

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E ENGENHARIAS

EDUARDA TATIANA DE OLIVEIRA

**VALIDAÇÃO DE TESTES COMERCIAIS PARA A DETERMINAÇÃO DE NITRATO
EM ÁGUAS**

CAXIAS DO SUL

2026

EDUARDA TATIANA DE OLIVEIRA

**VALIDAÇÃO DE TESTES COMERCIAIS PARA A DETERMINAÇÃO DE NITRATO
EM ÁGUAS**

Trabalho de Conclusão de Curso,
Universidade de Caxias do Sul, Área do
Conhecimento de Ciências Exatas e
Engenharias.

Orientador Prof. Doutor Marcelo Giovanela

CAXIAS DO SUL
2026

EDUARDA TATIANA DE OLIVEIRA

**VALIDAÇÃO DE TESTES COMERCIAIS PARA A DETERMINAÇÃO DE NITRATO
EM ÁGUAS**

Trabalho de Conclusão de Curso,
Universidade de Caxias do Sul, Área do
Conhecimento de Ciências Exatas e
Engenharias.

Orientador Prof. Dr. Marcelo Giovanela

Banca Examinadora

Dra. Camila Suliani Raota
SENAI de Inovação em Engenharia de Polímeros

Prof. Dra. Lílian Vanessa Rossa Beltrami
Universidade de Caxias do Sul

À minha família, por cada gesto de amor silencioso, por cada palavra de encorajamento, e por cada sacrifício feito em nome dos meus sonhos.

A vocês, que me ensinaram o valor da perseverança e da humildade, dedico não apenas este trabalho, mas cada conquista que ele representa.

Que esta realização seja reflexo da força que herdei de vocês, e da fé que sempre sustentou meus passos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, cujo apoio foi fundamental para a concretização deste trabalho. Pela confiança depositada em minha trajetória acadêmica, pelo incentivo constante e pela serenidade com que me acompanharam nos momentos de maior exigência, expresso meu profundo reconhecimento.

Estendo meus agradecimentos aos docentes que contribuíram para minha formação, compartilhando conhecimento, rigor metodológico e exemplos de ética profissional. À orientação recebida, registro minha admiração e gratidão, pois cada contribuição agregou valor significativo a este estudo.

Aos colegas e colaboradores que, direta ou indiretamente, auxiliaram no desenvolvimento desta pesquisa, agradeço pela parceria, pelas discussões enriquecedoras e pela disposição em contribuir para a construção deste trabalho.

RESUMO

A determinação de nitrato em matrizes aquosas é de extrema importância para a saúde pública e preservação ambiental, dado o risco de desenvolvimento de condições médicas, como a metemoglobinemia, e à ocorrência de processos de eutrofização. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo validar um método analítico espectrofotométrico baseado na reação com 2,6-dimetilfenol (DMP), conforme a norma DIN 38405-9, utilizando kits de testes prontos comerciais no Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais (LAPAM) da Universidade de Caxias do Sul. A validação seguiu as diretrizes do documento orientativo DOQ-CGCRE-008, avaliando seletividade, efeito matriz, linearidade, exatidão, limites de detecção (LDM) e quantificação (LQM), precisão intermediária (R&R) e comparação interlaboratorial. O método mostrou-se seletivo na ausência e presença das matrizes de água bruta, tratada e residual (teste F com $\alpha = 0,05$). A linearidade na faixa de trabalho de 0,5 a 25,0 mg L⁻¹ apresentou coeficiente de determinação (R^2) superior a 0,9945 e ausência de *outliers* pelo teste de Grubbs. A exatidão foi confirmada pelo teste t de *Student* ($t_{\text{calculado}} = 0,543 < t_{\text{tabelado}} = 2,1$) em comparação com o método oficial do ácido fenoldissulfônico (ABNT NBR 12620:1992). O LDM e o LQM foram estabelecidos em 0,1 mg L⁻¹ e 0,5 mg L⁻¹, respectivamente, mostrando sensibilidade adequada frente ao limite regulatório nacional de 10 mg L⁻¹. Na comparação interlaboratorial, o laboratório obteve um Z-score satisfatório de 0,20. O estudo formal de repetibilidade e reprodutibilidade resultou em uma variabilidade de apenas 0,36%. Adicionalmente, a análise econômica e operacional indicou uma redução drástica do tempo de análise de 3h30min para apenas 25 minutos, além de mitigar a manipulação de reagentes perigosos e corrosivos. Conclui-se que o método baseado no kit comercial de DMP é uma alternativa confiável, rápida e viável para implementação na rotina de monitoramento ambiental e controle de qualidade da água.

Palavras-chave: Nitrato. Validação de método. Espectrofotometria. 2,6-Dimetilfenol. Monitoramento ambiental. Qualidade da água

ABSTRACT

The determination of nitrate in aqueous matrices is of paramount importance for public health and environmental protection due to the risks associated with medical conditions such as methemoglobinemia and the occurrence of eutrophication. In this context, the present study aimed to validate a spectrophotometric analytical method based on the reaction of nitrate with 2,6-dimethylphenol (DMP), according to the DIN 38405-9 standard, using commercial ready-to-use test kits at the Laboratory of Environmental Analysis and Research (LAPAM) of the University of Caxias do Sul. Method validation was conducted following the guidelines of the DOQ-CGCRE-008 guidance document by evaluating selectivity, matrix effect, linearity, accuracy, limits of detection (LOD) and quantification (LOQ), intermediate precision (within-laboratory reproducibility), and interlaboratory comparison. The method proved to be selective in both the absence and presence of raw water, treated water, and wastewater matrices (F-test, $\alpha = 0.05$). Linearity over the working range of 0.5–25.0 mg L⁻¹ resulted in a coefficient of determination (R^2) greater than 0.9945, with no outliers detected by Grubbs' test. Accuracy was confirmed by Student's *t*-test ($t_{\text{calculated}} = 0.543 < t_{\text{tabulated}} = 2.1$) through comparison with the official phenoldisulfonic acid method (ABNT NBR 12620:1992). The LOD and LOQ were established at 0.1 mg L⁻¹ and 0.5 mg L⁻¹, respectively, demonstrating adequate sensitivity for compliance with the Brazilian regulatory limit of 10 mg L⁻¹. In the interlaboratory comparison, the laboratory achieved a satisfactory z-score of 0.20. The within-laboratory reproducibility study showed a variability of only 0.36%. Furthermore, economic and operational analyses revealed a substantial reduction in analysis time, from 3 h 30 min to only 25 min, while eliminating the need to handle hazardous and corrosive reagents. Overall, the validated method based on the commercial DMP kit proved to be a reliable, rapid, and practical alternative for routine environmental monitoring and water quality control.

Keywords: Nitrate. Method validation. Spectrophotometry. 2,6-Dimethylphenol. Environmental monitoring. Water quality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo natural do nitrogênio	19
Figura 2. Eutrofização em um corpo hídrico superficial	20
Figura 3. Disponibilidade hídrica mundial	25
Figura 4. Exemplo de água superficial.....	26
Figura 5. Exemplo de água subterrânea.....	27
Figura 6. Exemplo de água residual (efluente)	28
Figura 7. Sistema de água tratada.	30
Figura 8. Mecanismo da reação de Griess	32
Figura 9. Esquema de separação por troca iônica	33
Figura 10. Vista parcial do LAPAM.....	35
Figura 11. Reação de formação do complexo de coloração amarelo entre nitrato e AFD em meio fortemente ácido.....	37
Figura 12. Fluxograma do passo a passo para determinação de nitrato por <i>kit</i>	41
Figura 13. Regressão linear obtida na ausência e presença da matriz de água bruta	53
Figura 14. Regressão linear obtida na ausência e presença da matriz de água tratada	53
Figura 15. Regressão linear obtida na ausência e presença da matriz de água residual	53
Figura 16. Teste F realizado nas matrizes de interesse	54
Figura 17. Curvas analíticas obtidas para a avaliação da linearidade do método....	56
Figura 18. Distribuição dos resíduos das curvas analíticas utilizadas na avaliação da linearidade	56

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Valores críticos para o teste de Grubbs ($\alpha = 0,05$).....	44
Quadro 2. Faixa de aceitação para o estudo de R&R.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Métodos de quantificação de nitrato em águas	34
Tabela 2. Valores de $F_{\text{calculado}}$ em função dos graus de liberdade empregados no método	43
Tabela 3. Resultados obtidos para a avaliação da seletividade na ausência de matriz	51
Tabela 4. Resultados obtidos para a avaliação da seletividade na presença da matriz de água bruta	51
Tabela 5. Resultados obtidos para a avaliação da seletividade na presença da matriz de água tratada	52
Tabela 6. Resultados obtidos para a avaliação da seletividade na presença da matriz de água residual	52
Tabela 8. Resultados obtidos para o teste de Grubbs aplicado às curvas analíticas	57
Tabela 9. Valores obtidos nas amostras no método A e B	58
Tabela 10. Resultados obtidos para a avaliação do ponto de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ utilizado na determinação do LQM e LDM	59
Tabela 11. Resultados obtidos para a avaliação da diluição de $0,3 \text{ mg L}^{-1}$	60
Tabela 12. Valores obtidos para diluição de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$	61
Tabela 13. Resultados obtidos na comparação interlaboratorial e cálculo do Z-score	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AFD	ácido fenoldissulfônico
APHA	<i>American Public Health Association</i>
AWWA	<i>American Water Works Association</i>
CI	cromatografia iônica
CGCRE	Coordenação Geral de Acreditação do INMETRO
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CV	coeficiente de variação
DIN	<i>Deutsches Institut für Normung</i>
DMP	2,6-dimetilfenol
DOQ	Documento Orientativo da Qualidade
EPI	equipamento de proteção individual
ETA	estação de tratamento de água
IEC	Instituto Evandro Chagas
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISE	eletrodos de íon-seletivos
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LAPAM	Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais
LD	limite de detecção
LQ	limite de quantificação
MRC	material de referência certificado
N-NO ₃ ⁻	nitrogênio na forma de nitrato
NBR	Norma Brasileira
NO ₃ ⁻	nitrato
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEP	Programa de ensaio de proficiência
R ²	coeficiente de determinação
R&R	repetibilidade e reprodutibilidade
RSD	desvio padrão relativo
SEAMB	Setor de Gerenciamento Ambiental
UCS	Universidade de Caxias do Sul
UV-Vis	ultravioleta-visível

WEF	<i>Water Environment Federation</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVO GERAL	17
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1	NITRATO E SUA PROBLEMÁTICA AMBIENTAL	18
2.2	VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS.....	22
2.3	ÁGUAS SUPERFICIAIS, SUBTERRÂNEAS E RESIDUAIS.....	24
2.3.1	Águas superficiais	26
2.3.2	Águas subterrâneas	27
2.3.3	Águas residuais (efluentes)	28
2.3.4	Água bruta	29
2.3.5	Água tratada.....	29
2.4	QUANTIFICAÇÃO DE NITRATO EM AMOSTRAS DE ÁGUA	31
2.4.1	Histórico e evolução dos métodos de quantificação para nitrato	31
2.5	LABORATÓRIO DE ANÁLISES E PESQUISAS AMBIENTAIS (LAPAM)	35
3	MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1	TIPO E NATUREZA DA PESQUISA	39
3.2	LOCAL DE EXECUÇÃO DO ESTUDO.....	39
3.3	AMOSTRAGEM E COLETA DE DADOS	39
3.4	REAGENTES, MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.	40
3.5	PROCEDIMENTO ANALÍTICO	40
3.6	VALIDAÇÃO DO MÉTODO.....	41
3.6.1	Seletividade do método e efeito da matriz	42
3.6.2	Linearidade da curva de calibração e faixa linear	43
3.6.3	Exatidão do método	44
3.6.4	Limite de quantificação do método (LQM)	45
3.6.5	Limite de detecção do método (LDM).....	46
3.6.6	Comparações interlaboratoriais.....	47

3.6.7	Estudo formal de repetibilidade e reprodutibilidade (R&R)	47
3.6.8	Elaboração de planilha de custos.....	48
3.7	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS E DE SEGURANÇA	49
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1	SELETIVIDADE E EFEITO DA MATRIZ	50
4.2	LINEARIDADE	55
4.3	EXATIDÃO DE MÉTODO.....	58
4.4	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LQM) E DETECÇÃO (LDM).....	59
4.5	COMPARAÇÃO INTERLABORATORIAL.....	62
4.6	ESTUDO FORMAL DE REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE (R&R). 63	
4.7	COMPARATIVO DE CUSTOS ENTRE O MÉTODO DE REFERÊNCIA E O TESTE COMERCIAL	64
5	CONCLUSÕES.....	66
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	68
	REFERÊNCIAS	69
	APÊNDICES	75

1 INTRODUÇÃO

A quantificação precisa e exata de nitrato em amostras de água é de fundamental importância devido à sua relevância ambiental e sanitária, especialmente pela associação entre o consumo excessivo desse íon e o desenvolvimento de metemoglobinemia e determinados tipos de câncer em humanos (Patel et al., 2022). Além disso, concentrações de nitrato em corpos hídricos podem indicar processos de eutrofização, os quais comprometem a qualidade da água e a biodiversidade aquática (Camargo; Alonso, 2006).

A contaminação por nitrato constitui um problema de escala global, tornando essencial o monitoramento contínuo desse contaminante para assegurar a qualidade da água potável e das reservas subterrâneas (Alahi; Mukhopadhyay, 2018). Essa poluição decorre principalmente do escoamento agrícola e do lançamento de efluentes urbanos, sendo estimado que cerca de 50% dos fertilizantes nitrogenados aplicados na agricultura percolam para águas superficiais e subterrâneas (Mai et al., 2025). Em razão de sua elevada solubilidade e ampla utilização, o nitrato é reconhecido como um dos contaminantes mais recorrentes em ambientes aquáticos (Patel et al., 2022).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabelece um valor guia de 10 mg L^{-1} de nitrogênio na forma de nitrato para o consumo humano, considerando os riscos associados à ingestão excessiva desse íon, como metemoglobinemia, distúrbios cardiovasculares e alterações comportamentais (Lara, 2025). Em consonância com essa recomendação, a legislação brasileira, por meio da Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021, também estabelece o limite máximo permitido de 10 mg L^{-1} de nitrogênio na forma de nitrato em água potável, com base em critérios toxicológicos e de proteção à saúde pública.

Além dos efeitos agudos, estudos recentes, como os de Ward et al. (2018), indicam que a ingestão prolongada de água contendo teores elevados de nitrato pode estar associada ao aumento do risco de câncer e de malformações congênitas, especialmente em condições favoráveis à formação de compostos N-nitrosos. Esses resultados reforçam a importância do monitoramento contínuo da qualidade da água e do cumprimento dos limites estabelecidos por órgãos nacionais e internacionais.

Nesse contexto, pesquisas recentes destacam a necessidade de abordagens integradas para o monitoramento e a gestão da poluição por nitrato, incorporando tanto métodos tradicionais quanto técnicas instrumentais avançadas. Entre as metodologias analíticas mais empregadas destacam-se o uso de eletrodos íon-seletivos (ISEs), a cromatografia iônica (CI) e os métodos colorimétricos, os quais permitem a detecção e quantificação de nitrato em diferentes matrizes aquosas.

De acordo com DU et al. (2015), técnicas avançadas de modelagem hidrológica têm possibilitado a identificação de fontes difusas de contaminação em regiões agrícolas, subsidiando políticas públicas voltadas à mitigação desse problema. Mathewson et al. (2020) destaca que os efeitos adversos da poluição por nitrato extrapolam aspectos ambientais e sanitários, envolvendo também elevados custos econômicos relacionados ao tratamento da água e à perda de serviços ecossistêmicos. De forma complementar, estudos demonstraram que concentrações de nitrato na ordem de $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$ já são capazes de alterar processos ecológicos em lagos temperados, intensificando fenômenos de eutrofização e, consequentemente, de perda da biodiversidade aquática (Kurtz et al. 2023; Paerl; Otten, 2013).

Dessa forma, a problemática do nitrato deve ser compreendida como um desafio multidimensional, que transcende as fronteiras da química ambiental, envolvendo também aspectos sociais, econômicos e tecnológicos. A mitigação efetiva desse contaminante requer estratégias integradas que combinem avanços analíticos, gestão sustentável dos recursos hídricos e políticas públicas voltadas à proteção ambiental e à saúde coletiva.

A utilização de técnicas analíticas validadas é fundamental para a quantificação de nitrato em águas, garantindo a confiabilidade, precisão e exatidão dos resultados obtidos. Nesse sentido, a aplicação de métodos padronizados, como aqueles descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, é essencial para assegurar a comparabilidade dos dados, especialmente em estudos ambientais e no monitoramento da qualidade da água.

Considerando a crescente demanda por metodologias analíticas mais rápidas, acessíveis e operacionalmente simplificadas para o monitoramento da qualidade da água, torna-se relevante investigar alternativas capazes de aliar confiabilidade analítica, praticidade operacional e menor impacto ambiental. Assim, a avaliação de

testes prontos aplicados à determinação de nitrato surge como uma abordagem promissora para ampliar a viabilidade do monitoramento desse contaminante em diferentes rotinas laboratoriais e ambientais.

1.1 OBJETIVO GERAL

Validar um método para a determinação de nitrato em amostras de água utilizando *kits* de testes comerciais.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para que o objetivo geral deste trabalho seja alcançado, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- avaliar os parâmetros de validação aplicáveis à determinação de nitrato em amostras de água por meio de *kits* de testes prontos, conforme os critérios estabelecidos no documento DOQ-CGCRE-008 (Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos);
- determinar parâmetros analíticos do método, incluindo seletividade, linearidade, precisão, exatidão, comparação interlaboratorial, limite de detecção e limite de quantificação;
- comparar o desempenho operacional do método proposto com o método atualmente utilizado no laboratório, considerando o custo operacional por ensaio, a geração de resíduos, a necessidade de manipulação de reagentes potencialmente perigosos, o tempo de análise e a sensibilidade analítica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A presença de nitrato em sistemas aquáticos constitui uma preocupação relevante devido à sua estabilidade química e alta mobilidade no meio ambiente. Originado principalmente de atividades antrópicas, como o uso de fertilizantes agrícolas e o lançamento de efluentes, esse íon pode se acumular em águas superficiais e subterrâneas, comprometendo sua qualidade. Diante disso, neste referencial teórico serão discutidos os principais aspectos relacionados às fontes de contaminação por nitrato, seus impactos ambientais e à saúde humana, além dos métodos analíticos utilizados para sua determinação em amostras de água.

2.1 NITRATO E SUA PROBLEMÁTICA AMBIENTAL

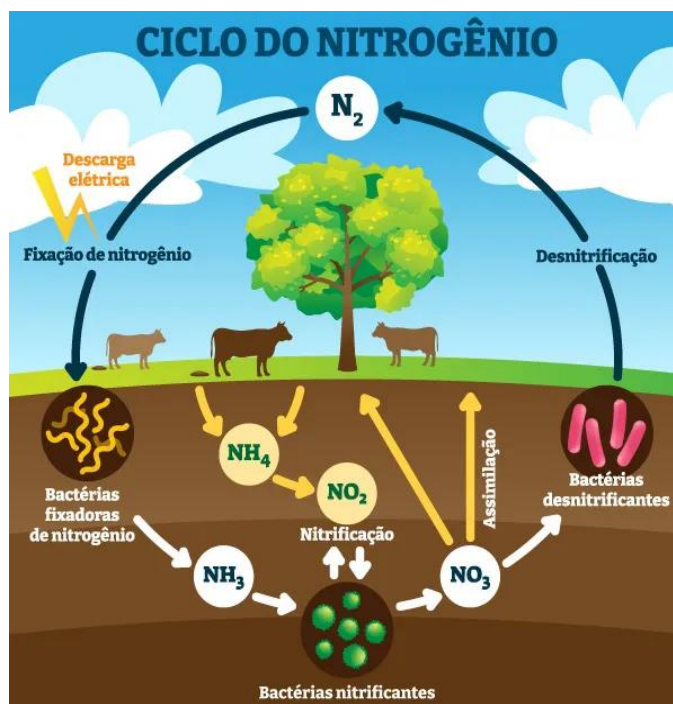
O nitrogênio, sétimo elemento da Tabela Periódica, é essencial para todos os organismos vivos, pois desempenha papel fundamental na constituição de aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos. Embora represente cerca de 78% da atmosfera terrestre, predominantemente na forma de N_2 , essa espécie é pouco reativa e não pode ser utilizada diretamente pela maioria dos seres vivos. Para tornar-se biologicamente disponível, o nitrogênio passa por uma série de transformações que compõem o chamado ciclo do nitrogênio (**Figura 1**), incluindo processos como a fixação, nitrificação, assimilação, amonificação e desnitrificação (Fiore et al., 2010; Spiro; Stigliani, 2008).

Entre as espécies envolvidas nesse ciclo, o nitrato destaca-se como uma das formas oxidadas mais importantes, tanto por sua disponibilidade para as plantas quanto por sua elevada mobilidade em ambientes aquáticos e terrestres. Em solos agrícolas, o uso intensivo de fertilizantes nitrogenados tem contribuído para o aumento significativo de sua concentração, ampliando a relevância ambiental e sanitária desse íon (Galloway et al., 2008).

Além das práticas agrícolas, infiltrações de efluentes domésticos e industriais, bem como o descarte inadequado de resíduos orgânicos também constituem fontes relevantes de contaminação, especialmente em águas subterrâneas devido à mobilidade do nitrato no solo (Metcalf; Eddy, 2016). Assim, o nitrato tornou-se um dos

íons mais monitorados em estudos de saúde pública, em razão de seu potencial de contaminar mananciais de abastecimento e causar efeitos adversos quando ingerido em concentrações elevadas ($> 10 \text{ mg L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$). Desde a década de 1970, a OMS estabeleceu um limite máximo de 10 mg L^{-1} de nitrogênio na forma de nitrato para a água potável; contudo, estudos mais recentes indicam que mesmo níveis considerados seguros podem estar associados a efeitos deletérios à saúde.

Figura 1. Ciclo natural do nitrogênio



Fonte: Lazarin (2008)

Nos últimos dez anos, pesquisas epidemiológicas têm investigado a relação entre a ingestão de nitrato e diversos agravos à saúde. Ward et al. (2018) destacam que a exposição crônica pode aumentar a incidência de câncer colorretal e de distúrbios da tireoide. Schullehner et al. (2018), em um amplo estudo na Dinamarca, observaram uma correlação positiva entre a ingestão de nitrato presente na água potável e risco de câncer colorretal, mesmo em concentrações inferiores ao limite europeu de 10 mg L^{-1} , sugerindo que os valores regulatórios atualmente adotados podem não oferecer proteção completa.

Outro campo de investigação refere-se às doenças metabólicas e cardiovasculares. Ward et al. (2018) relataram que a exposição ao nitrato pode

influenciar a pressão arterial e o metabolismo endotelial. Um dos mecanismos propostos envolve a redução do nitrato a nitrito e, posteriormente, a óxido nítrico (NO), molécula vasodilatadora de grande relevância biológica. Em excesso, entretanto, essa via pode gerar espécies reativas de nitrogênio, aumentando o estresse oxidativo e contribuindo tanto para a carcinogênese quanto para alterações no sistema cardiovascular.

A problemática do nitrato, entretanto, vai além dos impactos sobre a saúde humana, consistindo também de um dos principais agentes de poluição difusa em ecossistemas aquáticos e terrestres. A agricultura intensiva, fortemente dependente do nitrogênio sintético para sustentar a produtividade global, contribui significativamente para esse cenário, acarretando sérias consequências ambientais, como eutrofização, perda de biodiversidade e degradação da qualidade da água (Spiro; Stigliani, 2008).

A eutrofização é um dos fenômenos mais relevantes associados ao excesso de nitrato (**Figura 2**). O enriquecimento de nutrientes, sobretudo nitrogênio e fósforo, estimula a proliferação de algas e cianobactérias, reduzindo a transparência da água e diminuindo o teor de oxigênio dissolvido durante a decomposição da biomassa. Essas condições favorecem a formação de zonas hipóxicas ou anóxicas, resultando em mortandade de peixes e no colapso das cadeias tróficas aquáticas (Wetzel, 2001; Camargo; Alonso, 2006). Além disso, certas cianobactérias produzem toxinas que intensificam os riscos à saúde humana e animal (Paerl; Otten, 2013).

Figura 2. Eutrofização em um corpo hídrico superficial



Fonte: Cooper (2019)

O aporte de nitrato decorrente do escoamento agrícola e da lixiviação de fertilizantes é reconhecido como um dos principais vetores da eutrofização em lagos, reservatórios e zonas costeiras (Smith; Schindler, 2009). Segundo Galloway et al. (2008), a intensificação antrópica do ciclo do nitrogênio constitui um dos maiores desafios ambientais globais, sendo a eutrofização uma de suas consequências mais críticas. Mesmo após a redução do uso de fertilizantes, seus efeitos podem perdurar por anos devido ao acúmulo de nitrogênio nos solos e à sua liberação gradual para os corpos d'água.

Camargo e Alonso (2006) realizaram uma avaliação global dos efeitos ecológicos e toxicológicos do nitrogênio inorgânico e concluíram que o nitrato, mesmo em concentrações relativamente baixas ($<1,0 \text{ mg L}^{-1}$), pode alterar a estrutura e o funcionamento das comunidades biológicas, resultando em prejuízos ecológicos e econômicos, incluindo perdas na pesca, impactos sobre o turismo e aumento dos custos de tratamento de água.

Estudos hidrogeológicos reforçam que a contaminação de aquíferos por nitrato é um fenômeno persistente. Rivett et al. (2008) demonstraram que, embora mecanismos naturais de atenuação, como a desnitrificação microbiana, possam reduzir parcialmente as concentrações, eles raramente são suficientes para compensar as elevadas cargas provenientes da agricultura intensiva. Em pesquisa realizada no norte da China, Su; Wang e Zhang (2013) verificaram níveis de nitrato superiores aos limites recomendados, identificando a lixiviação de fertilizantes e o manejo inadequado de resíduos animais como as principais fontes de contaminação.

Ampliando essa análise, Yu et al. (2020) combinaram monitoramento químico e avaliação de risco à saúde em escala nacional e demonstraram que milhões de pessoas na China estavam expostas a níveis potencialmente perigosos de nitrato. O estudo evidenciou ainda o caráter desigual da poluição, mais severa em regiões sujeitas à intensa pressão agrícola e as práticas de gestão ambiental deficientes.

Zaresefat; Hosseini; Ahrarl Roudi (2023) ressaltam que o nitrato constitui atualmente um dos maiores desafios globais para a qualidade das águas subterrâneas. Mesmo com a adoção de práticas agrícolas mais sustentáveis, a recuperação desses sistemas é lenta devido ao longo tempo de residência da água nos aquíferos, implicando que os benefícios das ações de mitigação podem levar

décadas para se tornar perceptíveis. Essa defasagem temporal impõe obstáculos significativos à governança e demanda políticas preventivas e de longo prazo, integrando ciência, tecnologia e gestão ambiental.

Além disso, a poluição por nitrato apresenta caráter transfronteiriço, dada sua elevada mobilidade em solos e águas subterrâneas, permitindo que o contaminante se disperse para além das áreas de origem e afete bacias hidrográficas inteiras. Esse problema é particularmente crítico em regiões de agricultura mecanizada e uso intensivo de fertilizantes, como nos Estados Unidos, Europa Ocidental e em países emergentes da Ásia.

Em síntese, o nitrato configura um poluente ambiental persistente e ubíquo, cuja presença reflete diretamente as atividades humanas. Seus impactos abrangem desde a saúde pública até a degradação dos ecossistemas aquáticos. Apesar dos avanços analíticos, como o uso de métodos isotópicos e sistemas de monitoramento contínuo, a persistência do problema evidencia que os esforços atuais ainda são insuficientes. Torna-se, portanto, imprescindível fortalecer políticas integradas de gestão hídrica e ampliar o investimento em tecnologias de mitigação e práticas agrícolas sustentáveis.

2.2 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

A validação de métodos analíticos constitui uma etapa essencial para assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos em análises químicas e ambientais, especialmente no contexto do controle da qualidade da água. No Brasil, a principal referência normativa é o documento DOQ-CGRE-008 (Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos), elaborado pelo INMETRO, o qual apresenta diretrizes alinhadas aos requisitos da norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017. De acordo com esses referenciais, a validação consiste na demonstração experimental de que determinado método é adequado ao propósito a que se destina, assegurando que os resultados gerados sejam tecnicamente válidos, rastreáveis e compatíveis com os padrões de qualidade requeridos.

Segundo o DOQ-CGRE-008, diversas características de desempenho devem ser avaliadas de modo a fornecer visão abrangente da qualidade do método. Entre elas, destaca-se a seletividade, definida como a capacidade de o método quantificar

o analito de interesse mesmo na presença de interferentes presentes na matriz; a linearidade, que expressa a relação proporcional entre a resposta instrumental e a concentração em uma faixa pré-estabelecida; e a sensibilidade, relacionada à capacidade de o método detectar pequenas variações de concentração. Complementarmente, devem ser determinados os LDs e de LQs, que correspondem, respectivamente, à menor concentração detectável (ainda que não quantificável) e à menor concentração que pode ser quantificada com níveis aceitáveis de precisão e exatidão (INMETRO, 2020).

A precisão é outro parâmetro fundamental e pode ser avaliada sob diferentes condições experimentais. A repetitividade refere-se à concordância entre medições sucessivas obtidas pelo mesmo analista, no mesmo equipamento e em curto intervalo de tempo; já a precisão intermediária considera variações de operadores, equipamentos ou dias distintos, representando a reprodutibilidade interna do método. A exatidão, também denominada veracidade, corresponde à proximidade entre o valor medido e o valor verdadeiro aceito, podendo ser avaliada por comparação com métodos de referência ou por ensaios de recuperação em amostras fortificadas. Outro parâmetro importante é a robustez, definida como a capacidade do método manter seu desempenho mesmo diante de pequenas variações nos parâmetros operacionais, como temperatura, tempo de reação ou concentração de reagentes. Por fim, a incerteza de medição deve ser estimada de forma quantitativa, representando o grau de confiança associado ao resultado analítico (INMETRO, 2020).

Do ponto de vista experimental, a validação requer o planejamento de ensaios específicos para avaliar cada um desses parâmetros. Curvas de calibração com múltiplos pontos são utilizadas para verificar a linearidade, a sensibilidade e os LDs e LQs. A exatidão é avaliada por testes de recuperação ou pela comparação dos resultados com métodos de referência reconhecidos. A precisão é analisada a partir de medições repetidas sob condições variáveis, e a robustez é determinada por meio de pequenas alterações controladas nas condições de ensaio. A incerteza de medição, por sua vez, é calculada a partir de modelos estatísticos que consideram as diversas fontes de variabilidade do processo analítico, incluindo calibração, preparação de amostra, repetitividade e leitura instrumental (INMETRO, 2020).

Os critérios de aceitação recomendados pelo DOQ-CGCRE-008 não são fixos, devendo ser definidos conforme a finalidade do método e as normas

internacionais aplicáveis. De modo geral, recomenda-se que o coeficiente de determinação (R^2) das curvas de calibração seja superior a 0,99; que o desvio padrão relativo (RSD) da precisão não ultrapasse 10% para concentrações médias; e que os valores de recuperação se situem entre 80 e 120%. A incerteza de medição deve ser compatível com os limites regulatórios vigentes e com os requisitos de uso dos dados analíticos (INMETRO, 2020; Albano; Raya-Rodriguez, 2015).

No caso específico da determinação de nitrato em águas, a validação do método assume papel particularmente relevante, uma vez que os resultados obtidos servem de base para decisões regulatórias e de saúde pública. As concentrações de nitrato em amostras ambientais podem variar amplamente, desde níveis traço, inferiores a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$, até valores muito superiores ao limite de potabilidade de 45 mg L^{-1} de NO_3^- , estabelecido pela Portaria GM/MS nº 888/2021. Isso exige que os métodos empregados apresentem ampla faixa de resposta, boa sensibilidade e elevada exatidão em toda a faixa de interesse. Assim, a validação garante que os resultados obtidos em amostras de água bruta, tratada, subterrânea ou efluente sejam confiáveis para comprovar conformidade com a legislação, embasar estudos epidemiológicos e subsidiar políticas de gestão ambiental sustentáveis.

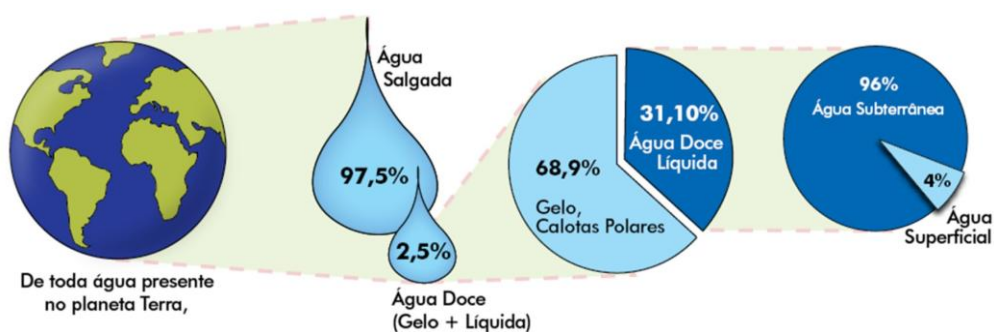
2.3 ÁGUAS SUPERFICIAIS, SUBTERRÂNEAS, RESIDUAIS E TRATADA

A água é o recurso natural essencial à manutenção da vida no planeta, constituindo o principal componente dos organismos vivos e elemento indispensável no equilíbrio dos ecossistemas. Além da sua relevância biológica, desempenha papel fundamental no desenvolvimento econômico e social, sendo utilizada na agricultura, indústria, geração de energia e para consumo humano (Gleick, 1993; Rebouças, 2006). Apesar de sua aparente abundância, apenas cerca de 2,5% da água do planeta é doce, e a maior parte encontra-se em geleiras e aquíferos, restando apenas uma pequena fração disponível em rios e lagos superficiais (Gleick, 1993) (**Figura 3**). Essa distribuição desigual torna o recurso limitado e estratégico, especialmente diante do crescimento populacional e das pressões antrópicas.

A qualidade da água depende de fatores naturais, como o regime hidrológico e a geologia local, mas também é fortemente influenciada por atividades humanas. Entre os contaminantes de maior relevância destaca-se o nitrato, devido à sua elevada

solubilidade em água, alta mobilidade no solo e persistência no ambiente. Essas características favorecem sua lixiviação e transporte para camadas mais profundas, sendo estimado que entre 8 e 19% do nitrogênio aplicado ao solo na forma de fertilizantes possa ser perdido por lixiviação como nitrato, especialmente em áreas agrícolas (Sebilo et al., 2013). A agricultura também contribui com aproximadamente 60 a 70% da carga de nitrato presente em águas subterrâneas, reforçando o impacto das atividades antrópicas na qualidade hídrica (Nakagawa et al., 2021). Em concentrações elevadas, compromete não apenas os usos múltiplos da água, mas também a integridade dos ecossistemas e a saúde humana (WHO, 2017; Rivett et al., 2008). Para compreender a dinâmica desse poluente, é necessário distinguir suas principais origens e características nas diferentes tipologias hídricas (superficiais, subterrâneas e residuais), cada uma com vulnerabilidades e processos específicos (Rebouças, 2006).

Figura 3. Disponibilidade hídrica mundial



Fonte: POSSAS, 2011

A concentração de nitrato em águas destinadas ao consumo humano no Brasil apresenta variabilidade significativa, estando diretamente associada a fatores antrópicos, como a urbanização e a deficiência nos sistemas de saneamento. Estudos conduzidos em aquíferos urbanos do Nordeste brasileiro indicam tendência de aumento das concentrações ao longo do tempo, atribuída principalmente à infiltração de esgoto doméstico em aquíferos não confinados (Campos; Lucena; Alves, 2024). Em escala regional, análises realizadas no estado de São Paulo em amostras de água de abastecimento público distribuídas em 88 municípios, evidenciaram concentrações médias geralmente inferiores a $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ de N-NO_3^- , com a maioria dos valores abaixo de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$, embora tenham sido observados pontos com concentrações

mais elevadas, aproximando-se do limite máximo permitido de 10 mg L⁻¹ estabelecido pela legislação brasileira (Dovidauskas et al., 2019). Esses resultados indicam que, embora predominem concentrações baixas a moderadas no país, há ocorrência de contaminação localizada, reforçando a influência do uso do solo e das condições sanitárias sobre a qualidade das águas e o potencial risco à saúde pública.

2.3.1 Águas superficiais

As águas superficiais (**Figura 4**) incluem rios, lagos, represas e estuários, que atuam como receptores diretos de nutrientes e poluentes. O aporte do nitrato ocorre principalmente pelo escoamento superficial de áreas agrícolas, que transporta fertilizantes nitrogenados, e pelo lançamento de efluentes domésticos e industriais (Di; Cameron, 2002).

Figura 4. Exemplo de água superficial



Fonte: Revista Indústria e Ambiente (2021)

Em ambientes de fluxo lento, como lagos e reservatórios, o acúmulo de nutrientes favorece processos de eutrofização, devido à baixa taxa de renovação da água (Smith; Schindler, 2009). Já em ambientes lóticos, como rios e córregos, o movimento constante da água favorece a autodepuração, isto é, a capacidade natural do corpo hídrico de restaurar suas condições ambientais. No entanto, grandes descargas de poluentes podem exceder essa capacidade, levando ao desequilíbrio ecológico (Howarth, 2009). Além dos impactos ecológicos, a contaminação por nitrato

em águas superficiais compromete múltiplos usos, como o abastecimento, o lazer e a irrigação, exigindo controle rigoroso da qualidade da água.

2.3.2 Águas subterrâneas

As águas subterrâneas, armazenadas em aquíferos (**Figura 5**), são particularmente vulneráveis à contaminação por nitrato devido à sua alta mobilidade no solo e baixa capacidade de retenção. A lixiviação de fertilizantes agrícolas, o uso de fossas sépticas e a infiltração de efluentes são as principais fontes de poluição.

Figura 5. Exemplo de água subterrânea



Fonte: MundoGEO (2019)

Diferentemente das águas superficiais, a recuperação de aquíferos é lenta, podendo demandar décadas após a mitigação das fontes poluidoras (Di; Cameron, 2002; Ward et al., 2018). Em diversos países em desenvolvimento, como a China, esses aquíferos constituem a principal fonte de água potável, o que agrava a relevância do problema.

Estudos epidemiológicos apontam que o consumo prolongado de água subterrânea contaminada com nitrato está associado a doenças como a metemoglobinemia infantil e ao aumento do risco de determinados tipos de câncer (Fewtrell, 2004; Ward et al., 2018). Assim, a contaminação de aquíferos representa um desafio de longo prazo para a gestão dos recursos hídricos e para a saúde pública.

2.3.3 Águas residuais (efluentes)

As águas residuais correspondem aos despejos líquidos resultantes de atividades humanas, cuja composição varia conforme a origem e o tipo de processo desenvolvido (**Figura 6**). Em geral, os efluentes são classificados como domésticos, industriais, agropecuários ou hospitalares.

Figura 6. Exemplo de água residual (efluente)



Fonte: Instituto del agua (2025)

Os efluentes domésticos apresentam elevadas concentrações de matéria orgânica biodegradável, nutrientes (nitrogênio e fósforo) e microrganismos patogênicos. Já os industriais são heterogêneos, podendo conter metais pesados, compostos tóxicos e substâncias recalcitrantes. Os efluentes agropecuários se destacam pelo excesso de nutrientes provenientes de fertilizantes e resíduos animais, enquanto os hospitalares incluem contaminantes emergentes, como antibióticos e fármacos (Sperling, 2011; Metcalf & Eddy, 2016).

Independentemente da origem, esses efluentes possuem alta carga poluidora e, quando lançados sem tratamento adequado, tornam-se uma das principais rotas de entrada de compostos nitrogenados no ambiente.

Nos corpos d'água superficiais, efluentes não tratados ou insuficientemente tratados intensificam a eutrofização, provocando a proliferação de algas e cianobactérias que comprometem a biodiversidade e elevam os custos de tratamento da água. Nas águas subterrâneas, a infiltração contínua de nitrato oriundo de fossas

sépticas, áreas irrigadas com efluentes ou sistemas inadequados de disposição representa sério risco à potabilidade (Metcalf & Eddy, 2016; WHO, 2017).

Do ponto de vista do tratamento, sistemas convencionais como lodos ativados e reatores anaeróbios removem eficientemente matéria orgânica e sólidos suspensos, mas são pouco eficazes na remoção de nitrato, exigindo etapas complementares. Entre as alternativas estão a desnitrificação biológica, baseada na ação de bactérias desnitrificantes sob condições anóxicas, e processos físico-químicos, como troca iônica, osmose reversa e oxidação avançada (Metcalf; Eddy, 2016).

A gestão eficiente dos efluentes, portanto, vai além do tratamento: envolve políticas de prevenção na fonte, incentivo ao reuso e monitoramento contínuo da qualidade, aspectos fundamentais diante da intensificação das atividades humanas e do rigor crescente das legislações ambientais (WHO, 2017).

2.3.4 Água bruta

A água bruta é aquela captada diretamente de mananciais, superficiais ou subterrâneos, antes de qualquer tratamento. Representa a base de praticamente todos os sistemas de abastecimento público e, por isso, sua qualidade inicial influencia diretamente a complexidade e o custo dos processos de purificação (Di Bernardo; Dantas, 2005).

Em regiões agrícolas, é comum a presença de altas concentrações de nitrato decorrentes do uso intensivo de fertilizantes e da infiltração de resíduos pecuários. Em áreas urbanas, o problema está frequentemente ligado ao lançamento de esgoto e à lixiviação de aterros sanitários (Di Bernardo; Dantas, 2005). Assim, o monitoramento sistemático da água bruta é essencial tanto para orientar o tratamento nas estações de tratamento de água (ETAs) quanto para subsidiar ações de proteção dos mananciais e do uso do solo.

2.3.5 Água tratada

A água tratada é obtida após processos de clarificação, filtração e desinfecção, visando atender aos padrões de potabilidade estabelecidos pela legislação vigente (**Figura 7**). Esses processos convencionais removem a maior parte

das impurezas físicas, químicas e microbiológicas, porém o nitrato não é removido pelos métodos convencionais de coagulação, filtração e desinfecção, pode ser necessário recorrer a tecnologias avançadas, como troca iônica, osmose reversa ou desnitrificação biológica (APHA; AWWA; WEF, 2023).

Figura 7. Sistema de água tratada



Fonte: Dek Engenharia (2018)

A presença de nitrato em água potável está associada a riscos à saúde pública e efeitos crônicos, o que torna necessária a adoção de tecnologias específicas, como osmose reversa, troca iônica ou desnitrificação biológica. Entre essas, a desnitrificação biológica destaca-se pela elevada eficiência, com remoções variando entre 70 e 99%, e médias entre 85 e 95% sob condições controladas (Metcalf & Eddy 2016). Processos físico-químicos, como a osmose reversa e a nanofiltração, também apresentam altas eficiências, frequentemente superiores a 90%, enquanto a troca iônica pode atingir remoções acima de 80%, dependendo das condições operacionais. Técnicas como a eletrocoagulação apresentam desempenho moderado a elevado, com eficiências entre 60 e 90% (Shrimali; Singh, 2001). Embora eficazes, essas técnicas envolvem custos elevados, requerem mão de obra especializada e demandam gestão adequada dos resíduos (Sperling, 2011).

A complexidade do controle do nitrato em sistemas de abastecimento é um desafio crescente, especialmente em áreas rurais e agrícolas, onde o uso de fertilizantes intensivos favorece sua lixiviação. De acordo com a OMS (WHO, 2017), a gestão adequada desse risco exige não apenas tecnologias de remoção, mas

também estratégias preventivas de manejo do solo e monitoramento contínuo da qualidade da água.

De modo geral, a contaminação por nitrato afeta de maneira distinta cada compartimento hídrico. Em águas superficiais e efluentes, prevalece a poluição difusa e pontual decorrente de atividades urbanas e industriais; em águas subterrâneas, observa-se persistência e difícil reversão; e, mesmo após o tratamento, resíduos desse íon podem permanecer. Esse cenário evidencia a complexidade em garantir a potabilidade frente a esse contaminante e reforça a necessidade de estratégias integradas de monitoramento e controle, aliando prevenção, reuso e tecnologias avançadas (APHA; AWWA; WEF, 2023; WHO, 2017).

2.4 QUANTIFICAÇÃO DE NITRATO EM AMOSTRAS DE ÁGUA

A determinação do nitrato em amostras de água constitui uma das análises mais importantes no monitoramento ambiental, na saúde pública e na gestão de recursos hídricos. Isso se deve ao fato de o nitrato ser um contaminante de alta mobilidade, de difícil remoção natural e que, em concentrações elevadas, está associado tanto a impactos ecotoxicológicos, como a eutrofização, quanto a efeitos adversos à saúde humana, incluindo metemoglobinemia, doenças cardiovasculares e risco potencial de câncer (Ward et al., 2018; Paerl; Otten, 2013).

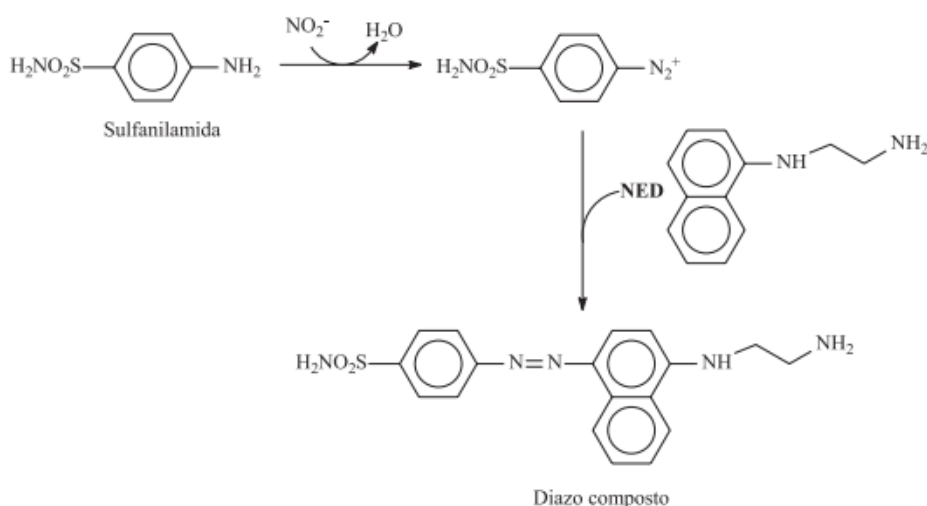
O monitoramento sistemático desse íon é fundamental para assegurar a conformidade com as legislações ambientais e sanitárias. No Brasil, a Portaria GM/MS nº 888/2021 estabelece um limite de 10 mg L^{-1} de N-NO_3^- (equivalente a $\sim 45 \text{ mg L}^{-1}$ de NO_3^-) para água destinada ao consumo humano, enquanto a Resolução nº 357/2005 define limites para corpos d'água superficiais conforme a classe de uso. Esses valores estão em consonância com as recomendações internacionais, como as *Guidelines for Drinking-water Quality* da OMS (2017), que indicam 50 mg L^{-1} de nitrato (equivalente a $\sim 11 \text{ mg L}^{-1}$ de N-NO_3^-) como valor guia para consumo humano.

2.4.1 Histórico e evolução dos métodos de quantificação para nitrato

Os métodos de determinação de nitrato passaram por uma notável evolução, desde as técnicas gravimétricas e colorimétricas utilizadas no início do século XX até

as sofisticadas abordagens instrumentais atualmente empregadas. Entre os métodos clássicos, destaca-se a reação de Griess (**Figura 8**), baseada na diazotização e posterior acoplamento de compostos aromáticos, que permite a quantificação espectrofotométrica do nitrito e, indiretamente, do nitrato após sua redução. Essa metodologia foi posteriormente aprimorada com o uso de colunas redutoras de cádmio, consolidando-se como referência em laboratórios de monitoramento da qualidade da água (APHA, AWWA, WEF, 2023).

Figura 8. Mecanismo da reação de Griess



Fonte: Ramos; Cavalheiro; Cavalheiro, 2006

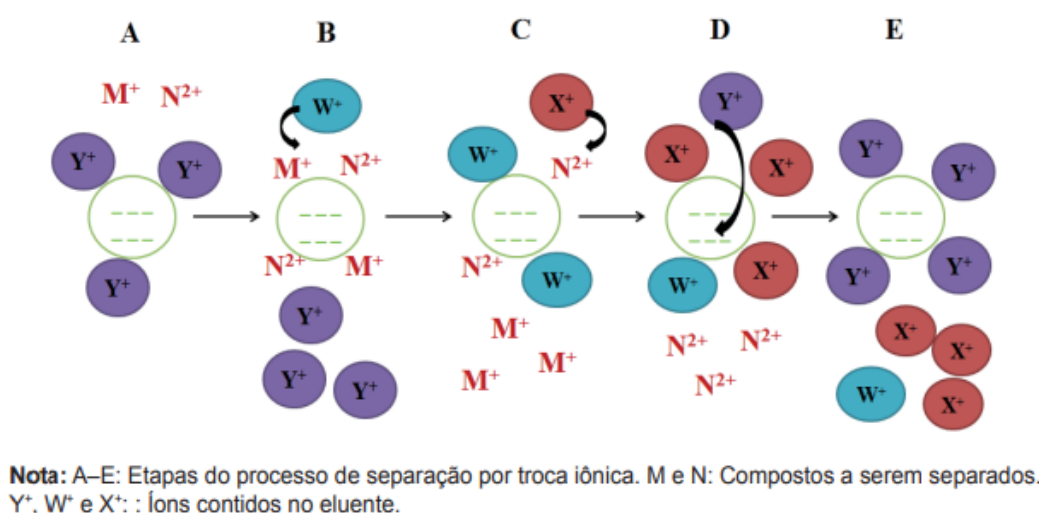
A partir da segunda metade do século XX, a espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) passou a ser empregada como uma alternativa direta para a determinação de nitrato, dispensando o uso de reagentes adicionais. Apesar da simplicidade e rapidez do método, essa técnica exige correções para minimizar interferências de compostos orgânicos e outras espécies que também apresentam absorção nessa faixa espectral (Edwards; Hooda; Cook, 2001).

Os eletrodos de íon-seletivos (ISEs) constituem sensores químicos capazes de determinar potenciometricamente a atividade de espécies iônicas mesmo na presença de outros íons. Embora estudados há décadas, seu uso permaneceu limitado devido à baixa seletividade e aos elevados limites de detecção (LDs), tipicamente na ordem de 10^{-5} a 10^{-6} mol/L para nitrato, o que corresponde a aproximadamente 0,6 a 6 mg/L de NO_3^- em sistemas convencionais (Bakker; Pretsch;

Bühlmann, 2000). Nos últimos anos, entretanto, avanços como o emprego de agentes complexantes e tampões iônicos têm melhorado substancialmente o desempenho e os limites de detecção dos ISEs de contato líquido (Torres et al., 2006).

Outro método amplamente empregado é a cromatografia iônica (CI), método instrumental que utiliza resinas de troca iônica para a separação e quantificação de ânions. Os primeiros estudos datam do século XIX, com Way e Thompson (1850), e seu princípio baseia-se nos equilíbrios de troca entre íons do eluente e da fase estacionária. A **Figura 9** ilustra o processo de separação por troca iônica (Danuello et al., 2022).

Figura 9. Esquema de separação por troca iônica



Fonte: Danuello et al., 2022

A escolha do método depende da finalidade (rotina laboratorial, pesquisa avançada ou monitoramento em campo), bem como dos LDs exigidos e da infraestrutura disponível. Pesquisas recentes têm explorado sensores nanoestruturados e sistemas microfluídicos acoplados à detecção óptica ou eletroquímica, possibilitando análises em tempo real com alta sensibilidade (Alahi; Mukhopadhyay, 2018; Patel et al., 2022). Esses sistemas se destacam como soluções promissoras para o monitoramento contínuo de bacias hidrográficas, ETAs e efluentes industriais, possibilitando respostas rápidas frente a episódios de contaminação.

Outra tendência é a aplicação de técnicas isotópicas ($\delta^{15}N$ e $\delta^{18}O$ do nitrato), que permitem não apenas quantificar, mas também identificar as fontes de contaminação (fertilizantes, efluentes domésticos ou deposição atmosférica),

forneendo subsídios estratégicos para a gestão ambiental (Kendall; McDonnell, 1998; Rivett et al., 2008).

A análise de nitrato, contudo, enfrenta diversos desafios técnicos, tais como:

- **interferências químicas:** cloretos e ácidos húmicos podem afetar métodos espectrofotométricos e eletroquímicos;
- **LD:** alguns métodos clássicos são inadequados para concentrações muito baixas ($< 0,1 \text{ mg L}^{-1}$);
- **custos e infraestrutura:** técnicas como IC e ICP-MS requerem laboratórios especializados, enquanto métodos colorimétricos oferecem maior acessibilidade;
- **segurança:** o uso de cádmio em colunas redutoras exige cuidados especiais, devido à toxicidade do metal.

Assim, a seleção do método deve equilibrar custo, confiabilidade e sensibilidade, sendo frequente a combinação de diferentes abordagens em programas de monitoramento (**Tabela 1**).

Tabela 1. Métodos de quantificação de nitrato em águas

Método	Fonte / Norma	Vantagens	Desvantagens
Espectrofotometria UV (220 nm, correção em 275 nm)	APHA SMEWW 4500-NO ₃ ⁻ B	Rápido, baixo custo, sem reagentes adicionais	Interferência de matéria orgânica dissolvida e turbidez
Redução por cádmio/reação de Griess	APHA SMWW 4500-NO ₃ ⁻ E	Alta sensibilidade, amplamente validado	Uso de cádmio (tóxico), requer manutenção da coluna redutora
Cromatografia iônica (IC)	ISO 10304-1 (2007)	Elevada precisão, detecta nitrato junto a outros ânions	Custo elevado, necessidade de manutenção sofisticada
Eletrodo íon-seletivo (ISE)	APHA SMWW 4500-NO ₃ ⁻ D	Simples, aplicável em campo, resposta rápida	Interferências de ânions (ex.: cloreto), menor precisão em baixas concentrações

Espectrometria UV/Vis com sensores ópticos	Estudos recentes (Alahi; Mukhopadhyay, 2018; Patel et al., 2022)	Monitoramento em tempo real, potencial para automação	Custo de implementação, ainda em fase de validação em larga escala
---	--	---	--

Fonte: autora (2025)

2.5 LABORATÓRIO DE ANÁLISES E PESQUISAS AMBIENTAIS (LAPAM)

O LAPAM, localizado no Bloco V do Campus-Sede da Universidade de Caxias do Sul e vinculado à Área do Conhecimento de Ciências Exatas e Engenharias, atua há mais de uma década como suporte fundamental às atividades de ensino, pesquisa e extensão no campo ambiental (LAPAM, 2017). Além de sua função acadêmica, a unidade presta serviços especializados à indústria e à comunidade, contribuindo para a solução de problemas ambientais regionais e garantindo a conformidade com as legislações vigentes (**Figura 10**).

Figura 10. Vista parcial do LAPAM



Fonte: autora (2025)

A estrutura laboratorial conta com equipe técnica qualificada para realizar amostragens e análises de diferentes matrizes hídricas, abrangendo águas residuais, brutas e tratadas. Os serviços oferecidos incluem ensaios físico-químicos e microbiológicos, conduzidos em conformidade com os requisitos da ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017, o que assegura imparcialidade, rastreabilidade e confiabilidade aos resultados. Essa aderência a padrões internacionais é reforçada pela acreditação concedida pela Coordenação Geral de Acreditação do INMETRO (CGCRE) e pelo reconhecimento da Rede Metrológica RS, que ampliam a credibilidade do laboratório em nível nacional.

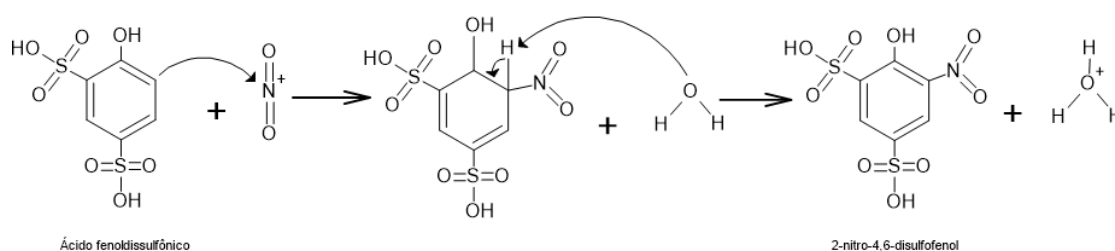
Entre os ensaios físico-químicos realizados pelo LAPAM, destaca-se a determinação de nitrato por meio do método de ácido fenoldissulfônico, conduzida atualmente segundo a norma ABNT NBR 12620:1992. Considerando a relevância ambiental e sanitária desse parâmetro, o laboratório planeja ampliar seu escopo metodológico até 2026 por meio da validação do método descrito na norma DIN 38405-9, iniciativa que reforça o compromisso da instituição em adotar práticas atualizadas e internacionalmente reconhecidas. Essa perspectiva coloca o LAPAM em posição de vanguarda no monitoramento e controle da qualidade da água, integrando rigor científico, inovação e aplicação prática em benefício da sociedade.

O método do ácido fenoldissulfônico (AFD) constitui um dos procedimentos clássicos mais difundidos para a determinação de nitrato em amostras de água. Recomendado pela norma NBR 12620 (ABNT, 1992), trata-se de um método colorimétrico de elevada sensibilidade, capaz de detectar concentrações de nitrato a partir de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de N-NO_3^- . Por essa razão, é adequada tanto para o monitoramento de águas de abastecimento quanto para amostras ambientais (ABNT, 1992).

Entre suas principais vantagens destacam-se o baixo custo operacional, a simplicidade instrumental e a possibilidade de aplicação em diferentes tipos de amostras, incluindo águas naturais, tratadas e efluentes. Entretanto, o método apresenta algumas limitações, como a necessidade de utilização de reagentes corrosivos e potencialmente perigosos, a exemplo do ácido sulfúrico fumegante, além de etapas adicionais de preparo da amostra, que aumentam o tempo de análise e exigem cuidados rigorosos de segurança laboratorial. Adicionalmente, quando comparado a técnicas instrumentais mais modernas, como a cromatografia iônica (CI), pode apresentar menor praticidade para a análise de matrizes mais complexas.

A reação baseia-se na formação de um complexo amarelo intenso entre o nitrato e o AFD em meio fortemente ácido, o qual, após alcalinização com hidróxido de amônio, apresenta absorvância proporcional à concentração de nitrato presente (**Figura 11**). A quantificação é realizada por espectrofotometria, com leitura a 410 nm para concentrações de até 2 mg L⁻¹ de N-NO₃⁻, ou a 480 nm para concentrações de até 12 mg L⁻¹ de N-NO₃⁻ (ABNT,1992).

Figura 11. Reação de formação do complexo de coloração amarelo entre nitrato e AFD em meio fortemente ácido



Fonte: autora (2025)

A norma DIN 38405-9, publicada em setembro de 2011, integra o conjunto de métodos alemães padronizados para análise de águas, águas residuais e lodos, com enfoque específico na determinação de ânions. Essa parte da norma, identificada como D9, descreve o método espectrofotométrico para quantificação de nitrato, analito de grande relevância ambiental e sanitária. O método baseia-se na reação do íon nitrato com o reagente DMP, formando um composto colorido cuja intensidade em termos de absorvância, medida em comprimento de onda específico, é diretamente proporcional à concentração de nitrato na amostra (DIN, 2011).

A aplicabilidade do método abrange diferentes matrizes aquosas, incluindo água potável, águas superficiais com baixo grau de poluição, águas subterrâneas e águas residuais de complexidade moderada. Os LQs variam conforme o caminho óptico da célula utilizada durante a leitura. Para cubetas retangulares de 5,0 cm, a norma define uma faixa de quantificação de 0,10 a 5,00 mg L⁻¹ de nitrogênio na forma de nitrato; já para cubetas de 1,0 cm, a faixa se estende de 0,50 a 25,0 mg L⁻¹ (DIN, 2011). Essa flexibilidade metodológica permite adaptar o procedimento às

características específicas de cada amostra, mediante diluições adequadas ou seleção do comprimento de célula mais apropriado.

Apesar de sua robustez e padronização, o método apresenta limitações que devem ser cuidadosamente avaliadas. Interferentes ópticos, como turbidez e coloração natural da amostra, podem comprometer a exatidão das leituras espectrofotométricas, sendo necessária a realização de pré-tratamentos, como filtração ou correção de branco. Substâncias redutoras ou oxidantes presentes em determinadas matrizes também podem reagir com o DMP, alterando a intensidade do sinal analítico e gerando desvios sistemáticos. Tais fatores reforçam a importância da preparação adequada das amostras e da validação dos resultados por meio de ensaios comparativos com métodos alternativos (Sigma-Aldrich, 2023).

No Brasil, laboratórios de universidades e centros de pesquisa, como o Laboratório de Saneamento Ambiental da Universidade Estadual de Maringá (PR), já aplicam a norma DIN 38405-9 como referência para a determinação de nitrato em amostras de água, devido à sua padronização internacional e à confiabilidade dos resultados obtidos (UEM, 2023). Embora existam outras técnicas disponíveis, como a Cl e a determinação eletroquímica, a espectrofotometria baseada na reação com DMP apresenta vantagens significativas, como simplicidade operacional, boa sensibilidade para baixas concentrações e custo reduzido de reagentes e equipamentos, fatores que justificam sua ampla adoção em programas de monitoramento ambiental.

Diante disso, a norma DIN 38405-9 representa uma importante referência internacional para a quantificação de nitrato em matrizes aquosas, assegurando resultados consistentes, rastreáveis e comparáveis entre laboratórios. Sua adoção contribui diretamente para a vigilância da qualidade da água e para a mitigação de riscos associados ao excesso de nitrato, configurando-se como ferramenta essencial na interface entre análise laboratorial, políticas ambientais e saúde pública.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 TIPO E NATUREZA DA PESQUISA

O estudo classifica-se como uma pesquisa aplicada, de abordagem quantitativa, voltada à avaliação laboratorial do método analítico para determinação de nitrato utilizando DMP.

A natureza do estudo é experimental, uma vez que envolve a aplicação controlada do procedimento normalizado DIN 38405-9, visando à análise de desempenho do método e à comparação dos resultados obtidos com os critérios de qualidade estabelecidos pelo documento normativo DOQ-CGCRE-008 (INMETRO, 2020). Adicionalmente, a pesquisa apresenta caráter descritivo e exploratório, pois busca compreender o comportamento do método em diferentes matrizes de água e discutir sua adequação às exigências da norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017, aplicável a laboratórios de ensaio e calibração acreditados.

3.2 LOCAL DE EXECUÇÃO DO ESTUDO

Os experimentos e análises foram conduzidos no LAPAM, localizado no Bloco V do Campus-Sede da UCS. A unidade dispõe da infraestrutura adequada para a execução das atividades propostas, contando com espectrofotômetro de absorção molecular UV-Vis, da marca Merck, modelo Prove 600 Plus, vidrarias volumétricas calibradas, sistema de purificação de água e demais equipamentos de apoio necessários ao desenvolvimento das análises experimentais.

3.3 AMOSTRAGEM E COLETA DE DADOS

Foram utilizadas vinte amostras de água distribuídas nas matrizes bruta, tratada e residual e naturalmente contaminadas já disponíveis no LAPAM, provenientes de coletas realizadas pelo próprio laboratório, seguindo procedimentos padronizados de amostragem adotados pela instituição.

As amostras permanecerão armazenadas em frascos brancos de polietileno, com volume mínimo de 500 mL, mantidas sob refrigeração entre 2 °C e 6 °C, conforme

as boas práticas laboratoriais e as recomendações das normas ABNT NBR 9898:2017, ABNT NBR ISO 5667-3:2012 e APHA (2023), garantindo a preservação da integridade da amostra até o momento da análise.

3.4 REAGENTES, MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.

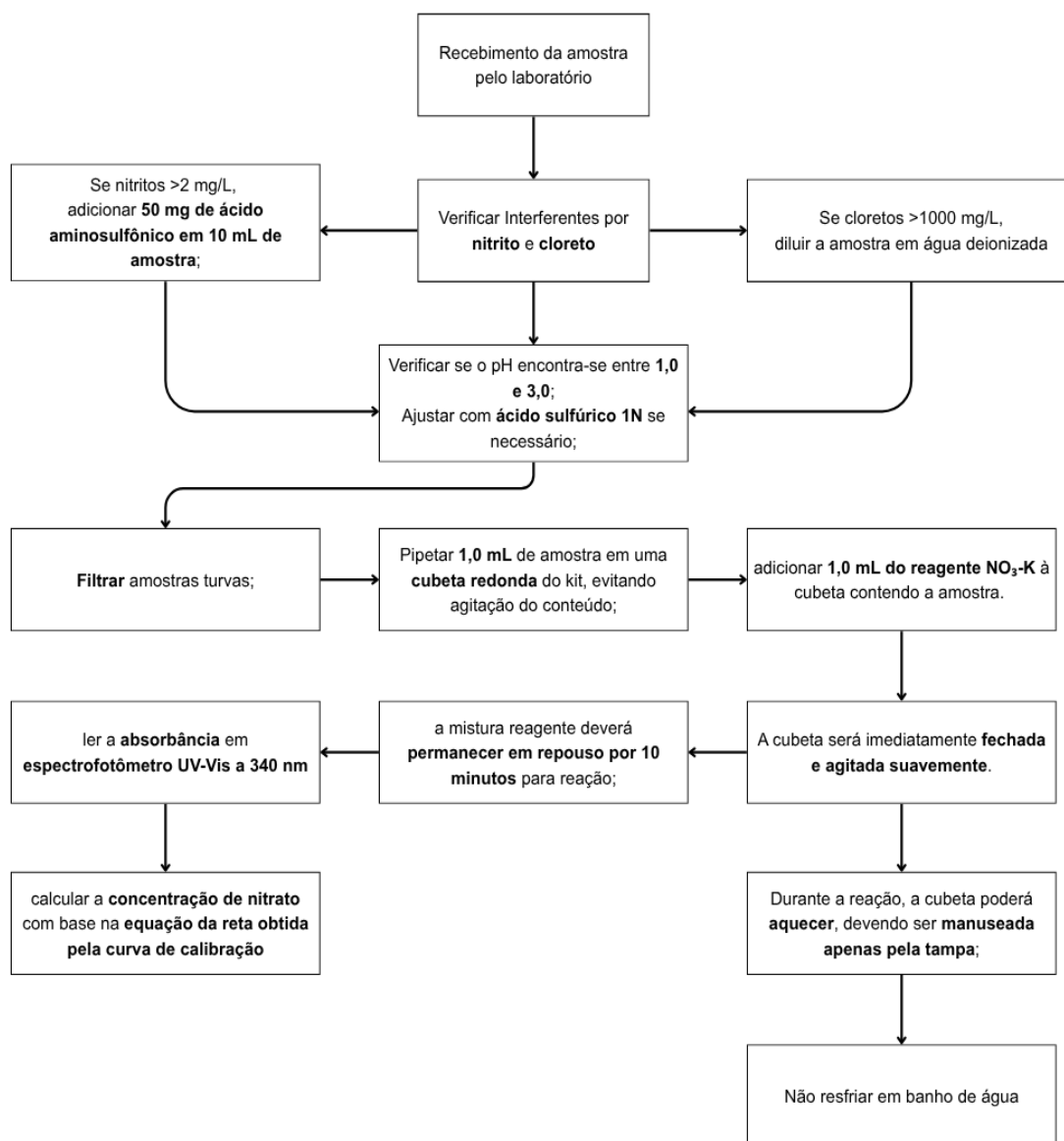
Serão utilizados reagentes e materiais de grau analítico, devidamente certificados, padrões de referência certificados (MRC), soluções preparadas com água deionizada, além dos equipamentos necessários, conforme listado a seguir:

- *kit* para determinação de nitrato: *Spectroquant® Nitrate Cell Test* 1.14563.0001 (Merck) baseado no método fotométrico em DMP, com faixa analítica de 0,5 a 25,0 mg L⁻¹ N–NO₃⁻;
- MRC de nitrato (*Nitrate Nitrogen Standard for IC* 53638, Sigma-Aldrich, 1000 mg L⁻¹), utilizado na preparação de soluções de calibração e fortificação;
- ácido aminossulfônico (Êxodo Científica, pureza de 99,32%);
- ácido sulfúrico 1N, preparada a partir de ácido sulfúrico PA (Química Moderna, pureza de 98%);
- fita teste para cloreto (*MQuant® Chloride Test Strips*, Supelco, 1.10079), com faixa analítica entre 500 a 3000 mg L⁻¹;
- fita teste para nitrito (*MQuant® Chloride Test Strips*, Supelco, 1.10007), com faixa analítica entre 2 a 80 mg L⁻¹;
- micropipetadores de diferentes volumes, devidamente calibrados;
- balões volumétricos de diferentes capacidades, devidamente calibrados;
- espectrofotômetro de absorção molecular UV-Visível, Prove 600 Plus (Merck).

3.5 PROCEDIMENTO ANALÍTICO

A determinação do nitrato foi realizada de acordo com o método descrito pelo fabricante do *kit Spectroquant®*, o qual é análogo à norma DIN 38405-9. O princípio baseia-se na reação DMP em meio ácido, formando o composto 4-nitro-2,6-dimetilfenol, o qual é quantificado fotometricamente a 340 nm. Os passos adotados encontram-se sumarizados no fluxograma da **Figura 12**.

Figura 12. Fluxograma do passo a passo para determinação de nitrato por *kit*



Fonte: autora (2026)

3.6 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

A validação do método analítico foi conduzida com base nas diretrizes estabelecidas no DOQ-CGCRE-008 (INMETRO, 2020), e fundamentada nos conceitos e requisitos de desempenho de métodos analíticos descritos na literatura especializada, com destaque para Albano e Raya-Rodriguez (2015).

O estudo teve como finalidade demonstrar que o procedimento analítico é adequado ao uso pretendido, sendo capaz de produzir resultados confiáveis, precisos e rastreáveis, em conformidade com os princípios de qualidade exigidos para métodos

normalizados e laboratórios acreditados segundo a ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017. Para isso, foram avaliados os parâmetros de desempenho descritos a seguir.

3.6.1 Seletividade do método e efeito da matriz

De acordo com Albano e Raya-Rodriguez (2015), a seletividade do método deve ser avaliada utilizando-se, no mínimo, seis concentrações distintas do padrão de referência distribuídas ao longo da faixa analítica, tanto na ausência quanto na presença da matriz de interesse, com o objetivo de verificar possíveis interferências da matriz sobre o sinal analítico.

Para essa avaliação, foram preparados três balões volumétricos de 100 mL contendo concentração inicial de 25 mg L⁻¹, correspondentes às seguintes matrizes naturais de interesse: água bruta, água tratada e água residual. A partir dessas soluções, foram adicionadas alíquotas de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mL aos tubos de teste do *kit* analítico, obtendo-se concentrações finais de 0,5, 10, 15, 20 e 25 mg L⁻¹, respectivamente. Posteriormente, o volume dos tubos foi completado para 1 mL com a respectiva matriz de referência.

A seletividade foi avaliada por meio da análise das regressões lineares obtidas para cada matriz, associados à aplicação do teste F de Fischer-Snedecor (**Equação 1**), utilizado para verificar a homogeneidade das variâncias e identificar possíveis diferenças estatisticamente significativas entre as curvas analíticas.

$$F_{calculado} = \frac{s_{maior}^2}{s_{menor}^2} \quad (1)$$

onde,

s = desvio padrão

O valor de $F_{calculado}$ foi comparado ao valor de $F_{tabelado}$ (**Tabela 2**), considerando os respectivos graus de liberdade ($n-1$), em que n corresponde ao número de repetições empregadas no cálculo da variância. Neste estudo, cada ponto analítico foi realizado em triplicata, resultando em $n = 3$.

Tabela 2. Valores de $F_{\text{calculado}}$ em função dos graus de liberdade empregados no método

$\alpha = 0,05$	Maior $s^2 (n-1)$					
Menor $s^2 (n-1)$	1	2	3	4	5	6
1	161,446	199,499	215,707	224,583	230,160	233,988
2	18,513	19,000	19,164	19,247	19,296	19,329
3	10128	9,552	9,277	9,117	9,013	8,941

Fonte: Albano; Raya-Rodriguez (2015)

A ausência de interferentes da matriz foi avaliada por meio do paralelismo entre as curvas analíticas obtidas na presença e na ausência das matrizes avaliadas, bem como pela aplicação do teste F. Para a análise estatística, adotou-se nível de significância (α) de 0,05, correspondente a 95% de confiança, conforme descrito por Albano e Raya-Rodriguez (2015).

3.6.2 Linearidade da curva de calibração e faixa linear

A avaliação da linearidade e da faixa linear do método foi realizada por meio da análise, em triplicata, de seis concentrações de nitrato (0,5; 5; 10; 15; 20 e 25 mg L⁻¹), preparadas a partir de solução padrão certificada. Com base nos resultados obtidos, realizou-se a regressão linear considerando a concentração do padrão analisado como variável independente ("x") e a resposta analítica obtida como variável dependente ("y"), para avaliação do coeficiente de determinação ($R^2 \geq 0,9945$) na faixa de trabalho de 0,5 a 25,0 mg L⁻¹ N-NO₃⁻, conforme especificado por Albano e Raya-Rodriguez (2015).

A presença de valores discrepantes foi avaliada por meio do teste de Grubbs, aplicado às respostas analíticas obtidas para cada nível da curva analítica. O valor de G foi calculado a partir da razão entre o módulo da diferença do possível valor discrepante em relação à média do conjunto de dados e o respectivo desvio padrão, sendo posteriormente comparado aos valores críticos tabelados (**Quadro 1**) em função do número de replicatas analisadas.

Quadro 1. Valores críticos para o teste de Grubbs ($\alpha = 0,05$)

<i>n</i>	5% de Significância
3	1,15
4	1,48
5	1,71
6	1,89
7	2,02
8	2,13

Fonte: Albano; Raya-Rodriguez (2015)

Também foi calculado o coeficiente de variação (CV%) para cada ponto da curva analítica, utilizando-se as respostas analíticas obtidas como critério de repetibilidade. Posteriormente, foram determinados os resíduos da regressão linear, calculados pela diferença entre os valores teóricos estimados pela regressão e as respostas analíticas experimentais obtidas. A avaliação da linearidade foi complementada pela análise do perfil dos resíduos, visando verificar a distribuição aleatória dos pontos ao longo da faixa de trabalho, bem como a ausência de tendências ou erros sistemáticos.

Os tratamentos estatísticos e a construção da curva analítica foram realizados utilizando o Microsoft Excel.

3.6.3 Exatidão do método

A exatidão do método foi avaliada por meio da comparação entre o método normalizado empregado pelo laboratório (ABNT NBR 12620:1992) e o método não normalizado, baseado em DMP. Para essa avaliação, foram preparadas e analisadas dez amostras homogêneas, pertencentes de diferentes matrizes de interesse e naturalmente contaminadas com nitrato, sendo todas analisadas por ambos os métodos. Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente utilizando o software Microsoft Excel, conforme descrito por Albano e Raya-Rodriguez (2015).

Inicialmente, foi calculada a variância amostral para cada conjunto de resultados por meio da **Equação 2**:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x - \bar{x})^2}{n-1} \quad (2)$$

onde,

s^2 = variância amostral;

x_i = valor individual obtido experimentalmente;

$\bar{x}$ = média aritmética dos resultados;

n = número de determinações realizadas.

Posteriormente, aplicou-se o teste t de *Student* para verificar se existiam diferenças estatisticamente significativas entre os resultados obtidos pelos dois métodos, conforme apresentado na **Equação 3**:

$$t = \frac{|\bar{x}_A - \bar{x}_B|}{\sqrt{\frac{s_A^2 + s_B^2}{n}}} \quad (3)$$

onde,

$\bar{x}_A$ e $\bar{x}_B$ = médias obtidas pelos métodos A e B;

s_A^2 e s_B^2 = variâncias dos métodos A e B;

n = número de replicatas.

Os graus de liberdade foram calculados pela expressão $(2n-2)$, resultando em 18 graus de liberdade. Foram estabelecidas as hipóteses do teste t com a finalidade de comparar os métodos normalizado e não normalizado. A hipótese nula (H_0) considerou a inexistência de diferença significativa entre os métodos, assumindo equivalência estatística entre eles, enquanto a hipótese alternativa (H_1) considerou a existência de diferença significativa (Albano; Raya-Rodriguez, 2015).

O valor de $t_{calculado}$ foi comparado ao valor de $t_{tabelado}$ (2,10092) obtido a partir da distribuição t de *Student*, adotando-se nível de confiança de 95%, para verificação da aceitação ou rejeição da hipótese nula.

3.6.4 Limite de quantificação do método (LQM)

O limite de quantificação do método (LQM) corresponde à menor concentração de analito que pode ser determinada quantitativamente com níveis aceitáveis de precisão e exatidão (INMETRO, 2020). O LQM foi determinado a partir da análise de sete replicatas de amostras contendo baixas concentrações do analito, conforme descrito por Albano e Raya-Rodriguez (2015).

Inicialmente, foram realizadas diluições sucessivas da solução padrão, utilizando-se concentrações correspondentes ao menor ponto da curva analítica ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$), bem como concentrações de $0,3$ e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$, com o objetivo de verificar o atendimento aos critérios de aceitação estabelecidos pelo laboratório para desvio padrão relativo ($\text{DPR} \leq 20\%$), exatidão (80 a 120%) e recuperação do analito (50 a 150%).

Posteriormente, foram calculados a média e o desvio padrão dos resultados obtidos, sendo o LQM estimado por meio da **Equação 4**. Dessa forma, o LQM foi definido como a menor concentração que apresentou conformidade simultânea com todos os critérios analíticos adotados pelo laboratório:

$$LQM = \bar{x} + 5s \quad (4)$$

onde:

$\bar{x}$ = média das replicatas;
 s = desvio padrão.

3.6.5 Limite de detecção do método (LDM)

O limite de detecção do método (LDM) corresponde à menor concentração de analito que pode ser detectada, embora não necessariamente quantificada, nas condições estabelecidas para o ensaio (INMETRO, 2020). A determinação inicial desse parâmetro foi realizada de forma análoga à empregada para o LQM, utilizando-se sete replicatas de amostras em branco, constituídas por água deionizada isenta de nitrato e fortificada nas concentrações de $0,5$, $0,3$ e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de N-NO_3^- , atendendo os mesmos critérios internos de aceitação adotados pelo laboratório.

Após o cálculo do desvio padrão das replicatas, consultou-se a tabela *t* de *Student* unilateral, adotando-se nível de confiança de 99% e 6 graus de liberdade ($n-1$), obtendo-se valor de *t* igual a 3,143. Esse valor foi utilizado na **Equação 5** para a determinação do parâmetro analítico:

$$LDM = t \cdot s \quad (5)$$

onde,

t = valor da tabela Teste *t Student*;
 s = desvio padrão.

3.6.6 Comparações interlaboratoriais

O documento orientativo do CGCRE estabelece distinção entre as comparações interlaboratoriais empregadas em programas de ensaios de proficiência (PEP), destinados à avaliação do desempenho dos laboratórios participantes, e aquelas aplicadas a outras finalidades analíticas. Entre essas finalidades destacam-se a avaliação da eficácia e da comparabilidade de novos métodos de ensaio ou medição, o monitoramento de métodos já estabelecidos e a determinação das características de desempenho analítico, sendo essas aplicações frequentemente denominadas estudos colaborativos (INMETRO, 2020).

Para a avaliação estatística dos resultados das comparações interlaboratoriais, utilizou-se o score z, ferramenta amplamente empregada na análise do desempenho de laboratórios participantes em ensaios de proficiência. O cálculo do Z-score foi realizado conforme a **Equação 6**:

$$Z = \frac{(X_{lab} - X_V)}{s} \quad (6)$$

onde,

X_{lab} = média aritmética obtida pelo laboratório participante;

X_V = valor admitido como verdadeiro;

s = desvio padrão do ensaio de proficiência.

3.6.7 Estudo formal de repetibilidade e reprodutibilidade (R&R)

De acordo com Albano e Raya-Rodriguez (2015), o estudo formal da repetibilidade e reprodutibilidade, também denominado estudo da média e amplitude, permite decompor as fontes de variabilidade associadas ao método analítico, possibilitando identificar as principais contribuições relacionadas às variações observadas durante a execução do ensaio.

Para a avaliação da repetibilidade e da reprodutibilidade do método, dois analistas realizaram a análise, em duplicata, de dez amostras, sob condições previamente estabelecidas pelo laboratório, com o objetivo de avaliar a precisão do método tanto em condições de repetição quanto em condições de variação entre analistas. Posteriormente, os dados obtidos foram tratados e analisados utilizando o

software Microsoft Excel. A adequação da variação associada ao estudo de R&R foi avaliada conforme os critérios descritos por Albano e Raya-Rodriguez (2015), apresentados no **Quadro 2**.

Quadro 2. Faixa de aceitação para o estudo de R&R

R&R (%)	Interpretação
< 10%	Aceitável
10 até 30%	Até pode ser aceito, mas necessita melhorias
> 30%	Inaceitável

Fonte: Albano; Raya-Rodriguez (2015)

3.6.8. Elaboração da planilha de custos

A planilha de custos foi elaborada utilizando o software Microsoft Excel® para determinar o custo direto da análise de NO_3^- por AFD e DMP. Sua estrutura foi dividida em duas seções, sendo a primeira voltada ao preparo das soluções empregadas no método correspondente. A segunda avalia itens diretamente relacionados ao ensaio, reunindo materiais consumíveis, mão de obra, descarte dos resíduos gerados, consumo de energia elétrica, calibrações de equipamentos e demais custos operacionais envolvidos na execução da análise.

Para cada item foram registrados a categoria, a quantidade adquirida, a unidade de medida, o custo de aquisição e a quantidade efetivamente consumida por amostra. O custo unitário por amostra foi obtido por meio da relação entre a quantidade utilizada pela quantidade adquirida, conforme **Equação 7**:

$$C_{\text{amostra}} = \frac{Q_{\text{utilizada}}}{Q_{\text{adquirida}}} \times C_{\text{aquisição}} \quad (7)$$

onde,

C_{amostra} = custo do insumo por análise (R\$);

$Q_{\text{utilizada}}$ = quantidade de insumo utilizado por amostra;

$Q_{\text{adquirida}}$ = quantidade total de insumo adquirido;

$C_{\text{aquisição}}$ = custo total do insumo (R\$).

Ao final, o custo total do ensaio foi determinado pela soma dos custos individuais de todos os reagentes, padrões, consumíveis, mão de obra, descarte de resíduos, energia elétrica e custos de calibração dos instrumentos, resultando no custo direto por amostra.

3.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS E DE SEGURANÇA

Durante a execução das atividades laboratoriais, foram rigorosamente observadas as normas de biossegurança e segurança química aplicáveis ao manuseio de reagentes e amostras. Todas as etapas experimentais foram realizadas com utilização obrigatória de equipamentos de proteção individual (EPIs), incluindo jaleco, luvas e óculos de proteção.

Os resíduos gerados durante as atividades experimentais foram segregados, identificados e destinados adequadamente pelo LAPAM, por intermédio do Setor de Gerenciamento Ambiental (SEAMB), em conformidade com as normas e a legislação ambiental vigente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação de nitrato foi realizada utilizando metodologia análoga à norma DIN 38405-9, empregando *kit* de testes prontos para análise fotométrica. A fim de avaliar a confiabilidade do procedimento analítico, foi conduzido o processo de validação do método, com base nas orientações descritas no documento DOQ-CGCRE-008 e no Guia Prático Validação e Garantia da Qualidade (Albano; Raya-Rodriguez, 2015).

Foram avaliados parâmetros de desempenho analítico, como seletividade, linearidade, LDQ e LQM, precisão e exatidão, cujos resultados são apresentados e discutidos nas subseções a seguir.

Os ensaios de validação foram realizados utilizando matrizes de água bruta, água tratada e água residual. Para os estudos de exatidão, repetibilidade e reprodutibilidade, foram empregadas amostras selecionadas aleatoriamente e identificadas por numeração de 1 a 20. Já para os ensaios de seletividade, foi utilizada uma única amostra representativa de cada matriz. Todas as amostras foram preparadas em laboratório exclusivamente para fins de avaliação e validação metodológica.

4.1 SELETIVIDADE E EFEITO DA MATRIZ

A seletividade do método foi avaliada a partir da análise de soluções padrão de nitrato nas concentrações de 0,5; 5; 10; 15; 20 e 25 mg L⁻¹, na ausência e na presença das matrizes de interesse (água bruta, água tratada e água residual), em ensaios realizados em triplicata. O objetivo foi verificar a possível influência de interferentes presentes nas matrizes sobre a resposta analítica do método.

Dessa forma, a seletividade foi investigada para as três matrizes de interesse por meio da comparação entre as curvas analíticas obtidas na presença das matrizes e aquela obtida na ausência de matriz. Os resultados experimentais encontram-se apresentados nas **Tabelas 3 a 6**.

Tabela 3. Resultados obtidos para a avaliação da seletividade na ausência de matriz

Concentração ou quantidade (mg L ⁻¹)	Resultados das vias sem a presença da matriz (u. a.)			Média	Desvio padrão	Variância
	1	2	3			
0,5	0,035	0,055	0,045	0,045	0,010	0,0001000
5	0,354	0,371	0,363	0,363	0,009	0,0000723
10	0,711	0,731	0,720	0,721	0,010	0,0001003
15	1,073	1,095	1,080	1,083	0,011	0,0001263
20	1,425	1,448	1,437	1,437	0,012	0,0001323
25	1,783	1,801	1,790	1,791	0,009	0,0000823
Média das variâncias						0,0001023
R ²						0,99999

Fonte: autora (2026)

Tabela 4. Resultados obtidos para a avaliação da seletividade na presença da matriz de água bruta

Concentração ou quantidade (mg L ⁻¹)	Resultados das vias com a presença da matriz de água bruta (u. a.)			Média	Desvio padrão	Variância
	1	2	3			
0,5	0,093	0,092	0,087	0,091	0,003	0,0000103
5	0,409	0,413	0,406	0,409	0,004	0,0000123
10	0,769	0,775	0,772	0,772	0,003	0,0000090
15	1,125	1,131	1,129	1,128	0,003	0,0000093
20	1,477	1,483	1,485	1,482	0,004	0,0000173
25	1,823	1,824	1,832	1,826	0,005	0,0000243
Média das variâncias						0,0000138
R ²						0,99994

Fonte: autora (2026)

Tabela 5. Resultados obtidos para a avaliação da seletividade na presença da matriz de água tratada

Concentração ou quantidade (mg L ⁻¹)	Resultados das vias com a presença da matriz de água tratada (u. a.)			Média	Desvio padrão	Variância
	1	2	3			
0,5	0,062	0,069	0,059	0,063	0,005	0,0000263
5	0,397	0,407	0,397	0,400	0,006	0,0000333
10	0,756	0,767	0,757	0,760	0,006	0,0000370
15	1,123	1,134	1,124	1,127	0,006	0,0000370
20	1,474	1,489	1,479	1,481	0,008	0,0000583
25	1,838	1,845	1,835	1,839	0,005	0,0000263
Média das variâncias						0,0000364
R ²						0,99994

Fonte: autora (2026)

Tabela 6. Resultados obtidos para a avaliação da seletividade na presença da matriz de água residual

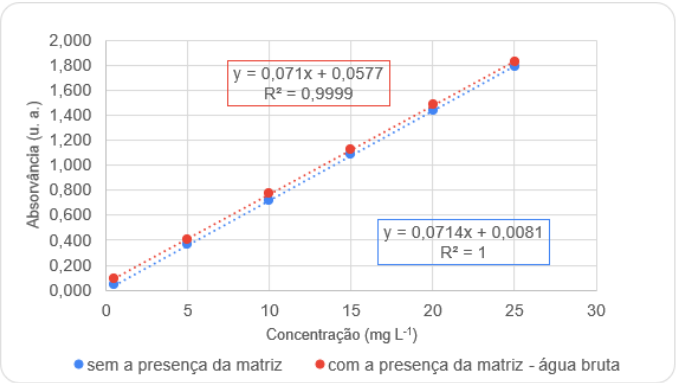
Concentração ou quantidade (mg L ⁻¹)	Resultados das vias com a presença da matriz de água residual (u. a.)			Média	Desvio padrão	Variância
	1	2	3			
0,5	0,056	0,058	0,060	0,058	0,002	0,0000040
5	0,398	0,404	0,407	0,403	0,005	0,0000210
10	0,763	0,765	0,771	0,766	0,004	0,0000173
15	1,125	1,128	1,134	1,129	0,005	0,0000210
20	1,486	1,487	1,492	1,488	0,003	0,0000103
25	1,838	1,840	1,860	1,846	0,012	0,0001480
Média das variâncias						0,0000369
R ²						0,99989

Fonte: autora (2026)

A partir dos dados experimentais, realizou-se a regressão linear utilizando as médias das respostas analíticas obtidas na ausência e na presença das matrizes de interesse, com a finalidade de avaliar o paralelismo entre as curvas analíticas. A

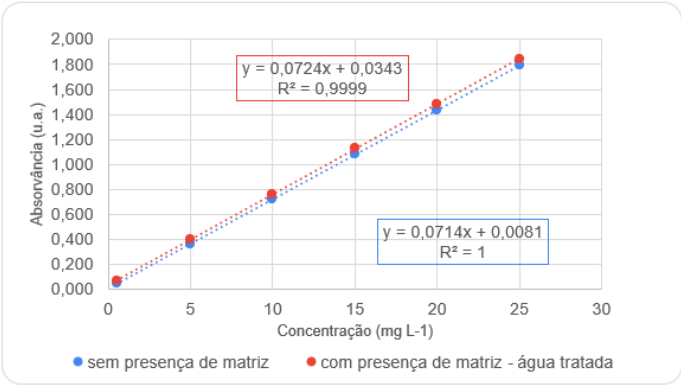
comparação foi realizada individualmente para cada matriz avaliada, conforme apresentado nas **Figuras 13 a 15**.

Figura 13. Regressão linear obtida na ausência e presença da matriz de água bruta



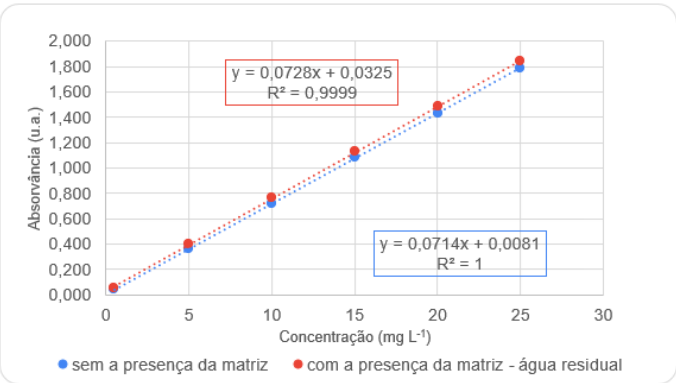
Fonte: autora (2026)

Figura 14. Regressão linear obtida na ausência e presença da matriz de água tratada



Fonte: autora (2026)

Figura 15. Regressão linear obtida na ausência e presença da matriz de água residual



Fonte: autora (2026)

Ao comparar as curvas analíticas obtidas para as matrizes, observou-se que paralelismo entre as curvas construídas na ausência e na presença de matriz, indicando ausência de interferências significativas capazes de comprometer a resposta analítica do método. Esses resultados sugerem que o método apresenta seletividade adequada para a determinação de nitrato nas matrizes avaliadas.

Adicionalmente, aplicou-se o teste F com a finalidade de comparar as variâncias entre as curvas analíticas e verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os conjuntos de dados, conforme apresentado na **Figura 16**.

Figura 16. Teste F realizado nas matrizes de interesse

Água bruta F calculado = variância maior/variância menor			Água tratada F calculado = variância maior/variância menor			Água residual F calculado = variância maior/variância menor		
F calculado =		7,42	F calculado =		2,81	F calculado =		2,77
F tabelado = (n-1) graus de liberdade e alfa = 0,05			F tabelado = (n-1) graus de liberdade e alfa = 0,05			F tabelado = (n-1) graus de liberdade e alfa = 0,05		
F tabelado =	n-1 = 3-1	19,00	F tabelado =	n-1 = 3-1	19,00	F tabelado =	n-1 = 3-1	19,00
Critérios de avaliação do estudo:			Critérios de avaliação do estudo:			Critérios de avaliação do estudo:		
Coeficiente de determinação = $R^2 > 0,99$			Coeficiente de determinação = $R^2 > 0,99$			Coeficiente de determinação = $R^2 > 0,99$		
F calculado < F tabelado =		não existe diferença significativa entre a variabilidade das análises.	F calculado < F tabelado =		não existe diferença significativa entre a variabilidade das análises.	F calculado < F tabelado =		não existe diferença significativa entre a variabilidade das análises.
Conclusão:		teste válido	Conclusão:		teste válido	Conclusão:		teste válido

Fonte: autora (2026)

De forma geral, os valores de $F_{\text{calculado}}$ foram inferiores aos respectivos valores de F_{tabelado} (**Tabela 2**), indicando ausência de diferenças significativas entre as variâncias avaliadas. Observou-se também comportamento linear em toda a faixa de concentração estudada, tanto na ausência quanto na presença das matrizes, com coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,99 em todos os casos. Esses resultados demonstram que a presença das matrizes avaliadas não promoveu interferências significativas na resposta analítica do método, corroborando sua seletividade para a determinação de nitrato em amostras de água bruta, tratada e residual.

Resultados semelhantes são reportados na literatura para métodos colorimétricos aplicados à determinação de nitrato, nos quais a presença de matéria orgânica, íons dissolvidos e outros interferentes pode influenciar a resposta analítica, sem necessariamente comprometer a aplicabilidade do método. Coviello et al. (2020), ao avaliarem nitrato em alimentos, observaram que o efeito matriz pode ocasionar

alterações nas respostas analíticas, evidenciadas por diferenças entre curvas obtidas com e sem matriz. Entretanto, $R^2 > 0,99$ indicaram manutenção da linearidade e da seletividade do método para as matrizes analisadas.

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que, mesmo na presença das matrizes avaliadas, o método apresentou seletividade adequada para a determinação de nitrato, não sendo observadas interferências capazes de inviabilizar sua aplicação. Ainda assim, os possíveis efeitos de matriz foram considerados na interpretação dos resultados experimentais.

4.2 LINEARIDADE

A avaliação da linearidade foi realizada em triplicata, ao longo da faixa de trabalho estabelecida pelo fabricante do *kit* analítico, utilizando-se seis concentrações de solução padrão de nitrato (0,5; 5; 10; 15; 20 e 25 mg L⁻¹), conforme apresentado na **Tabela 7**.

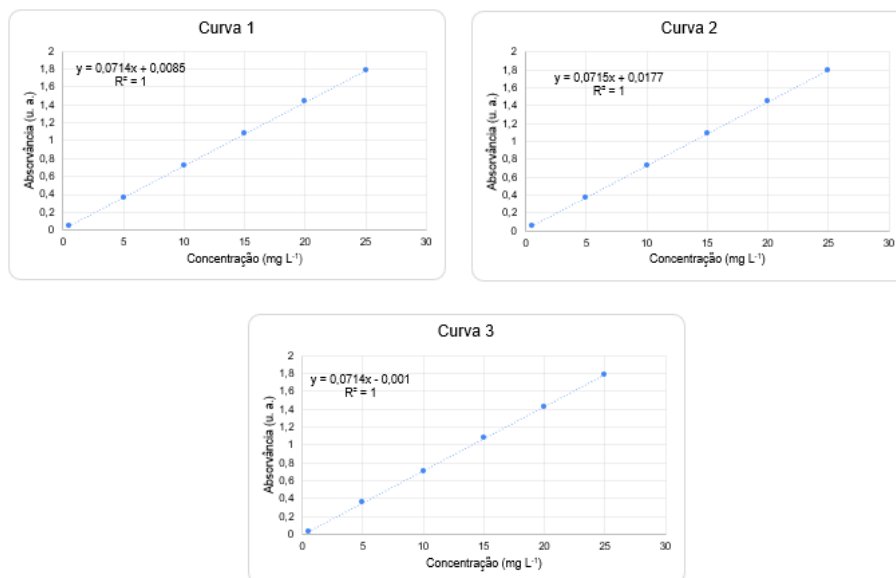
Tabela 7. Valores experimentais obtidos para a avaliação da linearidade do método

Padrão (mg L ⁻¹)	Absorvância (u. a.)		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
0,5	0,045	0,055	0,035
5	0,363	0,371	0,354
10	0,721	0,731	0,711
15	1,086	1,095	1,078
20	1,436	1,448	1,425
25	1,792	1,801	1,783

Fonte: autora (2026)

A partir dos resultados experimentais, realizou-se a regressão linear das três curvas analíticas, com o objetivo de verificar se os parâmetros de aceitação se encontravam em conformidade com os critérios estabelecidos por Albano e Raya-Rodriguez (2015). As curvas analíticas obtidas encontram-se apresentadas na **Figura 17**.

Figura 17. Curvas analíticas obtidas para a avaliação da linearidade do método

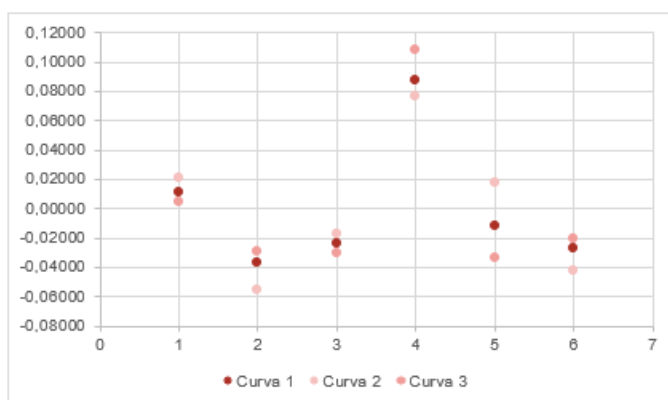


Fonte: autora (2026)

A linearidade do método foi avaliada por meio de R^2 , o qual, de acordo com Albano e Raya-Rodriguez (2015), deve apresentar valor igual ou superior a 0,9945. Observou-se que as três curvas analíticas apresentaram R^2 satisfatórios, indicando adequada relação linear entre concentração e resposta analítica ao longo da faixa de trabalho estudada.

Adicionalmente, avaliou-se a distribuição dos resíduos das curvas analíticas, com a finalidade de verificar a adequação do modelo linear empregado. A **Figura 18** apresenta os resíduos obtidos para as curvas analíticas avaliadas.

Figura 18. Distribuição dos resíduos das curvas analíticas utilizadas na avaliação da linearidade



Fonte: autora (2026)

Observando o gráfico de resíduos, verifica-se que os pontos apresentam distribuição predominantemente aleatória em torno do eixo zero, sem tendências sistemáticas evidentes, indicando que o modelo linear é adequado para descrever a relação entre concentração e resposta analítica na faixa estudada.

Os dados experimentais também foram avaliados quanto à presença de valores discrepantes por meio do teste de Grubbs, considerando nível de confiança de 95%. Nenhum dos resultados apresentou valor de $G_{\text{calculado}}$ superior ao valor crítico tabelado para $n = 3$ ($G = 1,15$), indicando ausência de valores discrepantes (*outliers*) nas replicatas analisadas, como mostra a **Tabela 8**.

Tabela 8. Resultados obtidos para o teste de Grubbs aplicado às curvas analíticas

Concentração (mg L ⁻¹)	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 3	Média	Desvio padrão	G calculado
0,5	0,045	0,055	0,035	0,045	0,010	1,000
5	0,363	0,371	0,354	0,363	0,009	1,019
10	0,721	0,731	0,711	0,721	0,010	1,000
15	1,086	1,095	1,078	1,086	0,009	0,980
20	1,436	1,448	1,425	1,436	0,012	0,985
25	1,792	1,801	1,783	1,792	0,009	1,000

Fonte: autora (2026)

Resultados semelhantes são reportados na literatura para métodos espectrofotométricos aplicados à determinação de nitrato. Nugraha e Ridwan (2019), ao validarem um método baseado na redução de cádmio associada à espectrofotometria, observaram elevado coeficiente de determinação ($R^2 = 0,999$). Entretanto, os autores reportaram faixa linear limitada a concentrações de até 5 mg L⁻¹.

Em comparação, o método validado no presente estudo apresentou linearidade adequada em uma faixa analítica mais ampla, estendendo-se até 25 mg L⁻¹. Essa característica amplia o potencial de aplicação do método, especialmente no monitoramento de águas com maiores cargas de matéria orgânica e amostras de efluentes.

4.3 EXATIDÃO DE MÉTODO

A exatidão do método foi avaliada por meio da comparação entre o método normalizado baseado em ácido fenoldissulfônico (Método A – AFD) e o método não normalizado baseado em DMP (Método B – DMP). Os resultados obtidos para ambas as metodologias se encontram apresentados na **Tabela 9**.

Tabela 9. Valores obtidos nas amostras no método A e B

Amostra	Método A	$(\bar{x}_A - x_a)^2$	Método B	$(\bar{x}_B - x_b)^2$
1	0,09	4,21	0,19	7,59
2	2,59	0,20	3,72	0,60
3	0,93	1,47	3,56	0,38
4	0,2	3,77	0,54	5,78
5	0,4	3,03	0,48	6,08
6	3,9	3,09	4,49	2,39
7	0,04	4,42	0,16	7,76
8	0,18	3,85	0,36	6,68
9	9,64	56,22	11,67	76,13
10	3,45	1,71	4,28	1,78
Soma	-	81,98	-	115,16
	Média $\bar{x}_A$	2,14	Média $\bar{x}_B$	2,95
	s^2_A	9,11	s^2_B	12,80
	s_A	3,02	s_B	3,58

Fonte: autora (2026)

A partir dos dados experimentais, os valores obtidos foram substituídos na **Equação 3** para aplicação do teste t de *Student*, resultando em $t_{\text{calculado}} = 0,543$. Esse valor foi comparado ao valor de $t_{\text{tabelado}} = 2,1$, considerando nível de confiança de 95%. Como o valor de $t_{\text{calculado}}$ foi inferior ao valor de t_{tabelado} , não houve evidência estatística para rejeição da hipótese nula (H_0), indicando ausência de diferença significativa entre os resultados obtidos pelos métodos avaliados.

Esses resultados demonstram que o método baseado em DMP apresentou desempenho analítico comparável ao método normalizado baseado em ácido

fenoldissulfônico para a determinação de nitrato nas amostras analisadas, evidenciando adequada exatidão dentro das condições experimentais empregadas.

4.4 LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LQM) E DETECÇÃO (LDM)

Para a determinação do limite de quantificação do método (LQM) e do limite de detecção do método (LDM), utilizaram-se os dados obtidos a partir da análise de sete replicatas em branco com adição de padrão de nitrato, iniciando-se pelo menor ponto da curva analítica (0,5 mg L⁻¹). Os resultados obtidos para essa condição experimental encontram-se apresentados na **Tabela 10**.

Tabela 10. Resultados obtidos para a avaliação do ponto de 0,5 mg L⁻¹ utilizado na determinação do LQM e LDM

Menor ponto da curva de calibração (0,5 mg L ⁻¹)	Absorvância (u. a.)	Concentração (mg L ⁻¹)
1	0,05	0,581
2	0,041	0,455
3	0,044	0,497
4	0,044	0,497
5	0,047	0,539
6	0,046	0,525
7	0,044	0,497
Média		0,5131
Desvio padrão		0,04
Exatidão		102,62%
RSD %		7,79%
Recuperação da adição analito		102,62

Fonte: autora (2026)

Observou-se que os valores de exatidão, desvio padrão relativo (RSD%) e recuperação do analito atenderam aos critérios de aceitação estabelecidos por Albano

e Raya-Rodriguez (2015). Dessa forma, prosseguiu-se com a avaliação da diluição de 0,3 mg L⁻¹, conforme apresentado na **Tabela 11**.

Tabela 11. Resultados obtidos para a avaliação da diluição de 0,3 mg L⁻¹

Diluição:	Absorvância	Concentração
(0,3 mg L ⁻¹)	(u. a.)	(mg L ⁻¹)
1	0,032	0,329
2	0,031	0,315
3	0,032	0,329
4	0,034	0,357
5	0,036	0,385
6	0,032	0,329
7	0,036	0,385
Média		0,347
Desvio padrão		0,029
Exatidão		115,70%
RSD %		8,31%
Recuperação da adição analito		115,69

Fonte: autora (2026)

Para essa diluição, os valores obtidos também atenderam aos critérios de aceitação para exatidão, RSD% e recuperação do analito. Assim, procedeu-se à avaliação da diluição de 0,2 mg L⁻¹, conforme apresentado na **Tabela 12**.

Para a diluição de 0,2 mg L⁻¹, os critérios de aceitação estabelecidos não foram atendidos, uma vez que os valores de exatidão e RSD% permaneceram fora dos limites recomendados para validação analítica. Observou-se aumento significativo da variabilidade experimental, evidenciado principalmente pelo elevado valor de RSD% (49,77%), indicando comprometimento da precisão analítica nessa faixa de concentração.

Dessa forma, para a determinação do LQM e do LDM, optou-se pela utilização dos dados apresentados na **Tabela 11**, correspondentes à menor concentração que apresentou conformidade simultânea com todos os critérios de aceitação adotados. Substituindo-se os valores na **Equação 4**, obteve-se um valor de LQM de 0,5 mg L⁻¹,

o demonstra que o método é capaz de quantificar nitrato com precisão e exatidão adequadas nessa faixa de concentração. Já para o cálculo do LDM, os valores foram substituídos na **Equação 5**, obtendo-se um valor de aproximadamente 0,1 mg L⁻¹.

Tabela 12. Valores obtidos para diluição de 0,2 mg L⁻¹

Diluição: (0,2 mg L ⁻¹)	Absorvância (u. a.)	Concentração (mg L ⁻¹)
1	0,042	0,469
2	0,046	0,525
3	0,027	0,259
4	0,028	0,273
5	0,03	0,301
6	0,012	0,049
7	0,03	0,301
Média		0,3111
Desvio padrão		0,1548
Exatidão		155,53%
RSD %		49,77%
Recuperação da adição analito		155,53

Fonte: autora (2026)

A análise comparativa dos LQMs obtidos nesse estudo revela diferenças importantes em relação às metodologias descritas na literatura. No estudo de Nugraha e Ridwan (2019), o método espectrofotométrico por redução de cádmio atingiu um LQ inferior a 0,1 mg L⁻¹, enquanto Coviello et al. (2020), utilizando CI, obtiveram limites ainda menores, visando à detecção de concentrações traço de nitrato.

Em contraste, o método baseado no *kit* comercial validado apresentou um LQM de 0,5 mg L⁻¹. Embora esse valor seja numericamente superior aos observados em métodos instrumentais de alta sensibilidade, o desempenho obtido mostra-se plenamente adequado para aplicações de monitoramento ambiental e controle da qualidade da água. Considerando o limite máximo permitido de 10 mg L⁻¹ de N-NO₃⁻ para água destinada ao consumo humano, estabelecido pela Portaria GM/MS nº 888/2021, o LQM obtido encontra-se significativamente abaixo do valor regulatório,

demonstrando adequada sensibilidade para aplicações de monitoramento da qualidade da água.

Assim, embora os métodos descritos na literatura apresentam maior sensibilidade analítica para determinação de concentrações ultra traço, o *kit* validado neste estudo demonstrou adequada robustez, precisão e aplicabilidade prática para análises de rotina, aliando simplicidade operacional à confiabilidade estatística necessária para monitoramento ambiental.

4.5 COMPARAÇÃO INTERLABORATORIAL

Com o objetivo de avaliar o desempenho analítico do método e a confiabilidade dos resultados obtidos, realizou-se a participação em ensaio interlaboratorial, utilizando amostra com valor designado conhecido pelo programa de proficiência. Os resultados obtidos pelo laboratório foram avaliados quanto à exatidão e à concordância em relação ao valor de referência fornecido pelo programa, por meio da determinação da média das replicatas e do cálculo do Z-score (**Equação 6**), parâmetro amplamente empregado na avaliação de desempenho em ensaios de proficiência. Os resultados obtidos encontram-se apresentados na **Tabela 13**.

Tabela 13. Resultados obtidos na comparação interlaboratorial e cálculo do Z-score

Repetições da amostra	Resultados	Desvio padrão	Z-score
Resultado 1	11,87	0,113	0,20
Resultado 2	11,67		
Resultado 3	11,68		
Média dos resultados	11,74		
XPT = Valor Designado como Referência (programa)			11,48
σPT =desvio designado (programa)			1,27
Critério de avaliação: Z ≤ 2: resultado satisfatório; 2 < Z < 3: resultado questionável; Z ≥ 3: resultado insatisfatório.			

Fonte: autora (2026)

O valor de Z-score calculado foi de aproximadamente 0,20, sendo classificado como satisfatório segundo os critérios adotados para ensaios de proficiência ($|Z| \leq 2$). Esse resultado evidencia adequada exatidão analítica e elevada concordância entre os resultados obtidos pelo laboratório e o valor designado pelo programa interlaboratorial. Além disso, os resultados obtidos demonstram que o método validado apresentou desempenho analítico compatível com metodologias empregadas rotineiramente em laboratórios de referência, reforçando sua confiabilidade para aplicações de monitoramento da qualidade da água.

Como parâmetro comparativo, dentre os 28 laboratórios participantes do programa, três apresentaram resultados classificados como insatisfatórios. Entre os métodos empregados por esses laboratórios estavam CI, espectrofotometria UV e diferentes metodologias colorimétricas, incluindo AFD, salicilato de sódio e coluna de cádmio. Esses resultados evidenciam que o desempenho analítico satisfatório não depende exclusivamente da complexidade instrumental do método empregado, mas também do adequado controle das etapas analíticas, calibração, preparo das amostras e execução experimental.

4.6 ESTUDO FORMAL DE REPETIBILIDADE E REPRODUTIBILIDADE (R&R)

Com o objetivo de avaliar a precisão intermediária do método, utilizou-se o estudo formal de repetibilidade e reprodutibilidade (R&R), considerando análises executadas por dois analistas distintos e sob diferentes condições experimentais. Foram realizadas determinações em duplicata de dez amostras naturalmente contaminadas com nitrato, sendo os resultados avaliados estatisticamente quanto à variabilidade intralaboratorial, conforme descrito por Albano e Raya-Rodriguez (2015). Os dados obtidos foram utilizados para determinação dos parâmetros de repetibilidade e reprodutibilidade do método, permitindo avaliar a concordância entre os resultados analíticos gerados nas diferentes condições estudadas. Esses resultados experimentais encontram-se apresentados no **Apêndice A**.

O estudo formal de repetibilidade e reprodutibilidade apresentou valor de R&R igual a 0,36%, indicando baixa variabilidade entre os resultados obtidos nas diferentes condições avaliadas. De acordo com os critérios apresentados na **Figura 14**, valores

inferiores a 10% são considerados aceitáveis, evidenciando adequada precisão do método analítico.

O resultado obtido demonstra elevada concordância entre as determinações realizadas, indicando que pequenas variações operacionais, como diferenças entre analistas e condições de execução experimental, exerceram influência mínima sobre os resultados obtidos. A baixa dispersão observada também sugere adequada padronização das etapas analíticas e boa estabilidade do método durante sua aplicação.

Dessa forma, o método apresentou desempenho satisfatório quanto aos parâmetros de repetibilidade e reprodutibilidade, demonstrando capacidade de fornecer resultados consistentes, precisos e confiáveis para a determinação de nitrato na faixa de trabalho avaliada.

4.7 COMPARATIVO DE CUSTOS ENTRE O MÉTODO DE REFERÊNCIA E O TESTE COMERCIAL

Com o objetivo de avaliar a viabilidade operacional das metodologias estudadas, realizou-se uma análise comparativa de custos entre o método normalizado e o teste rápido comercial utilizado para determinação de nitrato. Os dados referentes aos custos operacionais, consumo de reagentes, tempo de análise e demais parâmetros avaliados encontram-se apresentados nos **Apêndices B e C**.

Observou-se que o método normalizado apresentou maior custo operacional associado à execução analítica (R\$ 60,59), principalmente em razão do maior tempo necessário para realização completa do ensaio, estimado em aproximadamente 3 h e 30 min. Além disso, o procedimento requer a utilização de reagentes químicos de elevada periculosidade, como ácido sulfúrico concentrado e fumegante e fenol cristal. Em contrapartida, o teste rápido permitiu a obtenção dos resultados em aproximadamente 10 min, reduzindo significativamente o tempo analítico e minimizando os riscos ocupacionais associados à manipulação de substâncias potencialmente perigosas.

Embora o custo de aquisição do *kit* comercial seja relativamente elevado, sua utilização apresenta vantagens relacionadas à praticidade operacional, rapidez analítica e maior segurança durante a execução das análises. Adicionalmente, a

redução no tempo de preparo e execução pode representar vantagem significativa em laboratórios que demandam elevada rotina analítica ou necessidade de respostas rápidas.

Dessa forma, a comparação entre as metodologias demonstra que a escolha do método analítico não deve considerar apenas os custos diretos envolvidos, mas também aspectos relacionados à segurança, tempo de análise, facilidade operacional e aplicabilidade prática em rotina laboratorial.

5 CONCLUSÕES

O presente estudo cumpriu com êxito o objetivo de validar o método espectrofotométrico baseado na reação do 2,6-dimetilfenol (DMP) para a quantificação de nitrato em amostras de água, utilizando kits de testes prontos comerciais de acordo com as diretrizes normativas do DOQ-CGCRE-008.

Os ensaios estatísticos comprovaram que o método proposto atende a todos os requisitos rigorosos de desempenho analítico necessários para uma rotina laboratorial acreditada. A seletividade e o paralelismo das curvas evidenciaram que o efeito de matriz para águas brutas, tratadas e residuais é estatisticamente insignificante. O modelo de regressão linear mostrou-se altamente robusto na faixa de trabalho de 0,5 a 25,0 mg L⁻¹, com coeficientes de determinação adequados e distribuição homogênea de resíduos.

A equivalência analítica em relação ao método clássico do ácido fenoldissulfônico (ABNT NBR 12620:1992) foi ratificada pelo teste t de *Student* ($t_{\text{calculado}} = 0,543$), demonstrando que o kit comercial fornece resultados com exatidão e confiabilidade idênticas à metodologia de referência. Embora o limite de quantificação obtido (LQM = 0,5 mg L⁻¹) seja superior a técnicas sofisticadas de alta sensibilidade como a CI, ele se mostrou satisfatório, operando bem abaixo do limite máximo de 10 mg L⁻¹ preconizado pela Portaria GM/MS nº 888/2021.

A competência técnica e precisão intermediária do método foram consolidadas pelo índice de R&R de 0,36%, o qual aponta estabilidade frente a variações de analistas e condições experimentais. Ademais, o desempenho exemplar no ensaio de proficiência interlaboratorial, culminando em um Z-score de 0,20, ratifica a aptidão do LAPAM para a inserção desse novo parâmetro em seu escopo de reconhecimento.

Sob a perspectiva operacional e de sustentabilidade laboratorial, o *kit* comercial de DMP validado demonstrou vantagens expressivas. A otimização do tempo foi o fator de maior destaque, reduzindo o tempo de ensaio em mais de 3 h por análise. Isso, somado à eliminação da necessidade de manipulação de ácidos concentrados e fumegantes e à consequente redução na geração de resíduos perigosos, resulta em um ambiente de trabalho mais seguro aos analistas e em um fluxo analítico muito mais dinâmico.

Por fim, conclui-se que a metodologia avaliada representa um avanço técnico e econômico relevante para o LAPAM, consolidando-se como uma ferramenta de alta confiabilidade, praticidade e conformidade regulatória para o monitoramento contínuo e efetivo da qualidade dos recursos hídricos.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Desenvolver o estudo de incerteza de medição para o método;
- Investigar alternativas de logística reversa junto ao fabricante dos *kits* analíticos, com o objetivo de promover a coleta, reutilização ou reciclagem de embalagens e componentes pós-consumo, reduzindo os impactos ambientais associados às atividades laboratoriais;
- Avaliar e implementar outros controles do método na rotina.

REFERÊNCIAS

3415AN. **Competence Recognition Certificate**. [S. l.: s. n.], 2024. Disponível em: https://redemetrologica.com.br/laboratorios-certificados/3415a-ucs-lapam-fq-jul26_1751050214.pdf. Acesso em: 28 set. 2025.

ABNT. **NBR 9898:2017 – Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores**. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2017.

ABNT. **NBR ISO 5667-3:2012 – Qualidade da água — Amostragem — Parte 3: Guia para a preservação e manuseio de amostras de água**. Rio de Janeiro: ABNT, 2012.

ALAH, A.; MUKHOPADHYAY, S. **Detection methods for nitrate in water: A review**. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, v. 10, p. 187–195, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2215153218301351?via%3Di> hub. Acesso em 28 set. 2025.

ALBANO, F. M.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. **Validação de métodos analíticos e controle de qualidade em laboratórios**. São Paulo: Editora Blucher, 2015. 132 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA); WATER ENVIRONMENT FEDERATION (WEF). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 24. ed. Washington, DC: APHA, 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017: requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração**. Rio de Janeiro, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Águas - Determinação de nitrato - Métodos do ácido cromotrópico e do ácido fenoldissulfônico.**, set. 1992.

ASTM INTERNATIONAL. **ASTM D3867-09: Standard Test Methods for Nitrite-Nitrate in Water**. West Conshohocken: ASTM, 2009.

BAKKER, E.; PRETSCH, E.; BÜHLMANN, P. **Selectivity of potentiometric ion sensors**. *Analytical Chemistry*, v. 72, n. 6, p. 1127–1133, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac991146n>. Acesso em: 15 abr. 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 7 mai. 2021.

CAMARGO, J. A.; ALONSO, Á. **Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment.** *Environment International*, v. 32, n. 6, p. 831–849, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0160412006000602?via%3Di> hub. Acesso em: 28 set. 2025.

CAMPOS, B. C. S.; LUCENA, L. R. F.; ALVES, R. S. **A ocorrência de nitrato e sua perspectiva de depuração no cenário de um aquífero não confinado urbano com recarga variável, nordeste do Brasil.** *Revista de Geociências do Nordeste*, v. 10, n. 2, p. 316–331, 2024. Disponível em: <https://periodicos.ufrn.br/revistadoregne/article/view/36699/19322>. Acesso em: 15 abr. 2026.

COOPER, L. **A eutrofização causa a proliferação de algas?** - Huma. Disponível em: <https://huma.us/pt-br/meio-ambiente/blog/a-eutrofizacao-causa-a-proliferacao-de-algas/>. Acesso em: 28 set. 2025.

COVIELLO, D. et al. **Validation of an Analytical Method for Nitrite and Nitrate Determination in Meat Foods for Infants by Ion Chromatography with Conductivity Detection.** *Foods*, v. 9, n. 9, p. 1238, 4 set. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods9091238>. Acesso em: 23 mai. 2026.

DANUELLO, A. et al. **TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS PRINCÍPIOS, CLASSIFICAÇÕES E APLICAÇÕES: TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS.** *Fitoquímica: potencialidades biológicas dos biomas brasileiros - Volume 2*, p. 200–214, 2022.

DOVIDAUSKAS, Sergio et al. **Concentrações de nitrato em águas de abastecimento público de 88 municípios da Rede Regional de Atenção à Saúde 13 do estado de São Paulo, Brasil.** *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 78, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.53393/rial.2019.v78.34231>. Acesso em: 15 abr. 2026.

DEK ENGENHARIA. **Sistema de água tratada.** Disponível em: <https://www.dekengenharia.com.br/sistema-agua-tratada>. Acesso em: 28 set. 2025.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. **Métodos e técnicas de tratamento de água.** 2. ed. São Carlos: Rima, 2005.

DI, H. J.; CAMERON, K. C. **Nitrate leaching in temperate agroecosystems: sources, factors and mitigating strategies.** *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v. 64, n. 3, p. 237–256, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1021471531188>. Acesso em 20 set. 2025.

DIN. DIN 38405-9: **German standard methods for the examination of water, waste water and sludge – Anions (group D) – Part 9: Spectrometric determination of nitrate (D 9).** Berlin: Beuth Verlag, 2011.

DU, X. et al. Modeling and Evaluating of Non-Point Source Pollution in a Semi-Arid Watershed: Implications for Watershed Management. *CLEAN – Soil, Air, Water*, v. 44, n. 3, p. 247–255, 18 dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/clen.201400773>. Acesso em 28 de set. 2025.

EDWARDS, A. C.; HOODA, P. S.; COOK, Y. **Determination of Nitrate in Water Containing Dissolved Organic Carbon by Ultraviolet Spectroscopy**. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 80, n. 1, p. 49–59, maio 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03067310108044385>. Acesso em: 28 set. 2025.

FEWTRELL, L. **Drinking-Water Nitrate, Methemoglobinemia, and Global Burden of Disease: A Discussion**. *Environmental Health Perspectives*, v. 112, n. 14, p. 1371–1374, out. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1289/ehp.7216>. Acesso em: 28 set. 2025.

FIORE, C. L. et al. Nitrogen fixation and nitrogen transformations in marine symbioses. *Trends in Microbiology*, v. 18, n. 10, p. 455–463, 1 out. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.07.001>. Acesso em 28 set. 2025.

GALLOWAY, J. N. et al. **Transformation of the Nitrogen Cycle: Recent Trends, Questions, and Potential Solutions**. *Science*, v. 320, n. 5878, p. 889–892, 2008. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1136674>. Acesso em 20 set. 2025.

GLEICK, P. H. **Water in Crisis: A Guide to the World's Fresh Water Resources**. Oxford: Oxford University Press, 1993.

HOWARTH, R. W. **Coastal nitrogen pollution: A review of sources and trends globally and regionally**. *Harmful Algae*, v. 8, p. 14–20, 2009. disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.015>. Acesso em: 28 set. 2025.

INMETRO – INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **DOQ-CGCRE-008: Orientações sobre Validação de Métodos Analíticos**. Revisão 09. Rio de Janeiro: INMETRO, 2020. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br>. Acesso em 28 set. 2025.

INSTITUTODELAGUAES. **Calidad del Agua Residual: ¿Cómo Afecta Nuestro Medio Ambiente y Salud?** | Instituto del Agua. Disponível em: <https://institutodelagua.es/calidad-del-agua/calidad-del-agua-residualcalidad-del-agua/>. Acesso em: 11 nov. 2025.

ISO. ISO 10304-1: **Water quality – Determination of dissolved anions by liquid chromatography of ions – Part 1: Determination of bromide, chloride, fluoride, nitrate, nitrite, phosphate and sulfate**. Geneva: International Organization for Standardization, 2007.

KENDALL, C.; MCDONNELL, J. J. (ed.). **Isotope Tracers in Catchment Hydrology**. Amsterdam: Elsevier, 1998.

KURTZ, B. E.; LANDMEYER, J. E.; CULTER, J. K. **Precipitation, submarine groundwater discharge of nitrogen, and red tides along the southwest Florida Gulf coast**. Heliyon, v. 9, n. 5, p. e16046, 1 maio 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16046>. Acesso em 28 set. 2025.

LARA, R. **Contaminação por nitrato em águas subterrâneas: estudo de caso no município de Londrina - PR**. Utfpr.edu.br, 2025. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/38230>. Acesso em: 04 set. 2025.

LAZARIN, M. **Ciclos biogeoquímicos: quais são, mapa mental**. Disponível em: <https://brasilescola.uol.com.br/biologia/ciclos-biogeoquimicos.htm#Ciclo+do+nitrog%C3%AAnio>. Acesso em: 15 set. 2025.

Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais - LAPAM. Disponível em: <https://www.ucs.br/site/tecnoucs/servicos-tecnologicos/tecnologia-e-pesquisa/laboratorio-de-analises-e-pesquisas-ambientais/>. Acesso em 28 set. 2025.

MATHEWSON, P. D. et al. **Health and economic impact of nitrate pollution in drinking water: a Wisconsin case study**. Environmental Monitoring and Assessment, v. 192, n. 11, 23 out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08652-0>. Acesso em 04 set. 2025.

INC., Metcalf And E. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. 5. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016. E-book. p.ii. ISBN 9788580555240. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788580555240/>. Acesso em: 28 set. 2025.

MUNDOGEO. **Pesquisa quantifica águas subterrâneas e destaca sua importância na Amazônia** - MundoGEO. Disponível em: <https://mundogeo.com/2019/01/14/pesquisa-quantifica-aguas-subterraneas-e-destaca-sua-importancia-na-amazonia/>. Acesso em: 11 nov. 2025.

AWA, K. et al. **Spatiotemporal variation of nitrate concentrations in soil and groundwater of an intensely polluted agricultural area**. Scientific Reports, v. 11, n. 1, 28 jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82188-2>. Acesso em: 13 abr. 2026.

NUGRAHA, W. C.; RIDWAN, Y. S. **Method validation for nitrate analysis in water using spectrophotometer visible with cadmium reduction**. Journal of Physics: Conference Series, [s. l.], v. 1402, n. 055061, p. 1-5, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1402/5/055061>. Acesso em: 26 mai. 2026.

PAERL, H. W.; OTTEN, T. G. **Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls**. Microbial Ecology, v. 65, p. 995–1010, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0159-y>. Acesso em 28 set. 2025.

PATEL, N. et al. **Nitrate contamination in water resources, human health risks and its remediation through adsorption: a focused review**. Environmental Science and Pollution Research, v. 29, n. 46, p. 69137–69152, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22377-2>. Acesso em: 28 set. 2025.

Pesticidas encontrados em até um terço de águas superficiais na Europa. Disponível em: <https://www.industriaeambiente.pt/noticias/pesticidas-encontrados-ate-um-terco-aguas-superficiais-europa/>. Acesso em 11 nov. 2025.

POSSAS, Marcelo. **Distribuição da água na Terra**. *Fonte Hídrica*, 3 nov. 2011. Disponível em: <https://fontehidrica.blogspot.com/2011/11/distribuicao-da-agua-na-terra.html>. Acesso em: 9 jul. 2026

RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, C. C. S.; CAVALHEIRO, É. T. G. Determinação de nitrito em águas utilizando extrato de flores. *Química Nova*, v. 29, n. 5, p. 1114–1120, out. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000500037>. Acesso em 28 set. 2025.

RIVETT, M. O. et al. **Nitrate attenuation in groundwater: A review of biogeochemical controlling processes**. *Water Research*, v. 42, n. 16, p. 4215–4232, out. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.07.020>. Acesso em: 04 set. 2025.

REBOUÇAS, A. DA C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. **Águas doces no Brasil: Capital ecológico, uso e conservação**. 3. ed. São Paulo: [s.n.]. p. 748

SEBILO, M. et al. **Long-term fate of nitrate fertilizer in agricultural soils**. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 110, n. 45, p. 18185–18189, 21 out. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1305372110>. Acesso em: 13 abril 2026.

SCHULLEHNER, J. et al. **Nitrate in drinking water and colorectal cancer risk: A nationwide population-based cohort study**. *International Journal of Cancer*, v. 143, n. 1, p. 73-79, 23 fev. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ijc.31306>. Acesso em: 04 set. 2025.

SHRIMALI, M.; SINGH, K. P. **New methods of nitrate removal from water**. *Environmental Pollution*, v. 112, p. 351–359, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00147-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00147-0). Acesso em: 13 abril 2026.

SIGMA-ALDRICH. **Photometric determination of nitrate in effluents**. 2023. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/technical-documents/technical-article/analytical-chemistry/photometry-and-reflectometry/photometric-determination-of-nitrate-in-effluents>. Acesso em: 28 set. 2025.

SMITH, V. H.; SCHINDLER, D. W. **Eutrophication science: where do we go from here?** *Trends in Ecology & Evolution*, v. 24, n. 4, p. 201–207, abr. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.11.009>. Acesso em: 04 set. 2025.

SPERLING, M. V. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4. ed. Belo Horizonte: [s.n.]. p. 452.

SPIRO, T. G.; STIGLIANI, W. M. **Química ambiental**. 2. ed. São Paulo, SP: Pearson, 2008. E-book. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 04 set. 2025.

SU, X.; WANG, H.; ZHANG, Y. **Health Risk Assessment of Nitrate Contamination in Groundwater: A Case Study of an Agricultural Area in Northeast China**. *Water Resources Management*, v. 27, n. 8, p. 3025–3034, 6 abr. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11269-013-0330-3>. Acesso em: 28 set. 2025.

THOMPSON, H. S. **On the adsorbent power of soils**. *Journal of the Royal Agricultural Society of England*, v. 11, p. 68–74, 1850.

TORRES, K. Y. C. et al. **Recentes avanços e novas perspectivas dos eletrodos íon-seletivos**. *Química Nova*, v. 29, n. 5, p. 1094–1100, out. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000500033>. Acesso em: 28 set. 2025.

UEM. Universidade Estadual de Maringá. **Laboratório de Saneamento Ambiental – Análises de água**. 2023. Disponível em: <https://ctc.uem.br/lasam/analises-de-agua>. Acesso em: 28 set. 2025.

WARD, M. et al. **Drinking Water Nitrate and Human Health: an Updated Review**. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 15, n. 7, p. 1557, 23 jul. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph15071557>. Acesso em: 28 set. 2025.

WAY, J. T. **On the power of soils to absorb manure**. *Journal of the Royal Agricultural Society of England*, v. 11, p. 313–379, 1850.

WETZEL, R. G. **Limnology: Lake and River Ecosystems**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guidelines for Drinking-water Quality: Fourth Edition Incorporating the First Addendum**. Geneva: World Health Organization, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>. Acesso em 04 set. 2025.

YU, G. et al. The analysis of groundwater nitrate pollution and health risk assessment in rural areas of Yantai, China. *BMC Public Health*, v. 20, n. 1, 3 abr. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12889-020-08583-y>. Acesso em: 28 set. 2025.

ZARESEFAT, M.; HOSSEINI, S.; AHRARI ROUDI, M. **Addressing Nitrate Contamination in Groundwater: The Importance of Spatial and Temporal Understandings and Interpolation Methods**. *Water*, v. 15, n. 24, p. 4220, 7 dez. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/w15244220>. Acesso em: 28 set. 2025.

APÊNDICE A - Cálculos do estudo formal de repetibilidade e reprodutibilidade (R&R)

AMOSTRA	Operador A				Operador B				Média amostras
	1	2	Média	Amplit.	1	2	Média	Amplit.	
Amostra 11	16,77	16,85	16,81	0,08	16,85	16,73	16,79	0,13	16,80
Amostra 12	20,44	20,59	20,51	0,15	20,28	20,10	20,19	0,18	20,35
Amostra 13	8,16	8,23	8,19	0,07	8,16	8,28	8,22	0,13	8,21
Amostra 14	12,40	12,65	12,53	0,25	12,11	12,16	12,13	0,06	12,33
Amostra 15	120,94	123,04	121,99	2,10	119,09	120,21	119,65	1,12	120,82
Amostra 16	1,60	1,81	1,71	0,21	1,67	1,63	1,65	0,04	1,68
Amostra 17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Amostra 18	60,53	60,81	60,67	0,28	61,44	60,88	61,16	0,56	60,91
Amostra 19	11,90	11,97	11,93	0,07	11,77	11,81	11,79	0,04	11,86
Amostra 20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		MÉDIA	25,43	0,32		MÉDIA	25,16	0,23	

d2 para Repe	1,139
d2 para Repro	1,41
Constante 99%	5,15
n (amostras)	10
r (repetições)	2

Amplitude entre médias	0,28
Amplitude média	0,27
Amplitude entre amostras	120,82

σ_{repe}	0,24
VE	1,238

σ_{repro}	0,69
VO	0,968

Contribuição da Repe (%)	62,0
Contribuição da Repro (%)	38,0

R&R	1,57
-----	------

VARIAÇÃO TOTAL

CONSIDERANDO VT PELA TOLERÂNCIA	
Tolerância	0,8
VT	1,60
R&R (%)	98,21

CONSIDERANDO VT PELO DESVIO HISTÓRICO	
Desvio histórico	0,4
VT	2,40
R&R (%)	65,47

CONSIDERANDO VT PELO ESTUDO REALIZADO	
Desvio das amostras	85,69
Amplitude entre amostras	120,82
d2	1,41
Variação das Amostras (VA)	441,30
VT	441,30
R&R (%)	0,36

APÊNDICE B - Planilha de custos para o nitrato AFD

PLANILHA DE CUSTOS DE ENSAIOS							
	Item	Categoria	Quantidade	Unidade	Custo Unitário (R\$)	Quantidade usada na amostra	Custo por amostra
Preparo de soluções	Ácido Sulfúrico	Reagente	1000	mL	R\$ 68,13	1,09	R\$ 0,07
	Ácido Sulfúrico Fumegante	Reagente	500	mL	R\$ 750,00	0,55	R\$ 0,83
	Fenol	Reagente	500	g	R\$ 51,48	0,18	R\$ 0,02
	Padrão de nitrato	Padrão	100	mL	R\$ 439,00	0,06	R\$ 0,26
Diretamente ligado ao ensaio	Hidróxido de Amônio	Reagente	1000	mL	R\$ 42,00	7	R\$ 0,29
	Padrão de nitrato	Padrão	100	mL	R\$ 439,00	0,6	R\$ 2,63
	Fita pH	Consumível	100	un.	R\$ 71,25	1	R\$ 0,71
	Papel filtro quantitativo média filtração	Consumível	100	un.	R\$ 74,82	1	R\$ 0,75
	Hora Técnica	Mão de obra	1	h	R\$ 14,00	3,5	R\$ 49,00
	Resíduo	Descarte	1	L	R\$ 17,00	0,1	R\$ 1,70
	Energia Elétrica	Instrumentos	1	kWh	R\$ 1,10	3	R\$ 3,30
	Cubetas	Consumível	100	un.	R\$ 95,90	1	R\$ 0,96
	Calibração espectrofotômetro	Instrumentos	2000	h	R\$ 2.192,00	0,05	R\$ 0,05
	Calibração Micropipetador	Instrumentos	2000	h	R\$ 55,00	0,083	R\$ 0,00
Custo Total do Ensaio							R\$ 60,59

APÊNDICE C - Planilha de custos para nitrato por *kit*

PLANILHA DE CUSTOS DE ENSAIOS							
	Item	Categoria	Quantidade	Unidade	Custo Unitário (R\$)	Quantidade usada na amostra	Custo por amostra
Preparo de soluções	Padrão de nitrato	Padrão	100	mL	R\$ 439,00	0,015	R\$ 0,07
Diretamente ligado ao ensaio	Fita pH	Consumível	100	un.	R\$ 71,25	1	R\$ 0,71
	Papel filtro quantitativo média filtração	Consumível	100	un.	R\$ 74,82	1	R\$ 0,75
	Hora Técnica	Mão de obra	1	h	R\$ 14,00	0,25	R\$ 3,50
	Resíduo	Descarte	1	L	R\$ 17,00	0,01	R\$ 0,17
	Energia Elétrica	Instrumentos	1	kWh	R\$ 1,10	0,25	R\$ 0,28
	Calibração espectrofotômetro	Instrumentos	2000	h	R\$ 2.192,00	0,1	R\$ 0,11
	Calibração Micropipetador	Instrumentos	2000	h	R\$ 55,00	0,1	R\$ 0,00
	Kit nitrato	Consumível	25	un.	R\$ 1.100,00	1	R\$ 44,00
	Fita nitrato	Consumível	100	un.	R\$ 350,00	0,05	R\$ 1,10
	Fita cloreto	Consumível	100	un.	R\$ 350,00	0,05	R\$ 0,03
					Custo Total do Ensaio		R\$ 50,71

Declaração de Uso de Inteligência Artificial

Em conformidade com as Diretrizes para o Uso Ético, Responsável e Seguro de Inteligência Artificial no Ensino Superior da Universidade de Caxias do Sul (UCS), declaro que foram utilizadas ferramentas de inteligência artificial generativa, especificamente o ChatGPT (OpenAI), exclusivamente como instrumento de apoio à redação deste Trabalho de Conclusão de Curso.

A utilização da ferramenta restringiu-se ao aperfeiçoamento da escrita de trechos previamente elaborados pela autora, incluindo sugestões de revisão gramatical, aprimoramento da clareza, fluidez, coesão e organização textual. A inteligência artificial não foi utilizada para gerar resultados, produzir dados experimentais, realizar análises, interpretar resultados, elaborar discussões técnico-científicas, formular conclusões ou substituir a produção intelectual da autora.

Todo o conteúdo científico, as análises, interpretações, referências bibliográficas e conclusões apresentadas neste trabalho são de responsabilidade da autora, que revisou criticamente todas as sugestões fornecidas pela ferramenta antes de sua incorporação ao texto.

Esta declaração tem por objetivo assegurar a transparência quanto ao uso da inteligência artificial e reafirmar o compromisso com os princípios de autoria humana, integridade acadêmica, ética e responsabilidade previstos nas diretrizes institucionais da Universidade de Caxias do Sul.