

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

MUNIQUE RODRIGUES PEREIRA

Uso da luminescência como ferramenta de detecção de
oxigênio dissolvido para verificação da qualidade de água
bruta superficial

Porto Alegre
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

Munique Rodrigues Pereira

Uso da luminescência como ferramenta de detecção de
oxigênio dissolvido para verificação da qualidade de água
bruta superficial

Trabalho de conclusão de curso
apresentado junto à atividade de ensino
“Projeto Tecnológico” do Curso de
Química Industrial, como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Química Industrial.

Profa. Dra. Leandra Franciscato Campo
Orientadora

Porto Alegre
2016

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Dalton e Mônica, minha irmã Cecília e meu irmão Dalton Jr, pela confiança e apoio durante todo período da minha graduação.

Ao minha orientadora Dra. Leandra Franciscato Campo, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

Aos amigos que criei durante a realização deste trabalho na CORSAN, Carla e Vinicius, que me apoiaram e incentivaram, além de terem me rendido boas risadas.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O controle da demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5), que significa a determinação do consumo de oxigênio molecular pelas matérias orgânicas presentes na água num período de cinco dias, é um parâmetro importante para avaliação da carga orgânica lançada nos recursos hídricos. Realizam-se duas leituras da amostra, a primeira de forma imediata, logo quando a mesma é coletada ou quando chega no laboratório de análise, e a segunda após cinco dias de incubação em condições de temperatura controlada (20 °C). Um dos principais métodos utilizados atualmente é o método Winkler modificado pela azida sódica. O método depende da oxidação do hidróxido manganoso (manganês bivalente) pelo oxigênio dissolvido na água, resultando na formação de um composto tetravalente. Quando a água contendo o composto tetravalente é acidificada, iodo é liberado a partir da oxidação do iodeto de potássio (ou de sódio). O iodo é equivalente quimicamente a quantidade de oxigênio dissolvido presente na amostra e é determinado por titulação com uma solução padrão de tiosulfato de sódio. O presente trabalho visa à substituição deste método pelo uso de um sensor de oxigênio baseado na medida do tempo de vida da fluorescência. Para que esta substituição fosse possível foi necessário que se realizassem testes de seletividade, sensibilidade, precisão, exatidão e robustez. A metodologia mostrou-se indiferente à presença de interferentes na matriz para a determinação do analito. O limite de detecção foi de 0,28 mg/L de O_2 e a comparação entre os resultados obtidos pelos dois métodos se mostraram semelhantes.

Palavras-chaves: Demanda bioquímica de oxigênio. Análise de águas. Winkler. Luminescência. Validação.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Níveis aceitáveis de oxigênio dissolvido em águas doces, salobras e salinas em todo o Território Nacional estipulados pelo CONAMA, por meio da resolução nº 357 de 18 de março de 2005 . ⁵	13
Tabela 2 – Valores calculados de DBO ₅ do analito em água estéril.....	32
Tabela 3 - Valores calculados de DBO ₅ do analito em matriz.	32
Tabela 4 – Valores calculados de DBO ₅ (mg/L O ₂) para o ensaio de sensibilidade. .	34
Tabela 5 – Valores obtidos para estudo de repetibilidade e reprodutibilidade durante o Programa de Ensaios de Proficiência em Análises Ambientais nos anos de 2015 e 2016.	34
Tabela 6 - Valores obtidos para estudo de repetibilidade e reprodutibilidade durante o Programa de Ensaios de Proficiência em Amostragem nos anos de 2015 e 2016.	35
Tabela 7 – Resultados obtidos para o estudo da comparação entre o método normalizado e não normalizado.	35
Tabela 8 – Resultados obtidos para o estudo de Z-score	36
Tabela 9 – Valores de DBO transformados em logaritmo de base 10 para o conjunto binário avaliando Sonda e Temperatura.....	37
Tabela 10 – Valores de DBO transformados em logaritmo de base 10 para o conjunto binário avaliando Sonda e Dia.	37
Tabela 11 – Resultados calculados de para os fatores sonda, temperatura e dia dos dois conjuntos analisados para teste do parâmetro de robustez.....	38
Tabela 12 – Consumo de reagentes e custo para o uso do método titulométrico.	39
Tabela 13 – Custo das vidrarias utilizadas no método titulométrico.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Solubilidade do oxigênio em função da temperatura, à pressão atmosférica de 1 atm.	15
Figura 2 - Diagrama de Jablonski, mostrando os processos físicos que podem ocorrer após uma molécula absorver um fóton com energia da faixa ultravioleta ou visível. S_0 é o estado eletrônico fundamental, S_1 , e T_1 são os estados excitados singleto e tripleto de menor energia, respectivamente. S_2 é um segundo estado excitado singleto. As setas retas representam os processos envolvendo fótons, e as setas onduladas são as transições não-radioativas (que não emitem radiação).	17
Figura 3 - Processo de supressão de um fluoróforo na presença de oxigênio.....	18
Figura 4 – Representação dos compostos organometálicos de Ru (II) mais comuns usados atualmente como fluoróforos para medição de oxigênio. ¹⁵	19
Figura 5 – Exemplos de estruturas de metaloporfirinas aplicadas como fluoróforos para medição de oxigênio usando platina (Pt) como metal. ¹⁷ onde (A) 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina de platina e (B) octaetilporfirina de platina.	20
Figura 6 – Diagrama do sensor luminescente de oxigênio dissolvido HACH, ilustrando sua constituição e a presença do par de LEDs: vermelho (esquerdo) e azul (direito). ²⁷	24
Figura 7 – Sonda luminescente HQDBOD01 (HACH) conectada ao leitor multiparâmetro HQ40d (HACH).....	28
Figura 8 – Frasco de Winkler de 300 mL para determinação de DBO_5	29
Figura 9 – Gráfico Seletividade comparando o efeito da matriz de água bruta superficial frente à água estéril.....	33
Figura 10 – Valores do medidor de oxigênio e da sonda fornecidos pela Hexis Científica fornecedora dos produtos HACH no Brasil.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

APHA – Associação Americana de Saúde Pública (*American Public Health Association*)

AWWA - Associação Americana de Trabalhos em Água (*American Water Works Association*)

CORSAN – Companhia Riograndense de Saneamento

CV – Coeficiente de Variação

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency*)

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

ISO/IEC – Organização Internacional de Padronização / Comissão Eletrotécnica Internacional (*International Organization of Standardization / International Electrotechnical Commission*)

LDM – Limite de Detecção do Método

OD – Oxigênio Dissolvido

VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia

WEF – Federação Ambiental da Água (*Water Environment Federation*)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 Geral	12
2.2 Específicos.....	12
3 REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1 A ÁGUA	13
3.2 OXIGÊNIO DISSOLVIDO	14
3.3 DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO	15
3.4 LUMINESCÊNCIA.....	16
3.5 DETERMINAÇÃO DE OD E DBO ₅ EM ÁGUAS BRUTAS SUPERFICIAIS	21
3.5.1 <i>Winkler modificado pela azida sódica</i>	22
3.5.2 <i>Tempo de vida da fluorescência</i>	23
3.6 VALIDAÇÃO	24
3.6.1 <i>Parâmetros de desempenho</i>	25
3.6.1.1 SELETIVIDADE	25
3.6.1.2 SENSIBILIDADE	25
3.6.1.3 PRECISÃO.....	26
3.6.1.4 EXATIDÃO	26
3.6.1.5 ROBUSTEZ.....	27
4 METODOLOGIA	28
4.1 Materiais e reagentes.....	28
4.2 Equipamento.....	28
4.3 Validação	29
4.3.1 <i>Seletividade</i>	29
4.3.2 <i>Sensibilidade</i>	30
4.3.3 <i>Precisão (repetitibilidade e reprodutibilidade)</i>	30
4.3.4 <i>Exatidão</i>	30
4.3.4.1 <i>Método normalizado x método não normalizado</i>	30
4.3.4.2 <i>Estudo de Z-score interlaboratorial</i>	31
4.3.5 <i>Robustez</i>	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32

5.1 Seletividade.....	32
5.2 Sensibilidade	33
5.3 Precisão	34
5.4 Exatidão	35
5.4.1 Método normalizado vs Método não normalizado	35
5.4.2 Estudo de Z-score Interlaboratorial	36
5.5 Robustez	36
5.6 Parâmetros avaliados	38
6 AVALIAÇÃO DE CUSTOS.....	39
7 IMPACTO AMBIENTAL.....	41
8 CONCLUSÃO.....	42
REFERENCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

O oxigênio dissolvido é considerado um dos parâmetros mais significativos para expressar a qualidade de um ambiente aquático. É sabido que a dissolução de gases na água sofre a influência de distintos fatores ambientais (temperatura, pressão, salinidade). As variações nos teores de oxigênio dissolvido estão associadas aos processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem nos corpos d'água. Para a manutenção da vida aquática aeróbica são necessários teores mínimos de oxigênio dissolvido de 2 mg/L a 5 mg/L, exigência de cada organismo. A concentração de oxigênio disponível mínima necessária para sobrevivência das espécies piscícolas é de 4 mg/L para a maioria dos peixes. Em condições de anaerobiose (ausência de oxigênio dissolvido) os compostos químicos são encontrados na sua forma reduzida (isto é, não oxidada), a qual é geralmente solúvel no meio líquido, disponibilizando, portanto, as substâncias para assimilação pelos organismos que sobrevivem no ambiente. À medida em que cresce a concentração de oxigênio dissolvido os compostos vão precipitando, ficando armazenados no fundo dos corpos d'água.

O Departamento de Ensaio e Apoio Laboratorial (DEAL), também conhecido como Laboratório Central da CORSAN, é responsável por analisar diversos parâmetros de amostras de água bruta e tratada, coletadas nas localidades atendidas pela CORSAN, assim como amostras coletadas pela equipe de coletas do próprio DEAL. Entre esses parâmetros encontra-se o oxigênio dissolvido e a demanda bioquímica de oxigênio. Estas análises atendem às normas internacionais, o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Métodos Padrão para Inspeção de Águas e Águas Residuais) de autoria das instituições americanas: Associação Americana de Saúde Pública (APHA), Associação Americana de Trabalhos em Água (AWWA) e Federação Ambiental da Água (WEF).

As coletas são muitas vezes de locais à jusante ou à montante de pontos de captação de água para tratamento ou de pontos de descarga de efluentes. Com isto é possível monitorar se o tratamento dos efluentes está sendo satisfatório e também, no caso dos pontos de captação de água, pode-se ter uma ideia de como deve ser conduzido o tratamento, assim como qual vai ser a demanda de reativos, equipamentos e outros itens necessários para a estação de tratamento da localidade analisada.

Para que as análises sejam conduzidas com maior eficiência, o laboratório é dividido em vários grupos, sendo cada grupo responsável por um determinado conjunto de parâmetros. Seguindo os critérios da norma ISO 17025, o DEAL é um dos laboratórios acreditados pelo INMETRO, participando também de rodadas periódicas de análises interlaboratoriais realizadas pela Rede Metrológica-RS.

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho é validar o método analítico utilizado pelo laboratório da CORSAN, para a determinação de oxigênio dissolvido e

demanda bioquímica de oxigênio, substituindo o uso do método titulométrico indicado pelo *Standard Methods*, para o uso de uma sonda luminescente já descrita pela Agencia de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Este trabalho teve como objetivo realizar ensaios experimentais empregando sonda luminescente para a determinação de DBO_5 através da detecção de oxigênio dissolvido a fim de monitorar a qualidade de água bruta superficial no Departamento de Ensaios e Apoio Laboratorial da CORSAN.

2.2 Específicos

i) comprovar estatisticamente a semelhança entre os resultados obtidos pelo método proposto (sonda luminescente) frente ao método normalizado (Winkler modificado pela azida sódica);

ii) avaliar a interferência da matriz da amostra, o limite de detecção, a precisão, a exatidão e a robustez do método proposto;

iii) comparar os custos das análises pelos dois métodos;

iv) fazer uma estimativa de custos do uso da sonda luminescente.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A ÁGUA

A água é um fator de extrema necessidade para todas as formas de vida na terra. Sabe-se que a maior parte da superfície do nosso planeta é recoberta por água, e que 97,5% desta água é água salgada, inapropriada para consumo e para a maioria dos usos agrícolas. Apenas 2,5% da água do planeta é doce.^{1,2} De toda água do planeta, 1,72% são água doce congelada nas calotas polares e geleiras e 0,75% estão em forma de água doce subterrânea; restando apenas 0,02% de água contida em plantas e animais e só 0,01% de toda água do planeta está disponível em rios, lagos e represas.³

Como a água constitui um bem essencial para a sobrevivência de todos os organismos, deve ser mantida em condições adequadas. Para isso, o controle e fiscalização das fontes de poluição, impedindo o lançamento de efluentes que possam comprometer a qualidade das águas de rios, lagos e represas, e também do mar, torna-se indispensável.¹

As disponibilidades de água doce são limitadas pelo alto custo da sua obtenção nas formas menos convencionais, como é o caso da água de mar e das águas subterrâneas. Deve ser, portanto, da maior prioridade, a preservação, o controle e a utilização racional das águas doces superficiais.⁴

A poluição das águas é gerada por: (i) efluentes domésticos (poluentes orgânicos biodegradáveis, nutrientes e bactérias); (ii) efluentes industriais (poluentes orgânicos e inorgânicos, dependendo da atividade industrial) e (iii) carga difusa urbana e agrícola (poluentes advindos da drenagem destas áreas: fertilizantes, defensivos agrícolas, fezes de animais e material em suspensão).⁴

A partir da revisão da resolução CONAMA nº 20/86 surge a resolução nº 357 de 18 de março de 2005, onde, dentre uma série de reformulações, constam as condições e padrões de emissão e qualidade de água. Dentre outros fatores regulamentados, a concentração de O₂ em corpos aquáticos deve seguir os níveis mostrados na Tabela 1:

Tabela 1: Níveis aceitáveis de oxigênio dissolvido em águas doces, salobras e salinas em todo o Território Nacional estipulados pelo CONAMA, por meio da resolução nº 357 de 18 de março de 2005.⁵

		Água doce	Água salobra	Água salina
		(mg L ⁻¹ O ₂)		
Classe	I	6	6	5
	II	5	5	4
	III	4	4	3
	IV	2	-	-

Esse é um dos parâmetros mais importantes para exame da qualidade da água, pois os níveis de oxigênio dissolvidos têm papel determinante na capacidade de um corpo d'água natural manter a vida aquática. Uma adequada provisão de oxigênio dissolvido é essencial para a manutenção dos processos naturais de autodepuração em sistemas aquáticos e estações de tratamento de esgotos. Através de medição do teor de oxigênio dissolvido, podem ser avaliados os efeitos dos resíduos oxidáveis sobre as águas receptoras (qualquer rio, lago ou oceano em que a água servida tratada ou não tratada é descarregada.) e sobre a eficiência do tratamento dos esgotos, durante o processo de oxidação bioquímica.

Diante dessa realidade é importante entender os processos químicos que ocorrem nas águas naturais para consumo humano e como o uso do conhecimento químico pode ser empregado na avaliação da qualidade da água.

3.2 OXIGÊNIO DISSOLVIDO

O oxigênio molecular dissolvido (O_2) é o agente oxidante de maior importância encontrado em águas naturais. Em uma reação envolvendo transferência de elétrons, cada um dos átomos da molécula é reduzido do estado de oxidação zero até o estado de oxidação -2, formando H_2O ou OH^- .

As semi-reações de redução do O_2 em solução ácida e neutra são, respectivamente ⁶:



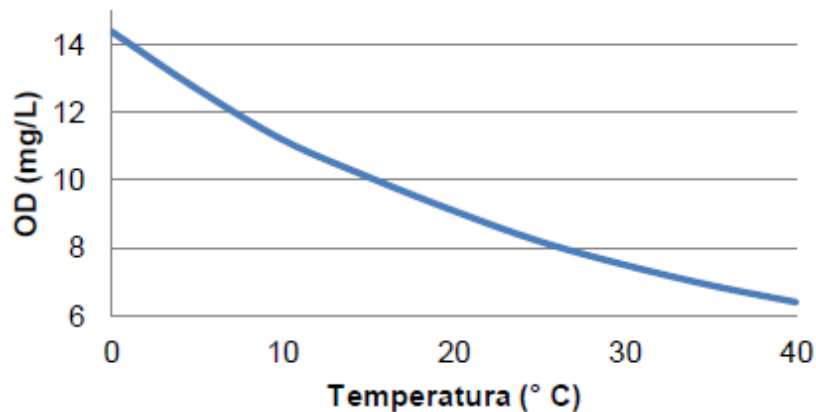
A concentração de oxigênio dissolvido (OD) em um corpo d'água qualquer é controlada por vários fatores, sendo um deles a solubilidade do oxigênio em água.

A solubilidade do O_2 na água, como para outras moléculas de gases apolares com interação intermolecular fraca com água, é pequena devido à característica polar da molécula de água (8,11 mg/L a 25 °C e 1 atm). A presença do O_2 na água se deve, em parte, à dissolução do ar atmosférico para a água.

O OD é necessário para a respiração de microorganismos aeróbicos, bem como outras formas aeróbicas de vida. A sobrevivência dos peixes, por exemplo, requer concentrações mínimas de OD entre a 10% e 60% de saturação, dependendo da espécie e outras características do sistema aquático.⁷

Um fator de elevada influência no valor de OD é a temperatura. A solubilidade dos gases em água sofre uma forte diminuição com o aumento da temperatura. Por exemplo, no caso do oxigênio à pressão atmosférica, verifica-se uma variação de 14,6 mg/L a 0°C para menos de metade a 40°C (6.4 mg/L). A Figura 1 ilustra esta dependência.

Figura 1 - Solubilidade do oxigênio em função da temperatura, à pressão atmosférica de 1 atm.



FONTE: http://tps.com.au/assets/userfiles/files/content/handbook/900Dv3_0.pdf.

Ainda outro fator que altera a solubilidade do oxigênio na água é a presença de íons, como acontece, por exemplo, em águas salinas.

A importância do OD não se restringe apenas à sobrevivência dos seres aquáticos. A presença de OD em águas residuárias (águas servidas) industriais ricas em material orgânico é desejável por prevenir a formação de substâncias com odores desagradáveis que comprometem os diversos usos da água como, por exemplo, fonte de água potável ou meio de recreação.

Apesar de desejável nos sistemas aquáticos naturais, a presença de altas concentrações de OD não é conveniente em águas que percorrem tubulações de ferro e aço, por favorecer a corrosão. Esse fato resulta do poder oxidante do O_2 (Eq. 1) e, por esse motivo, em águas tratadas é recomendado que os valores de OD fossem menores que $2,5 \text{ mg L}^{-1}$.

3.3 DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO

A matéria orgânica da água é necessária aos seres heterótrofos (seres vivos consumidores, incapazes de produzir seu próprio alimento), na sua nutrição, e aos autótrofos (seres vivos produtores, ou seja, possuem capacidade de produzir seu próprio alimento), como fonte de sais nutrientes e gás carbônico. Em grandes quantidades, no entanto, podem causar alguns problemas, como cor, odor, turbidez e consumo do oxigênio dissolvido pelos organismos decompositores. O consumo de oxigênio é um dos problemas mais sérios do aumento do teor de matéria orgânica, pois provoca desequilíbrios ecológicos, podendo causar a extinção dos organismos aeróbicos. Um dos indicadores utilizados de matéria orgânica na água é a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

A DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) é um dos parâmetros utilizados para indicar a presença de matéria orgânica na água. É conhecido que a matéria orgânica é responsável pelo principal problema de poluição das águas, que é a

redução na concentração de oxigênio dissolvido. Isto ocorre como consequência da atividade respiratória das bactérias para a estabilização da matéria orgânica. Dessa forma, a avaliação da presença de matéria orgânica na água pode ser feita pela medição do consumo de oxigênio. A DBO indica a demanda de oxigênio necessário para estabilizar a matéria orgânica contida na amostra de água. Esta demanda é referida convencionalmente a um período de cinco dias, já que a estabilização completa da matéria orgânica exige um tempo maior, e a uma temperatura de 20°C.⁸

Os maiores aumentos em termos de DBO, num corpo d'água, são provocados por despejos de origem predominantemente orgânica. A presença de um alto teor de matéria orgânica pode induzir ao completo esgotamento do oxigênio na água, provocando o desaparecimento de peixes e outras formas de vida aquática.⁹

Um elevado valor da DBO pode indicar um incremento da microflora presente e interferir no equilíbrio da vida aquática, além de produzir sabores e odores desagradáveis e, ainda, pode obstruir os filtros de areia utilizados nas estações de tratamento de água.⁹

Segundo a Resolução nº 357 do CONAMA para águas doces de classe 2 (águas utilizadas no presente trabalho) é permitido para padrões de DBO₅ a 20 °C até 5 mg/L O₂.⁵

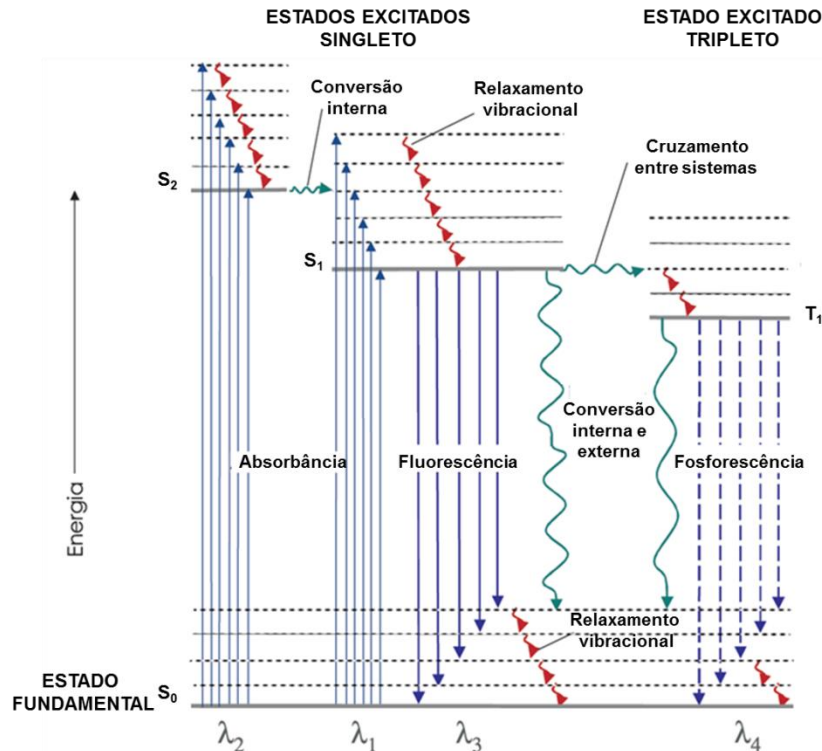
3.4 LUMINESCÊNCIA

A técnica de medição do OD utilizando a luminescência foi incorporada como método C da norma D888-05 do *Standard Test Methods for Dissolved Oxygen in Water* em janeiro de 2006, segundo a Sociedade Americana para Testes e Materiais (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 2007). Espera-se que esse método seja incorporado no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* nas próximas edições.

A luminescência é a emissão de luz ultravioleta, visível ou infravermelha, de uma espécie química a partir de um estado excitado resultante de um estímulo de luz, de uma reação química ou de radiação ionizante.

Quando uma molécula absorve a energia de um fóton, ela passa de um estado energético fundamental para um estado energético excitado, correspondente à ocupação de níveis energéticos mais elevados por um elétron de valência (Figura 2). O regresso da molécula ao seu estado fundamental pode ser acompanhado por emissão luminescente, mas também existem outras possibilidades de decaimento não radiativo (com diferentes probabilidades de ocorrência) tais como a conversão interna, cruzamento intersistemas e transferência de carga intermolecular¹⁰.

Figura 2 - Diagrama de Jablonski, mostrando os processos físicos que podem ocorrer após uma molécula absorver um fóton com energia da faixa ultravioleta ou visível. S_0 é o estado eletrônico fundamental, S_1 , e T_1 são os estados excitados singleto e tripleto de menor energia, respectivamente. S_2 é um segundo estado excitado singleto. As setas retas representam os processos envolvendo fótons, e as setas onduladas são as transições não-radioativas (que não emitem radiação).



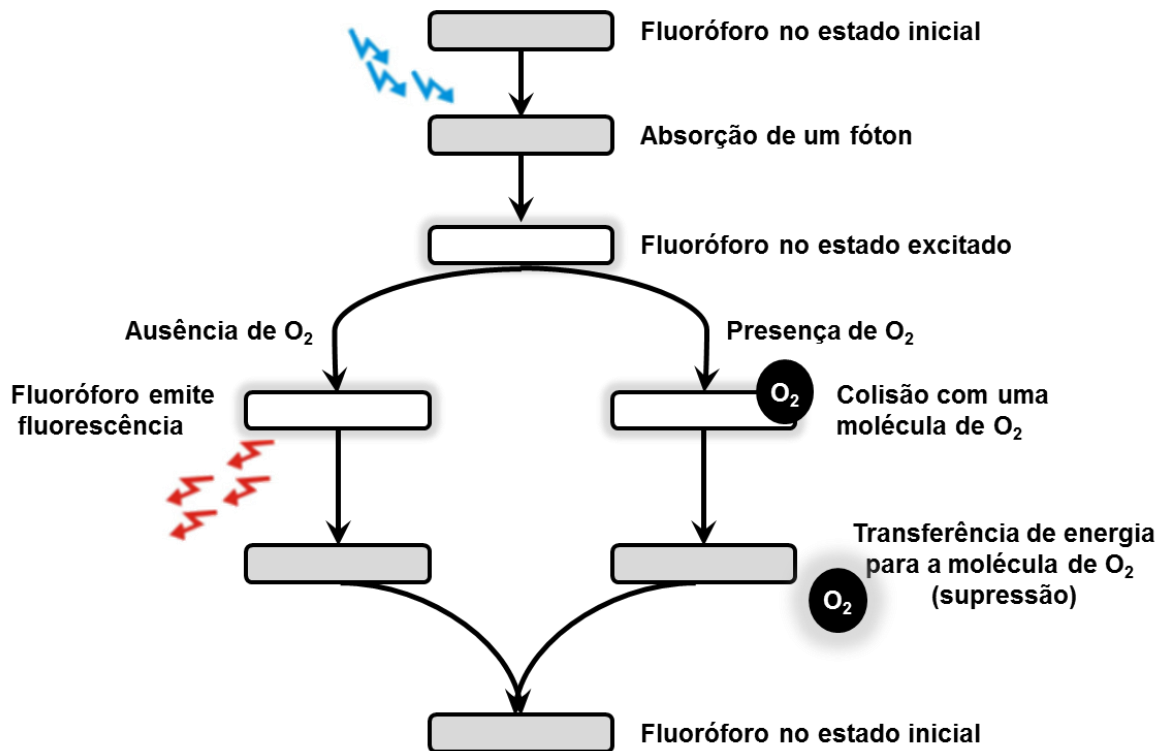
FONTE: SKOOG, D. A. et al. Fundamentos de química analítica. 8ª. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008. 1124 p.

Os avanços da eletrônica, dos dispositivos ópticos e das técnicas de processamento de sinal contribuíram com o desenvolvimento dos sensores de oxigênio baseados na luminescência. As vantagens destes sensores são basicamente: não haver nenhum consumo de oxigênio no processo; não exigir nenhum eletrodo de referência; serem insensíveis a taxas de fluxo ou velocidade da amostra; imunidade ao campo elétrico exterior e apresentarem precisão similar ao método de Winkler.

Quase todos os sensores ópticos de oxigênio baseiam-se na utilização de fluoróforos cuja intensidade e tempo de vida de fluorescência são dependentes da concentração de oxigênio no meio em análise. O decaimento da intensidade fluorescente de um fluoróforo devido à ação do oxigênio (supressão) tem sido amplamente estudado, desde que em 1939 Kautsky¹¹ descreveu este fenômeno, que está ilustrado na Figura 3.

Este é um processo fotofísico que não envolve qualquer reação química, ou seja, não há consumo do analito durante a análise (oxigênio não é consumido).

Figura 3 - Processo de supressão de um fluoróforo na presença de oxigênio



FONTE: Imagem adaptada, disponível no site da internet: <http://www.in-situ.com/>.

A escolha do fluoróforo desempenha um papel crucial no sucesso da aplicação. Eis alguns critérios que deverão ser considerados na escolha^{12,13}:

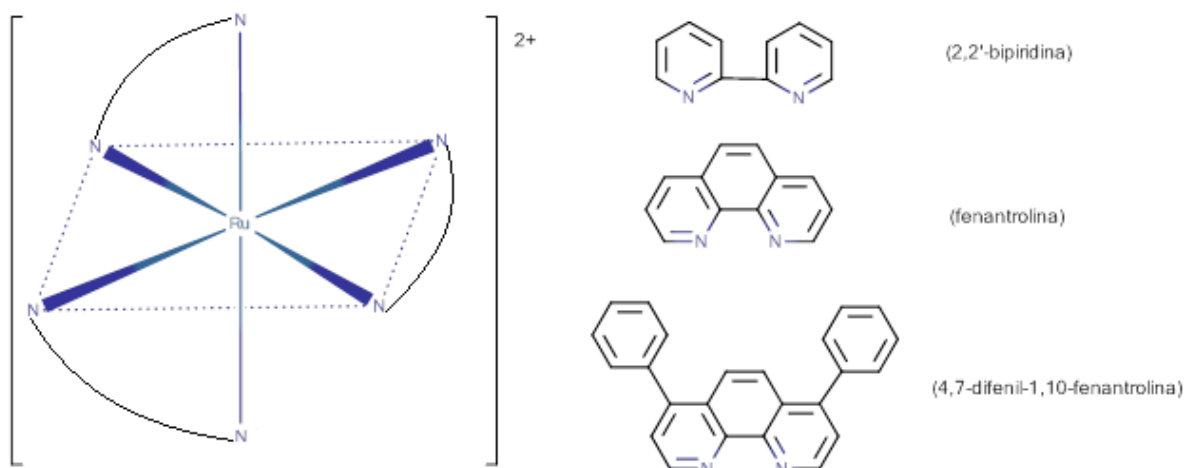
- o fluoróforo deve apresentar tempo de vida elevado para que consiga exibir supressão por colisão com as moléculas de oxigênio;
- o parâmetro de fluorescência medido deve ser suficientemente sensível a variações da concentração de oxigênio que se pretende medir;
- para garantir uma boa razão sinal-ruído, deve apresentar um coeficiente de excitação e eficiência quântica elevados
- alta seletividade ao analito.
- os fluoróforos com propriedades fotofísicas insensíveis à temperatura permitem esquemas de calibração mais simples;
- um desvio de Stokes elevado garante que haja uma boa discriminação entre o sinal de excitação e o de emissão, minimizando erros na quantificação da intensidade fluorescente, tempo de vida ou fase medida, dependendo da técnica de análise utilizada;
- boa solubilidade a matriz de suporte.

Os fluoróforos mais utilizados em esquemas ópticos de medição de oxigênio são os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), os complexos de metais de transição (Ru(II), Os(II), Ir (III), etc.) , as metaloporfirinas (Ex. Pt(II), Pd(II), Rh(II), etc.), e ainda fulereno (C60 e C70) ¹⁴.

Apesar de precursores como fluoróforos para medição de oxigênio e ainda serem usados os HPA vem sendo substituídos expressivamente por compostos organometálicos, visto que estes apresentam características mais vantajosas, tais como uma elevada intensidade fluorescente e tempos de vida longos o que os torna adequados para utilização em sensores de oxigênio.

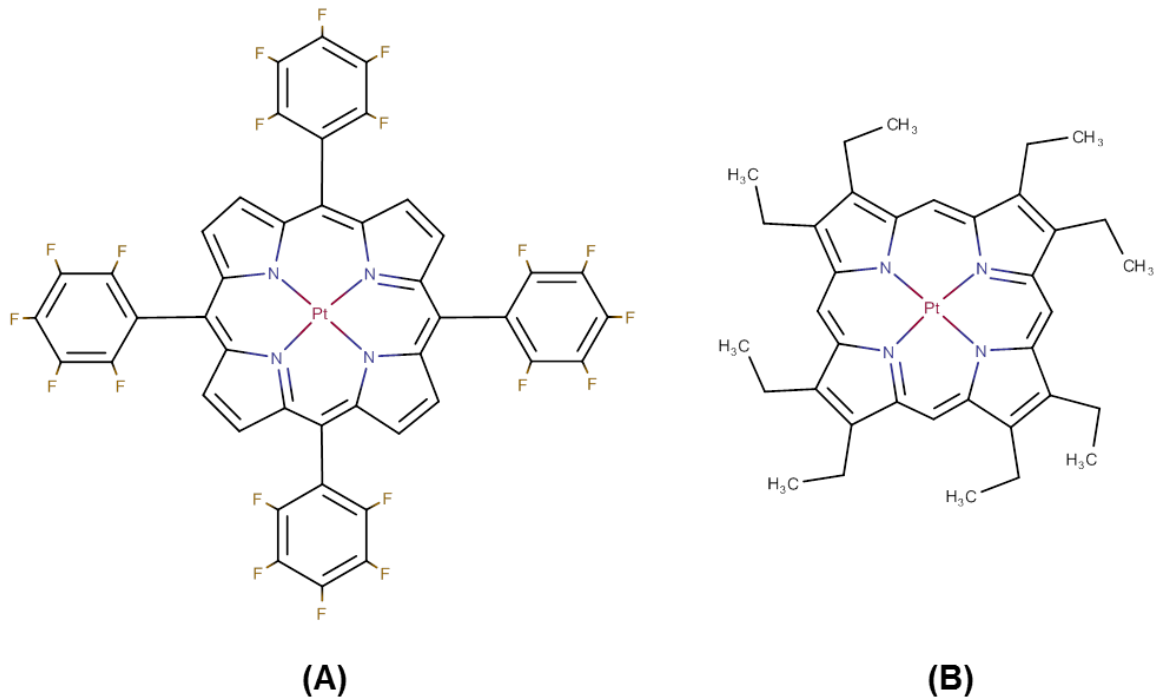
Os complexos de polipiridil ligados a rutênio, na forma $[Ru(L)_3]^{2+}$, em que L representa o ligando polipiridil, são os mais comuns em medição de oxigênio. Os grupos ligados mais utilizados são o 2,2'-bipiridil (bpy) e o 4,7-difenil-1,10-fenantrolina (dpp), podendo ainda formar complexos com ligandos mistos da forma $[Ru(bpy)_x(dpp)_y]^{2+}$ (em que $x+y=3$).¹⁵ Os complexos de polipiridil ligados a ósmio têm a particularidade de absorver radiação em comprimentos de onda mais elevados (vermelho) do que os complexos de rutênio possibilitando a utilização de fontes de radiação com elevada potência e de baixo custo, como são os díodo lasers. Estes complexos são considerados mais estáveis que os de rutênio, embora apresentem como desvantagem uma supressão mais baixa o que conduz a uma menor sensibilidade.

Figura 4 – Representação dos compostos organometálicos de Ru (II) mais comuns usados atualmente como fluoróforos para medição de oxigênio. ¹⁶



Entre as metaloporfirinas destacam-se as octaetilporfirinas de platina e paládio, PtOEP e PdOEP, respectivamente, que apresentam elevada fosforescência à temperatura ambiente com tempos de vida relativamente longos. Quando as metaloporfirinas referidas anteriormente são ligadas a um grupo cetona (PtOEPK e PdOEPK) apresentam uma estabilidade química e fotoquímica superior e um desvio dos espectros de emissão e excitação para comprimentos de onda mais elevados o que constitui uma vantagem.¹⁷

Figura 5 – Exemplos de estruturas de metaloporfirinas aplicadas como fluoróforos para medição de oxigênio usando platina (Pt) como metal.¹⁸ onde (A) 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina de platina e (B) octaetilporfirina de platina.



Quanto a matriz de suporte para os fluoróforos, esta deve apresentar algumas características específicas, assim como o próprio fluoróforo. Estas características são: servir de suporte para o fluoróforo sem alterar as propriedades fotofísicas favoráveis que este apresenta; proteger o fluoróforo de lixiviamento, ou seja, da perda de material por arrastamento para fora da matriz; exibir elevada permeabilidade ao oxigênio e apresentar propriedades ópticas e mecânicas adequadas.¹⁹

Apesar da maioria dos trabalhos publicados sobre sensores de oxigênio serem baseados na supressão da fluorescência, esta técnica apresenta algumas características desfavoráveis para sua mensuração. As principais são a susceptibilidade à fonte de luz externa, movimento do sensor, alterações no caminho ótico, degradação ou lixiviação do fluoróforo. Estes efeitos podem ser suprimidos se usarmos um sensor no domínio de tempo ao invés da intensidade.²⁰

A medida de tempo de vida da fluorescência apresenta vantagens sobre a medida através da intensidade, isto porque o tempo de decaimento não é influenciado pela concentração do fluoróforo, sua deterioração,²¹ variação na fonte de excitação ou espessura do filme. Esta medida é dita intensiva, ou seja, é independente do tamanho da amostra.

Há duas classes de arranjo de sensores óticos que se diferenciam pelo uso ou não da fibra ótica. O uso da mesma apresenta alguns problemas. A luz de

excitação deve ser acionada com a menor largura de pulso possível. Essa luz deve estar compreendida na região UV do espectro e a pulsação ou sua modulação se faz necessária para determinar o tempo de vida. A baixa intensidade luminosa de emissão do fluoróforo é outro problema encontrado, além da redução da eficiência externa quando acoplado a fibra ótica. No presente trabalho o sensor utilizado não apresenta fibra ótica.

Uma grande variedade de interações moleculares pode resultar no fenômeno da supressão. Para a determinação de oxigênio dissolvido o fenômeno envolvido para a supressão da fluorescência é dito colisional ou dinâmico. Na supressão colisional ou dinâmica, a diminuição da intensidade da fluorescência é descrita pela equação de Stern-Volmer ²²:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_D [Q] \quad (3)$$

Nesta expressão I_0 e I são as intensidades de fluorescência na ausência e presença do supressor, respectivamente, k_q é a constante bimolecular de supressão; τ_0 é o tempo de vida do fluoróforo na ausência do supressor, K_D é a constante de supressão de Stern-Volmer e $[Q]$ é a concentração do supressor. A constante de supressão bimolecular, k_q , nos informa a eficiência da supressão e a acessibilidade dos fluoróforos aos supressores. As medidas de supressão são geralmente representadas em um gráfico de I_0/I versus $[Q]$. Deste modo, espera-se que I_0/I seja linearmente dependente da concentração do supressor.

Outra importante característica da supressão coloidal é a equivalência entre diminuição da intensidade de fluorescência e do tempo de vida do fluoróforo, ilustrada pelas equações: ^{16, 23}

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + k_q \tau_0 [Q] \quad (4)$$

De modo que,

$$\frac{I_0}{I} = \frac{\tau_0}{\tau} \quad (5)$$

A diminuição de tempo de vida ocorre devido à diminuição da população do estado excitado devido ao decaimento por colisão.

3.5 DETERMINAÇÃO DE OD E DBO₅ EM ÁGUAS BRUTAS SUPERFICIAIS

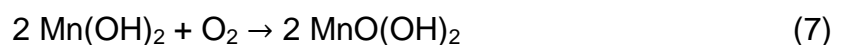
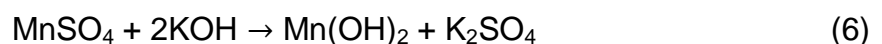
Segundo o *Standard Methods* ²⁴ há seis métodos para a determinação de oxigênio dissolvido em água. Atualmente o oxigênio dissolvido é determinado pelo método empregando um sensor de oxigênio dissolvido polarográfico ou galvânico,

também conhecido como eletrodo de membrana que representa o método padrão para a determinação deste parâmetro. Além do método eletrodo de membrana, outros métodos de medida de OD são conhecidos: manométrico, métodos químicos, eletroquímicos e ópticos. O método manométrico é baseado numa medição de pressão ou volume realizado em uma câmara apropriada. Apresenta-se como um método adequado em algumas situações, porém exige aparelhagem complexa e cara. Entre os métodos químicos, o mais conhecido e utilizado é o desenvolvido por Winkler. Esse método foi muito estudado e modificado com o passar dos anos. Hoje em dia, ele apresenta quatro modificações: método Winkler modificado pela azida sódica, pelo permanganato, pela floculação com alumínio e pela floculação com ácido sulfâmico-sulfato de cobre. O método da azida sódica, no entanto, é o mais utilizado em amostras de águas e é o método empregado atualmente no laboratório do Departamento de Ensaio e Apoio Laboratorial da CORSAN.

3.5.1 Winkler modificado pela azida sódica

Essa metodologia é a mais empregada em laboratórios para a determinação de OD em águas e compreende diversas fases. A primeira é a fixação do oxigênio dissolvido da amostra, que deve ser feita imediatamente após a coleta, para evitar alterações na concentração. As amostras de água de superfície devem ser retiradas através de imersão cautelosa do frasco (utilizam-se frascos de vidro de aproximadamente 300 mL) para evitar borbulhamento. Após a coleta, são adicionadas à amostra as soluções de sulfato manganoso, $MnSO_4$, e a solução alcali-iodeto-azida, que contém hidróxido de potássio, KOH, iodeto de potássio, KI, e a azida sódica, NaN_3 .²⁵

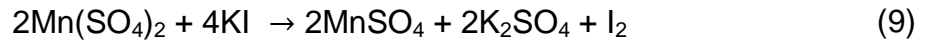
A fixação do oxigênio dissolvido ocorre através da formação de óxido de manganês (precipitado), segundo as reações:



A segunda fase é a liberação de iodo, que ocorre após a adição de ácido sulfúrico concentrado, que provoca a resolubilização do manganês e o desenvolvimento de uma coloração amarelada, cuja intensidade é proporcional à concentração de oxigênio dissolvido presente inicialmente na amostra. Esta reação pode ser expressa por:

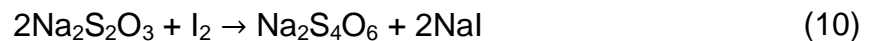


Existe uma reação imediata entre o $Mn(SO_4)_2$ e o iodeto de potássio adicionado previamente, liberando iodo e resultando em água com coloração típica de iodo (marrom):

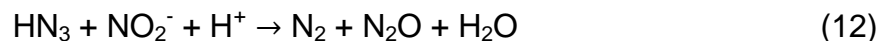


Nota-se que o íon iodeto é oxidado a iodo molecular, proporcionalmente à quantidade de óxido de manganês, que, por sua vez, é proporcional à concentração de oxigênio dissolvido na amostra, conforme mostrado na reação de fixação.

A fase final da análise é a titulação do iodo liberado com tiosulfato de sódio (iodometria). Esta reação pode ser representada por:



A azida sódica é utilizada para remover a interferência de nitritos, que pode ser representada por:

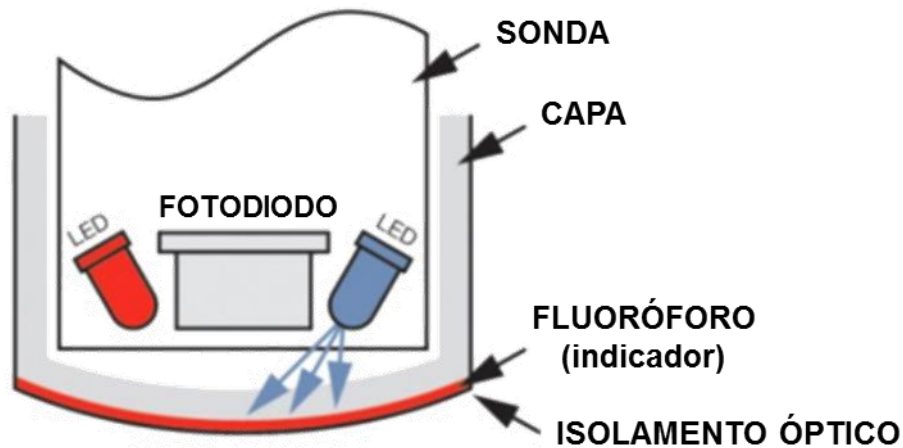


O indicador desta reação é uma solução de amido, com viragem de azul para incolor. Os resultados são expressos em termos de mgO_2/L .²⁵

3.5.2 Tempo de vida da fluorescência

Uma das técnicas mais comuns utilizadas para a determinação do tempo de vida da fluorescência é o método de modulação de fase. Na modulação de fase, o elemento é excitado por um feixe de luz preferencialmente modulado senoidalmente, em uma frequência $\omega = 2\pi f$, onde f é a frequência. A emissão fluorescente do fluoróforo é forçada a responder a este sinal de excitação, e desta forma a amplitude do sinal de excitação é modulada na mesma frequência. Devido ao tempo de vida do fluoróforo no estado excitado, a emissão fica deslocada em fase por um ângulo θ em sinal ao sinal de excitação. O tempo de vida pode ser calculado através da medição do deslocamento de fase ($\tan\theta = \omega\tau$).^{26,27}

Figura 6 – Diagrama do sensor luminescente de oxigênio dissolvido HACH, ilustrando sua constituição e a presença do par de LEDs: vermelho (esquerdo) e azul (direito).²⁸



O sensor consiste de um par de LEDs (azul e vermelho) e um fotodetector de silício. A capa sensora contém um fluoróforo (platina), o qual é excitado pelo LED azul. O fluoróforo é protegido pelo ambiente externo com uma camada de isolante de poliestireno, evitando a interferência de fontes externas de luz quando a capa sensora esta acoplada à sonda. O circuito de medição para este sensor está baseado no tempo de vida da luminescência, determinado através de uma diferença de fase entre a modulação senoidal do LED azul e a luminescência detectada pelo fotodiodo.²⁸

Os LEDs azul e vermelho são chaveados alternadamente entre ciclos de medida, permitindo que o LED vermelho forneça uma referência interna para o caminho óptico e sinal eletrônico. Esta referencia fornece a estabilidade da medida corrigindo para mudanças na temperatura ou por tempo induzido na medida de fase.

3.6 VALIDAÇÃO

A necessidade de se mostrar a qualidade de um ensaio químico está sendo cada vez mais exigida e recomendada, isto se deve pelo fato agregar ao ensaio três principais fatores: comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade. Resultados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e gerar grandes prejuízos, tanto ao laboratório, quanto ao meio ambiente.

Segundo a **ISO/IEC 17025** validação é o processo de definir uma exigência analítica e confirmar que o método sob investigação tem capacidade de desempenho consistente com o que a aplicação requer. Ou seja, deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (ANVISA). A confiabilidade de um laboratório está relacionada com a escolha de seus métodos

analíticos. Métodos reconhecidos, como os descritos nas normas EPA e *Standard Methods*, são aceitos internacionalmente.

A validação envolve estrutura adequada (padrões rastreáveis, controle de temperatura, higiene, segurança, formação dos analistas), não existindo um modelo a ser seguido. Pela própria definição, conforme o Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM)²⁹, a validação é uma "verificação na qual os requisitos especificados são adequados para um uso pretendido", devendo ficar a critério do laboratório os requisitos a serem avaliados.

O INMETRO disponibiliza um documento orientador sobre a validação de métodos analíticos, indicando os parâmetros que devem ser avaliados, conforme o tipo de ensaio.³⁰ Para análises qualitativas, são recomendados: seletividade, robustez e limite de detecção. Albano e Raya-Rodrigues³¹ apresentam, em recente obra, um guia abordando conceitos e aplicações práticas dos principais parâmetros requeridos como evidência da validação de ensaios. Além dos parâmetros sugeridos pelo INMETRO, optou-se por realizar os parâmetros de exatidão e precisão para a validação do método. A seguir são discutidos, individualmente, os parâmetros de validação avaliados neste trabalho.

3.6.1 Parâmetros de desempenho

3.6.1.1 SELETIVIDADE

A matriz da amostra pode conter componentes que interferem no desempenho da medição. Os interferentes podem aumentar ou reduzir o sinal, e a magnitude do efeito também pode depender da concentração (INMETRO, 2010). Assim, a seletividade de um método analítico pode ser definida como a capacidade do mesmo ser indiferente à presença de interferentes na amostra, que possam vir a mascarar a determinação do analito em estudo (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2015).³¹

Uma das maneiras de avaliar a seletividade é através da construção de curva analítica utilizando a matriz de trabalho como solvente. Este método é utilizado quando não é possível obter a matriz isenta da substância de interesse. Neste caso é feita uma curva analítica sem a presença da matriz.

3.6.1.2 SENSIBILIDADE

A sensibilidade de um método é definida pelos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). O LD é a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada pela técnica instrumental, enquanto o LQ é a mais baixa concentração que pode ser quantificada dentro dos limites de precisão e exatidão do método durante as operações de rotina do laboratório, em condições usuais.³²

Há três formas de estimar os limites de detecção e de quantificação, e a escolha de uma delas deve levar em consideração a técnica analítica utilizada e o

grau de confiabilidade estatística necessária: método visual, método da relação sinal-ruído, e método baseado em parâmetros da curva analítica. No método visual, realiza-se a análise de amostras contendo baixas concentrações conhecidas da espécie de interesse. Considera-se o LD como sendo a menor concentração que pode ser detectada e que seja distinta do sinal analítico do ruído. O método da relação sinal-ruído pode ser aplicado em procedimentos analíticos que apresentam ruído da linha de base e é estimado a partir da comparação do sinal analítico obtido para uma amostra contendo baixas concentrações da espécie de interesse com o sinal de uma amostra do branco. Em geral, considera-se aceitável uma relação sinal-ruído de 3:1 ou 2:1. Já o Método baseado em parâmetros da curva analítica apresenta maior confiabilidade estatística, pois leva em consideração o intervalo de confiança da regressão. O LD neste caso é definido como a concentração mínima de uma substância que pode ser medida e informada com 99% ou 95% de confiança.³² Para o presente trabalho foi utilizado o método baseado em parâmetros de curva analítica.

3.6.1.3 PRECISÃO

A precisão reflete a concordância entre vários valores experimentais obtidos. Quanto menos for a variabilidade das medidas, maior será a precisão.³¹ Esta medida reflete a tendência de maior ou menor afastamento (erro) entre os resultados dos ensaios. Este erro pode ser expresso pelo desvio padrão (s) da série de valores de um experimento ou pelo respectivo Coeficiente de Variação (CV), que é o desvio padrão expresso como percentagem da média;

$$CV(\%) = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{média}} \times 100 \quad (13)$$

A precisão pode ser estimada em dois níveis: repetibilidade e reprodutibilidade. O termo repetibilidade define a precisão dos resultados obtidos dentro do próprio laboratório, por um mesmo analista e com a mesma instrumentação. Enquanto que o termo reprodutibilidade define a precisão dos resultados obtidos para uma determinada análise realizada por laboratórios diferentes, mas seguindo a mesma metodologia.

3.6.1.4 EXATIDÃO

Exatidão é o grau de concordância entre o resultado de uma medição e um valor verdadeiro mensurado.³¹

A exatidão pode ser avaliada pelos seguintes testes: comparação entre método normalizado e não normalizado e Z-score interlaboratorial.

No teste de comparação entre método normalizado e não normalizado os resultados são obtidos aos pares, onde as análises de diferentes amostras podem ser feitas em momentos diferentes, mas através dos dois métodos testados simultaneamente. O Z-score interlaboratorial é obtido através da participação em programas de ensaios de proficiência organizados por órgãos voltados a qualidade laboratorial.

3.6.1.5 ROBUSTEZ

A robustez de um método é a sua capacidade de resistir a pequenas variações dos parâmetros analíticos sem alterar significativamente sua exatidão e precisão, portanto, é uma medida da quantidade de variabilidade que o método pode suportar, sem perder a confiabilidade, e sua estimativa depende do tipo de metodologia analítica utilizada.³¹

A robustez de um método pode ser estimada variando-se os parâmetros analíticos e comparando a precisão obtida em cada determinação.

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais e reagentes

Para a realização da parte experimental deste trabalho, todos os materiais (frascos contendo as amostras de água bruta, pipetas, balões volumétricos e demais vidrarias) foram devidamente lavados. Os frascos passaram por uma lavagem ácida de 24h e então enxaguados com água corrente e água deionizada.

A solução padrão de DBO_5 foi preparadas a partir de uma solução inicial (P_i) de 0,300 g/L de ácido glutâmico : glucose (1:1 m/m). A água de diluição, usada na análise de alguns parâmetros de validação é conservada em incubadora a 20 °C até a hora do seu uso.

4.2 Equipamento

A determinação de oxigênio dissolvido durante os ensaios foi realizada utilizando-se uma sonda luminescente de medição direta HQDBOD01 (HACH). Esta sonda é conectada a um leitor multiparâmetro HQ40d (HACH).

Figura 7 – Sonda luminescente HQDBOD01 (HACH) conectada ao leitor multiparâmetro HQ40d (HACH).



FONTE: Imagem disponível no site da internet: <http://www.hach.com/hq40d-portable-meter-kit-with-lbod101-luminescent-dissolved-oxygen-ldo-probe-for-bod-measurement/product?id=7640502954>.

Para a determinação de oxigênio dissolvido usando sonda luminescente é necessário que previamente se realize a calibração da sonda em dois pontos (0 e 100%) para tanto se conecta a mesma ao medidor multiparâmetro. A ponta da sonda deve ser lavada com água deionizada e então seca.

Para a calibração em 0%, um frasco de Winkler é completado com água deionizada, se adiciona 300 mg de sulfito de sódio, tampa-se e agita-se pra que haja total dissolução. Antes da leitura é necessário aguardar 30 minutos. Decorrido esse período o frasco é aberto e se conecta a sonda ao bocal do frasco, a agitação deve ser acionada. No medidor multiparâmetro seleciona o comando CALIBRAÇÃO e LER, quando a medição estiver estável o valor calibrado irá aparecer na tela.

Figura 8 – Frasco de Winkler de 300 mL para determinação de DBO_5 .



FONTE: Imagem disponível no site da internet: <http://www.vidrafoc.com/vidrafoc/es/Categoria/-230-242-/frascos.aspx?PageIndex=3>.

Para a calibração em 100% preencher $\frac{3}{4}$ do frasco Winkler com água deionizada, tampar e agitar vigorosamente por cerca de um minuto para saturar o ar com água. Após, acoplar a sonda no bocal do frasco, nesta etapa não é necessário agitação. A leitura é realizada seguindo os mesmos passos da calibração em 0%. Entre uma leitura e outra é necessário que a sonda seja lavada e seca.

Realizada a calibração da sonda é possível seguir com a leitura de oxigênio dissolvido nas amostras. Esta leitura é feita de modo direto, acoplado-se a sonda ao bocal do frasco completamente cheio, sob agitação constante. Posteriormente, a amostra é incubada a 20 °C por cinco dias para que se realize uma nova leitura, da qual será calculado o valor de DBO_5 .

4.3 Validação

4.3.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2015). Preparam-se dois grupos, nos quais foram utilizados dois tipos de solvente (água bruta superficial e água estéril). Cada grupo contendo 5 (cinco) amostras, onde se adicionou 10 mL de solução do padrão de DBO_5 em diferentes concentrações. Os

pontos da curva foram preparados diluindo-se diferentes volume da solução P_i (0,5; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mL) em 500 mL de água estéril. Além do padrão, foram adicionados 50 mL do solvente em cada ponto da curva. O frasco de Winkler foi então preenchido com água de diluição até completar todo seu volume (aproximadamente 300 mL).

Analisou-se 3 (três) vias de cada ponto, além de uma via contendo apenas água de diluição para o controle da análise. Após o registro dos resultados, as amostras são incubadas por cinco dias a 20 ± 1 °C. Passado o período de incubação, realiza-se uma nova leitura das três vias de cada ponto, além do frasco controle contendo apenas de água de diluição.

De posse de todos os resultados é possível calcular o valor da DBO_5 , que são transformados em logaritmos de base 10, de todas as vias. A partir dos resultados, plota-se no mesmo gráfico de “*seletividade*” as duas curvas. Caso as mesmas apresentem resultados muito próximos e sejam paralelas, pode-se dizer que não há interferência da matriz na determinação da substância de interesse.

4.3.2 Sensibilidade

O cálculo de LDM foi realizado conforme metodologia interna do laboratório (PGQ 013 – Revisão 05) através do ensaio de amostras preparadas com material branco sem analito. Analisou-se 7 (sete) alíquotas de 300 mL em período de, no mínimo 3 (três) dias para garantir que a determinação do LDM seja mais representativa do que se fosse obtida através de medições realizadas sequencialmente.

4.3.3 Precisão (repetibilidade e reprodutibilidade)

Para a avaliação de repetibilidade e reprodutibilidade considerou-se o desempenho do DEAL em programas de proficiência realizados junto a Rede Metrológica. Analisou-se os valores obtidos em 5 (cinco) diferentes rodadas ocorridas durante os anos de 2015 e 2016.

A repetibilidade se deu entre o resultado das 3 (três) vias analisadas para o ensaio em cada rodada. A reprodutibilidade foi avaliada segundo a média das vias frente aos demais laboratórios envolvidos no programa. O critério de aceitação em ambas as avaliações foi que o resultado estivesse abaixo de 2 (dois), sendo, dessa foram, considerado satisfatório.

4.3.4 Exatidão

4.3.4.1 Método normalizado x método não normalizado

A exatidão do método a ser validado (sonda de luminescência), foi determinada pela comparação com o método Winkler modificado pela azida sódica, já normalizado. Foram analisadas 10 amostras distintas de água bruta pelos dois

métodos. Analisaram-se os resultados de métodos aos pares, onde as análises das 10 amostras foram feitas em momentos diferentes, mas através dos tipos de métodos testados simultaneamente.

Estipulam-se as hipóteses do Teste t: hipótese nula (H_0) supôs-se a igualdade dos métodos e a hipótese alternativa (H_1) supôs-se a diferença entre os métodos. A partir dos resultados é possível calcular o valor de t ($t_{calculado}$):

$$t_{calculado} = \frac{\bar{d}}{E_{med}} \quad (14)$$

onde \bar{d} é a média das diferenças e E_{med} é o erro da média dos desvios. Comparando $t_{calculado}$ (em módulo) com $t_{tabelado}$, caso o primeiro seja menos que o segundo conclui-se que os métodos não possuem diferenças significativas.

4.3.4.2 Estudo de Z-score interlaboratorial

Avaliar as participações em programas de proficiência de ensaio, onde será comparado o resultado do DEAL frente à média e o desvio padrão robustos obtidos no programam.

Caso o desempenho para Z-score tenha sido menos ou igual ao limite estabelecido pelo provedor do programa de proficiência a participação é considerada satisfatória para o analito.

4.3.5 Robustez

Para a verificação da robustez do método variou-se a temperatura, o equipamento de análise (sonda) e os dias de incubação. Separou-se uma amostra homogênea de água bruta, a mesma foi coletada em dois conjuntos de 6 vias. Ambos os conjuntos foram medidos por duas sondas e seus valores de OD foram registrados.

Um dos conjuntos foi submetido à incubação a temperatura de 25° C por 5 dias. O outro conjunto foi submetido à incubação a temperatura de 20° C por 5, 6 e 7 dias. Decorrido o período de incubação as amostras foram novamente lidas e os valores de OD foram registrados. Com os valores de OD foi possível calcular a DBO.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os parâmetros de seletividade, exatidão e robustez fez-se uso dos valores de DBO_5 , visto que se tratava de parâmetros que exigiam o uso de padrão ou a avaliação de variações realizadas durante o ensaio, impossíveis de serem determinadas apenas com a análise de OD.

5.1 Seletividade

Para o estudo da seletividade deve-se analisar se a curvas, com os diferentes solventes (água bruta superficial e água estéril), apresentam linearidade, estão próximas e se o valor do coeficiente de determinação (R^2) é superior a 0,9.³²

As Tabelas 2 e 3 apresentam os valores calculados de DBO_5 feitos a partir das leituras das amostras na hora e após 5 dias. O valor obtido para a água de diluição na hora e após 5 dias foi de $8,85 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ e $8,83 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, respectivamente, sendo a variação igual a 0,02 (menor que 2), validando o ensaio. Os resultados foram transformados em logaritmo de base 10 (\log_{10}) como recomendado pelo *Standard Methods* por se tratar de uma análise microbiológica.

Tabela 2 – Valores calculados de DBO_5 do analito em água estéril.

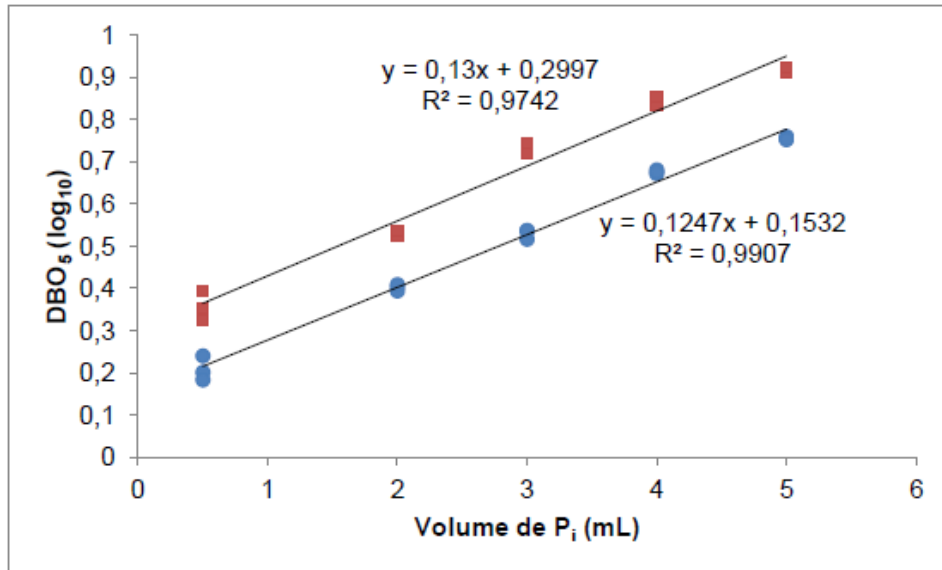
REPLICATA	DBO_5 (\log_{10})				
	0,5 mL	2,0 mL	3,0 mL	4,0 mL	5,0 mL
1	0,24	0,40	0,54	0,68	0,76
2	0,20	0,39	0,52	0,67	0,76
3	0,18	0,41	0,54	0,68	0,75

Tabela 3 - Valores calculados de DBO_5 do analito em matriz.

REPLICATA	DBO_5 (\log_{10})				
	0,5 mL	2,0 mL	3,0 mL	4,0 mL	5,0 mL
1	0,39	0,53	0,74	0,84	0,91
2	0,33	0,53	0,74	0,84	0,92
3	0,35	0,54	0,72	0,85	0,91

A partir dos resultados obtidos nas Tabelas 2 e 3 foi possível a construção da curva analítica considerando o efeito da matriz e sem o efeito da mesma. Consideraram-se, para a construção dos gráficos da Figura 9, os pontos (concentração de padrão adicionado) no eixo x e os valores de DBO_5 calculados no eixo y.

Figura 9 – Gráfico Seletividade comparando o efeito da matriz de água bruta superficial frente à água estéril.



No gráfico da Figura 9 a reta expressada pelos pontos vermelhos refere-se aos valores calculados de DBO₅ do analito em matriz, enquanto que a reta com os pontos azuis refere-se aos valores calculados de DBO₅ do analito em água estéril. Na Figura 9 é possível observar que as retas estão paralelas e que apresentam valores de R² superior a 0,9. Dessa forma considera-se que o método é seletivo e que o único efeito da matriz é a interferência natural causada pelo nível básico do analito.

5.2 Sensibilidade

Os valores obtidos no estudo do limite de detecção do método (LDM) encontram-se na Tabela 4. O mesmo foi calculado de acordo com ALBANO E RAYA-RODRIGUES (2015), através da equação 15:

$$LDM = X + 3,143 s \quad (15)$$

onde X é a média dos valores dos brancos da amostra, 3,143 é a abscissa da distribuição de *Student* para 99% de confiança e 6 graus de liberdade (7 amostra) e s é o desvio padrão dos brancos da amostra.

Tabela 4 – Valores calculados de DBO₅ (mg/L O₂) para o ensaio de sensibilidade.

Replicata	Valores calculados DBO ₅ (mg/L O ₂)
1	0,12
2	0,10
3	0,11
4	0,20
5	0,19
6	0,08
7	0,08
Média	0,12
Desvio-padrão	0,05

A partir da média e do desvio-padrão, foi possível determinar o valor de 0,28 mg/L O₂ como LDM.

5.3 Precisão

Para o teste de repetibilidade e reprodutibilidade, foi analisado as participações nas rodadas do Programa de Ensaio de Proficiência em Análises Ambientais (PEPAA) e do Programa de Ensaio de Proficiência em Amostragem (PEPAm) promovido pela Rede Metrológica do Rio Grande do Sul nos anos de 2015 e 2016, onde o parâmetro de DBO₅ foi avaliado em matriz sintética e amostras de rede. As Tabelas 5 e 6 apresentam os resultados obtidos em cada um dos programas para ambos os parâmetros.

Tabela 5 – Valores obtidos para estudo de repetibilidade e reprodutibilidade durante o Programa de Ensaio de Proficiência em Análises Ambientais nos anos de 2015 e 2016.

Replicata	Média das 3 vias	Valor designado como referência	Nº de laboratórios participantes no ensaio	Z-score Repetibilidade	Z-score Reprodutibilidade
Segunda (2015)	346,0	295,0	62	1,167	0,655
Quarta (2015)	172,0	210	54	1,060	-0,660
Segunda (2016)	160,3	176,9	55	-0,697	-0,262

Tabela 6 - Valores obtidos para estudo de repetibilidade e reprodutibilidade durante o Programa de Ensaios de Proficiência em Amostragem nos anos de 2015 e 2016.

Replicata	Média das 3 vias	Valor designado como referência	Nº de laboratórios participantes no ensaio	Z-score Repetibilidade	Z-score Reprodutibilidade
Segunda (2015)	6,10	5,73	17	-1,384	0,313
Primeira (2016)	7,14	6,95	23	-0,58	0,150

Os valores de repetibilidade e reprodutibilidade apresentaram resultados satisfatórios, pois estiveram abaixo de 3, com relação a Repe e abaixo de 2, com relação a Repro.

5.4 Exatidão

5.4.1 Método normalizado vs Método não normalizado

Os resultados obtidos para a comparação da validação da exatidão entre os métodos - normalizado (Winkler modificado pela azida sódica), e o método a ser validado - encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados obtidos para o estudo da comparação entre o método normalizado e não normalizado.

Amostras	Resultados de DBO ₅ (mg/L O ₂)		Diferença (A – B) = d	d ²
	Método normalizado (A)	Método não normalizado (B)		
1	0,80	0,75	0,05	0,00
2	2,00	1,75	0,25	0,06
3	1,00	1,09	-0,09	0,01
4	0,80	0,90	-0,10	0,01
5	0,40	0,22	0,18	0,03
6	0,30	0,53	-0,23	0,05
7	0,60	0,72	-0,12	0,01
8	2,50	2,36	0,14	0,02
9	2,00	1,82	0,18	0,03
10	5,00	5,01	-0,01	0,00
SOMA	15,2	15,4	0,25	0,23

O valor de \bar{d} calculado foi de 0,03, enquanto que o valor calculado de E_{med} foi de 0,05. O valor de t_{calc} deve ser comparado com o valor de t_{tab} (retirado da tabela

t de Student, com 95% de confiança, ou seja, com um alpha de 0,05). Neste caso, para verificar o valor de t_{tab} , deve-se verificar os graus de liberdade e o grau de confiança (alpha = 0,05 para 95% de confiança e $gl = n-1$).

O valor de t_{calc} é de 0,60. O valor de t_{tab} (para alpha de 0,05 e $gl = 9$) é de 2,26. Como t_{calc} é menor que o t_{tab} , conclui-se que os métodos não possuem diferenças significativas (Se aceita H_0).

5.4.2 Estudo de Z-score Interlaboratorial

Para o teste de Z-score interlaboratorial, foi analisado as participações nas rodadas do Programa de Ensaio de Proficiência em Análises Ambientais (PEPAA) e em Amostragem (PEPAm) promovido pela Rede Metrológica do Rio Grande do Sul no ano de 2015 e 2016, onde o parâmetro de DBO_5 foi avaliado em matriz sintética e amostras de rede. A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos de Z-score pelo laboratório.

Tabela 8 – Resultados obtidos para o estudo de Z-score

Rodada (ano)	Z-score
Segunda (2015) – (PEPAA)	0,655
Quarta (2015) – (PEPAA)	-0,660
Segunda (2016) – (PEPAA)	-0,262
Segunda (2015) – (PEPAm)	0,313
Primeira (2016) – (PEPAm)	0,150

Como as participações nos programas de ensaio de proficiência apresentaram resultados satisfatórios ($Z\text{-score} \leq 2$) a metodologia cumpre mais um critério para ser considerada exata.

5.5 Robustez

Para se analisar a robustez do método se fez necessário comparar o resultado do desvio da robustez (S_r) com o desvio da reprodutibilidade ($\overline{\sigma_m}$), obtido anteriormente no item 5.2. Assim, o critério de aceitação para o estudo de robustez é $S_r < \overline{\sigma_m}$. A robustez foi calculada de acordo com Albano e Raya-Rodriguez.

As Tabelas 9 e 10 apresentam os resultados de DBO transformados em logaritmo de base 10 para os conjuntos analisados.

Tabela 9 – Valores de DBO transformados em logaritmo de base 10 para o conjunto binário avaliando Sonda e Temperatura.

Replicatas	Conjunto “20 °C + sonda A”	Conjunto “20 °C + sonda B”	Conjunto “25 °C + sonda A”	Conjunto “25 °C + sonda B”
1	-0,37	-0,24	-0,06	0,03
2	-0,59	-0,43	-0,04	0,03
3	-0,49	-0,29	-0,01	0,07
4	-0,64	-0,43	-0,15	-0,05
5	-0,54	-0,39	-0,12	-0,03
6	-0,44	-0,28	-0,12	-0,03
Média	-0,51	-0,35	-0,08	0,00

Tabela 10 – Valores de DBO transformados em logaritmo de base 10 para o conjunto binário avaliando Sonda e Dia.

Replicatas	Conjunto “5 dias + sonda A”	Conjunto “5 dias + sonda B”	Conjunto “6 dias + sonda A”	Conjunto “6 dias + sonda B”
1	-0,37	-0,24	-0,33	-0,17
2	-0,59	-0,43	-0,46	-0,21
3	-0,49	-0,29	-0,39	-0,19
4	-0,64	-0,43	-0,55	-0,35
5	-0,54	-0,39	-0,44	-0,28
6	-0,44	-0,28	-0,34	-0,21
Média	-0,51	-0,35	-0,42	-0,23

Após a análise das 6 (seis) vias de todos os conjuntos estudados, calculou-se a média das vias e verificou-se o efeito dos fatores analisados como demonstrado no exemplo abaixo:

$$Fator\ temperatura\ (F_T) = \frac{(-0,37) + (-0,24)}{2} - \frac{(-0,06) + (0,03)}{2} = -0,388$$

Após a verificação dos fatores analisados elevam-se ao quadrado os mesmos. Por fim, somam-se os desvios elevados ao quadrado (M) e faz-se a média. Os valores calculados para os fatores sonda (F_S), temperatura (F_T) e dia (F_D), assim como seus valores elevados ao quadrado encontram-se na Tabela 11. Para o cálculo do desvio da Robustez usou-se a fórmula presente na Equação 19.

$$S_{rob} = \sqrt{2 \times (M)} \quad (16)$$

Tabela 11 – Resultados calculados de para os fatores sonda, temperatura e dia dos dois conjuntos analisados para teste do parâmetro de robustez.

	Sonda +Temperatura	Sonda + Dia
F_S	-0,127	0,175
F_T	-0,388	-
F_D	-	0,103
$(F_S)^2$	0,016	0,031
$(F_T)^2$	0,151	-
$(F_D)^2$	-	0,010
M	0,083	0,020

De posse dos valores da Tabela 10 calculou-se S_{rob} para cada um dos conjuntos, sendo 0,408 e 0,203 para os conjuntos “Sonda + Temperatura” e “Sonda + Dia”, respectivamente. Para análise comparativa entre o desvio da robustez e o desvio da reprodutibilidade optou-se por usar o valor referente à segunda rodada de 2016, visto que a mesma foi a mais recente. Considerando que o desvio de reprodutibilidade obtida no item 5.2. para a segunda rodada de 2016 foi igual -0,262 pode-se considerar que o método não é robusto, ou seja, é sensível frente a pequenas variações experimentais

5.6 Parâmetros avaliados

Parâmetros	Resultados
Seletividade	A metodologia é seletiva para OD
Sensibilidade	LDM = 0,28 mg/L de O ₂
Precisão	Todos os resultados obtidos nas cinco rodadas nas quais a sonda participou nos PEP apresentaram-se satisfatórios: <ul style="list-style-type: none"> • Abaixo de 3, com relação a Repe e abaixo de 2, com relação a Repro.
Exatidão	<ul style="list-style-type: none"> • $t_{calc} = 0,60 < t_{tab} = 2,26$ • Todos os resultados obtidos nas cinco rodadas nas quais a sonda participou nos PEP apresentaram-se satisfatórios (Z-score ≤ 2)
Robustez	O método não é robusto – apresenta variações experimentais quando exposto a fatores diferentes de 20 °C e 5 dias.

6 AVALIAÇÃO DE CUSTOS

A avaliação dos custos de cada metodologia é importante para a substituição do método titulométrico para o uso da sonda luminescente. Custo referente ao salário do analista é semelhante para os dois métodos, logo, não será levado em consideração para análise comparativa de custos. Como fontes relevantes para esse cálculo têm-se os reagentes, a vidraria, o tempo e o tratamento de resíduos.

Considerou-se, para o cálculo, as quantidades de reagentes necessários para um conjunto médio mensal de 20 amostras. Os valores dos reagentes utilizados, segundo cotação realizada em outubro de 2016, estão demonstrados na Tabela 12, bem como o consumo anual estimado.

Tabela 12 – Consumo de reagentes e custo para o uso do método titulométrico.

Reagente	Quantidade	Custo	Consumo anual	Custo anual
Fluoreto de potássio	1000 gramas	R\$ 133,00	Aprox. 100 gramas	Aprox. R\$ 15,00
Sulfato manganoso	1000 gramas	R\$ 100,00	Aprox. 100 gramas	Aprox. R\$ 10,00
Iodeto de potássio	1000 gramas	R\$ 434,00	Aprox. 1 grama	Aprox. R\$ 0,50
Hidróxido de potássio	1000 gramas	R\$ 67,00	Aprox. 100 gramas	Aprox. R\$ 10,00
Azida sódica	1000 gramas	R\$ 700,00	Aprox. 225 gramas	Aprox. R\$ 160,00
Ácido sulfúrico PA	1 Litro	R\$ 60,00	Aprox. 500 mL	Aprox. 30,00
Tiosulfato de sódio	1000 gramas	R\$ 350,00	Aprox. 10 gramas	Aprox. R\$ 3,50

A metodologia validada, para a qual se utiliza sonda luminescente, diferencia-se em termos de custo dos valores mostrados na Tabela 12, pois não há uso de reagentes, visto que a sonda realiza leitura direta do OD no frasco de coleta. Dessa forma, o custo anual com reagentes é nulo.

No método titulométrico para a determinação de OD utiliza-se um erlenmeyer de 250 mL, uma proveta de 100 mL e uma bureta de 50 mL, ambas calibradas. O valor de cada uma das vidrarias encontra-se na Tabela 13.

Tabela 13 – Custo das vidrarias utilizadas no método titulométrico.

Vidraria	Custo (unidade)
Bureta (50 mL)	R\$ 35,00
Erlenmeyer (250 mL)	R\$ 7,85
Proveta (100 mL)	R\$ 58,00

Cada sonda luminescente HQDBOD01 (HACH) custou para a empresa CORSAN R\$ 3.500,00, enquanto que o medidor de oxigênio luminescência HQ40 custou RS 8.200,00. A cotação realizada pela empresa para a compra dos sensores de oxigênio encontra-se no Anexo. Esse valor supera em mais de 35 vezes a soma dos valores das vidrarias e dos reagentes usadas para o método normalizado.

Com relação ao tempo de análise, o método não normalizado apresenta grande vantagem, visto que não há necessidade de nenhum tratamento prévio da amostra. Os resultados, em mg/L, são obtidos de forma direta em até meio minuto após o início da leitura.

Para os custos envolvendo tratamento dos resíduos gerados nas duas metodologias, é importante ressaltar que há uma redução drástica no volume. Assim como no uso de reagentes, os resíduos passam a ser nulos, sem a necessidade de tratamento.

7 IMPACTO AMBIENTAL

Considerando que as análises usando sonda luminescente neste trabalho foram realizadas de forma direta, sem o uso de qualquer reagente, além do uso do padrão (P_i) que consiste em dois compostos considerados não perigosos segundo suas fichas de informações de segurança (FISPQ), não houve tratamento dos resíduos, visto que os mesmos se tratavam de água bruta superficial. A principal vantagem da substituição do método é a economia de tempo.

8 CONCLUSÃO

A análise de DBO_5 através do uso de sonda luminescente, de medição direta de oxigênio dissolvido, se mostrou equivalente ao método Winkler modificado pela azida sódica, já empregado no DEAL. Após a execução dos parâmetros de seletividade, sensibilidade, precisão, exatidão e robustez, os resultados se mostraram satisfatórios.

O uso deste novo método não trás para o laboratório uma redução de custo imediato, porém uma redução no tempo de análise e eliminação dos resíduos gerados. O uso do método titulométrico exige que durante a coleta de amostras de água bruta, realizada pelos técnicos treinados da CORSAN, sejam coletadas 3 vias de 300 mL, uma para titulação

O fato de a sonda ser de fácil manipulação e poder ser transportada durante as coletas realizadas pelos técnicos da CORSAN agrega à análise de DBO_5 , pois desta forma é possível o recolhimento de dados de forma imediata, sem a necessidade de coletar duas vias de amostras (para ensaio imediato no laboratório e para incubação por 5 dias).

REFERENCIAS

- 1 - AZEVEDO, E. B. Poluição vs. Tratamento de água: duas faces de uma mesma moeda. **Química Nova na Escola**, n. 10, p. 21-25, 1999.
- 2 - BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2ª. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 844 p.
- 3 - Internacional Hydrological Programe - IHP - IV/UNESCO, 1998. Disponível em <<http://unesdoc.unesco.org/images/0011/001146/114617Eo.pdf>> Acesso em: 18 set. 2016.
- 4 - RELATÓRIO da qualidade de águas interiores no estado de São Paulo. **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB.**, 2005. Disponível em: <<http://aguasinteriores.cetesb.sp.gov.br/publicacoes-e-relatorios/>>. Acesso em: 28 setembro 2016.
- 5 - RESOLUÇÃO nº 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama>>. Acesso em: 29 setembro 2016.
- 6 - ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de Química: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente**. 3ª. ed. Porto Alegre: Bookman, 2006. 968 p.
- 7 - FIORUCCI, A. R.; FILHO, E. B. A importância do oxigênio dissolvido em ecossistemas aquáticos. **Química Nova na Escola**, n. 22, p. 10-16, 2005.
- 8 - Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS / Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. – Brasília : Funasa, 2014. 112 p.
- 9 - Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo - Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. CETESB COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - São Paulo: 2009. 44 p.
- 10 - SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de química analítica**. 8ª. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008. 1124 p.
- 11 - KAUTSKY, H. Quenching of luminescence by oxygen. **Transactions Faraday Society** , Londres, v. 35, p. 216-219, julho 1939.
- 12 - GEDDES, C. D., LAKOWICZ, J. R. **Reviews in Fluorescence**. 1ª. ed. Nova York: Springer, 2005. 440 p.
- 13 - PARK, K. Topics in fluorescence spectroscopy: Probe design and chemical sensing. Nova York: Plenum Press, v. 4, 1996. p. 301-301.

- 14 - AMAO, Y. Probes and Polymers for Optical Sensing of Oxygen. **Microchimica Acta**, Nova York, v. 143, n. 1, p. 1-12, setembro 2003.
- 15 - MONGEY, K. F., et al. The photophysical properties of monomeric and dimeric ruthenium polypyridyl complexes immobilized in sol-gel matrices. **Coordination Chemistry Reviews**, Nova York, v. 186-186, p. 417–429, maio 1999.
- 16 - MILLS, A. Optical oxygen sensors – utilizing the luminescence of platinum metals complexes.. **Platinum Metals Rev**, Londres, v. 41, n. 3, p. 115-127, 1997.
- 17 - PAPKOVSKY, D. B., et al. Phosphorescent Complexes of Porphyrin Ketones: Optical Properties and Application to Oxygen Sensing. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 22, p. 4112-4117, novembro 1995.
- 18 - CHEN-SHANE CHU, Y.-L. L. High-performance fiber-optic oxygen sensors based on fluorinated xerogels doped with Pt(II) complexes.. **Sensors & Actuators, B: Chemical**, v. 124, n. 2, p. 376-382, junho 2007.
- 19 - PALMEIRA, J. V. N.; Desenvolvimento e otimização de um sensor de fibra óptica para determinação da concentração de oxigênio. 2009. 192 f. Dissertação (Mestrado em Instrumentação, Manutenção Industrial e Qualidade) – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2009.
- 20 - McDONAGH, C. et al. Phase fluorometric dissolved oxygen sensor. **Sensors & Actuators, B: Chemical**, v. 74, n. 1, p. 124-130, abril 2001.
- 21 - LEINER, M. J. P. Luminescence chemical sensors for biomedical applications: scope and limitations. **Analytica Chimica Acta**, v. 255, n. 2, p. 209-222, dezembro 1991.
- 22 - WENYING XU, R. C. M. B. L. J. N. D. B. A. D. Oxygen Sensors Based on Luminescence Quenching: Interactions of Metal Complexes with the Polymer Supports. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 23, p. 4133-4141, dezembro 1994.
- 23 - PAYNE, S. J., et al. Luminescence Oxygen Sensor Based on a Ruthenium (II) Star Polymer Complex. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 3, p. 917-921, janeiro 2010.
- 24 - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER ENVIRONMENT FEDERATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd.ed. Washington. 2012. 541 p.
- 25 - SAWYER, C. N., et al. **Chemistry for Environmental Engineering and Science**. 5. ed. Nova York: McGraw-Hill Science, 2002. 752 p.
- 26 - BENTSEN, J. G. et al. **Fluorescence based oxygen sensors systems**. United States Patent 666411, 16 dez 2003.

- 27 - HOLST, G. A., et al. FLOX – an oxygen-flux-measuring system using a phase-modulation method to evaluate the oxygen-dependent fluorescence lifetime. **Sensors & Actuators B: Chemical**, v. 29, n. 3, p. 231-239, outubro 1995.
- 28 - MITCHELL, T. O. Luminescence Based Measurement of Dissolved Oxygen in Natural Waters. HACH Environmental. Disponível em: <<http://www.hexis.com.br/>>. Acesso em 1 out. 2016.
- 29 - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. Vocabulário internacional de metrologia. 1.ed. Rio de Janeiro: INMETRO, 2012.
- 30 - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. DOQ-CGCRE-008: Orientação sobre validação de métodos de analíticos. 4. Ed. INMETRO, 2011.
- 31 - ALBANO, F. M.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. **Validação e garantia da qualidade de ensaios laboratoriais**. 2ª. ed. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2015.
- 32 - RIBEIRO, F. A. L. et al. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, p. 164-171, dezembro 2008. ISSN 1.
- 33 - CASAROTTI, S. N.; PAULA, A. T.; ROSSI, D. A. Correlação entre métodos cromogênicos e o método convencional na enumeração de coliformes e *Escherichia coli* em carne bovina moída. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 66, p. 278-286, julho 2007. ISSN 3.

ANEXO

Figura 10 – Valores do medidor de oxigênio e da sonda fornecidos pela Hexis Científica fornecedora dos produtos HACH no Brasil.



Hach Medidores de Oxigênio Dissolvido por Luminescência

- **Precisão e Estabilidade de Leitura:** Sem interferências nas leituras - LDO Hach, produz medições mais estáveis e precisas por mais tempo;
- **Velocidade:** Não necessita de polarização, ligue o medidor e comece a medir;
- **Calibração:** Sem necessidade de calibrações frequentes - cada eletrodo LDO Hach possui um chip de calibração;
- **Manutenção Reduzida:** Sem substituição de membrana, sem eletrólito para substituir ou contaminar, sem necessidade de manutenção e limpeza dessas partes, sem cátodo e ânodo;
- **Segurança:** Não ocorre contaminação pelo H₂S, um dos principais interferentes na medição de oxigênio por membrana.

[Cote Aqui](#)

MEDIDOR OXIGÊNIO LUMINESCÊNCIA HQ40 COM SENSOR LDO 1M
Cód. HX0001-03427 | Preço Promocional R\$ 8.200,00

MEDIDOR OXIGÊNIO LUMINESCÊNCIA HQ40 COM SENSOR ROBUSTO LDO 5M
Cód. HX0001-05266 | Preço Promocional R\$ 8.700,00

ELETRODO LDO INTELICAL CABO 1M
Cód. HX0001-02329 | Preço Promocional R\$ 3.000,00 + 5% IPI

SONDA LDO ROBUSTA INTELICAL CABO 5M
Cód. HX0001-02294 | Preço Promocional R\$ 3.500,00 + 5% IPI