.36	11.4	0.0	0.86	58	11.4	11.3	0.59	1.05
Total Phosphorus	SM	Other	12.6	mgP/L	1.40	11.4	0.0	0.86	12	11.2	11.2	0.59	0.64

Figura 6.4 - Extrato relatório EIL Água residual- LGC D435