

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



Ciências
ULisboa

Comparação de abordagens de avaliação da incerteza de medição de metais em sedimentos

Vanessa Moreira Morgado

Mestrado em Química
Especialização em Química

Dissertação orientada por:
Professor Doutor Ricardo Jorge Neves Bettencourt da Silva
Doutora Carla Maria Ferreira Mesquita Palma

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



Ciências
ULisboa

Comparação de abordagens de avaliação da incerteza de medição de metais em sedimentos

Vanessa Moreira Morgado

Mestrado em Química
Especialização em Química

Dissertação orientada por:
Professor Doutor Ricardo Jorge Neves Bettencourt da Silva
Doutora Carla Maria Ferreira Mesquita Palma

AGRADECIMENTOS

A gratidão é um sentimento que eu deixo ficar com aqueles que não me permitiram completar este desafio sozinha.

Ao meu orientador e mentor, professor Ricardo Silva, por partilhar o seu conhecimento comigo e por todas as oportunidades que me tem feito chegar. À minha orientadora, Doutora Carla Palma, pela simpática receção durante o período de estágio no Instituto Hidrográfico e, essencialmente, pelo voto de confiança. Está claro que, sem eles, a realização deste projeto seria impossível. Foi uma satisfação trabalhar, aprender e também crescer convosco.

Aos colegas do IH, Teresa Santos, Ana Gama e Carlos Borges, pelo acompanhamento no laboratório, disponibilidade e ajuda imediata sempre que foi necessário.

Às minhas amigas, Mariana e Patrícia, como não podia deixar de ser, pelo companheirismo em mais uma etapa.

Ao meu grande amigo, Ricardo Mendonça, porque do longe fez sempre muito perto.

Ao último eletrão da minha orbital, o meu Ricardo, por tudo!

Aos meus avós, pais e irmão dedico a concretização deste objetivo pessoal, qualquer mérito alcançado não é meu, é nosso!

Vanessa Morgado

RESUMO

Estatísticas indicam que 85 % dos metais pesados libertados nos ecossistemas aquáticos são acumulados na superfície dos sedimentos, sugerindo que este recurso hídrico é o maior recetor e potencial fonte no que respeita a este tipo de poluição em sistemas aquáticos. Devido aos efeitos adversos com origem na toxicidade e bioacumulação destes elementos químicos, é indispensável a monitorização destes recursos antes da utilização, como por exemplo em recargas de praias, garantindo a sua adequabilidade ao objetivo.

A Divisão de Química e Poluição do Meio Marinho do Instituto Hidrográfico tem procedimentos desenvolvidos para a determinação de metais em sedimentos por espectrometria de absorção atómica. Os procedimentos em questão envolvem uma etapa prévia de digestão em micro-ondas das amostras segundo o procedimento OSPAR ou segundo o procedimento empírico EPA 3050B, antes da quantificação no espectrómetro. Neste contexto, os procedimentos de medição devem ser validados para verificar se as suas medições são adequadas ao fim em vista.

No âmbito da validação de um procedimento de medição, é imprescindível uma avaliação metrológica de determinados requisitos, a qual confere um veredicto relativamente à adequabilidade do procedimento e à qualidade das suas medições. Neste trabalho, a validação do procedimento de medição envolveu a avaliação da linearidade e da homogeneidade de variâncias da resposta instrumental, dos limiares analíticos e a avaliação da incerteza de medição pelas abordagens supra-analíticas propostas nos guias Eurachem e Nordtest e pela abordagem diferencial. Este trabalho envolveu também o desenvolvimento de uma metodologia computacional para estimar a incerteza de medição através do método Monte Carlo.

Os resultados obtidos evidenciaram estimativas de incertezas de medição majoradas pelas abordagens supra-analíticas comparativamente à abordagem diferencial. Todavia, uma vez que as incertezas expandidas relativas estimadas são inferiores ao valor alvo definido de 25 %, os procedimentos de medição demonstraram ser adequados à monitorização de metais pesados em sedimentos. A metodologia inovadora desenvolvida para a combinação das componentes da incerteza pelo método Monte Carlo revelou ser promissora para a estimativa de incertezas que envolvem procedimentos de medição complexos.

PALAVRAS-CHAVE: Sedimentos, Metais Pesados, Espectrometria Atómica, Incerteza de Medição, Método Monte Carlo.

ABSTRACT

Statistics point to 85 % of heavy metals released into the aquatic environment are accumulated in sediments surface, which makes this hydric resource the major pollution receptor and a potential source of this type of pollutants in aquatic systems. Sediments can be applied, for example, in beaches recharge. Due to adverse effects caused by toxicity and bioaccumulation of these chemical elements, sediments must be monitored before their use, ensuring their fitness for the intended use.

The Division of Marine Chemistry and Pollution of Instituto Hidrográfico has developed procedures to determine metals in sediments by atomic absorption spectrometry. These procedures involve a prior microwave digestion of samples using OSPAR procedure or the empirical EPA 3050B procedure before spectrometer quantification. In this context, the measurements procedures must be validated to verify if produced measurements are fit for the intended use.

For the validation of the measurement procedure, a metrological evaluation of measurements requirements is indispensable, which gives a verdict on the procedure suitability and on the quality of their measurements. In this work, the validation of the measurement procedure involved the assessment of the linearity and homogeneity of variance of the instrumental response, the analytical limits and the evaluation of the measurement uncertainty performed by two top-down approaches proposed in the Eurachem and Nordtest guides and by the differential approach. This work also involved the development of a computational methodology for estimating the measurement uncertainty using the Monte Carlo method.

Comparing the obtained results by both top-down approaches and the differential approach, it allowed to conclude that the uncertainties estimated by top-down approaches showed to be higher. However, since the relative expanded uncertainties were smaller than the defined target value of 25 %, the measurements procedures proved to be fit for the monitoring of heavy metals in sediments. The novel Monte Carlo methodology has revealed to be a promising strategy for uncertainties estimation involving complex measurement procedures.

KEYWORDS: Sediments, Heavy Metals, Atomic Spectrometry, Measurement Uncertainty, Monte Carlo Method.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	iii
ABSTRACT	v
ÍNDICE	vii
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xvii
PREFÁCIO	1
CAPÍTULO 1 – FUNDAMENTOS TEÓRICOS	3
1.1 Sedimentos	5
1.1.1 Metais nos sedimentos	5
1.1.2 Classificação dos sedimentos	6
1.2 Espectrometria de Absorção Atômica com chama	6
1.2.1 Princípios teóricos	7
1.2.2 Instrumentação	8
1.2.2.1 Atomizador de chama	9
1.2.2.2 Fontes de radiação	10
1.2.2.3 Monocromador e Detetor	11
1.2.2.4 Gerador de hidretos	12
1.2.3 Interferências	13
1.2.3.1 Interferências espectrais	13
1.2.3.2 Interferências não espectrais	13
1.3 Validação de procedimentos	14
1.3.1 Seletividade	14
1.3.2 Gama de trabalho e linearidade	14
1.3.2.1 Método dos Mínimos Quadrados	15
1.3.3 Limiares analíticos	17
1.3.4 Precisão	17
1.3.5 Veracidade	18
1.3.6 Incerteza	18
1.3.7 Definição de incerteza alvo	20
1.4 Avaliação da incerteza de medição	21
1.4.1 Abordagem subanalítica	21
1.4.1.1 Incerteza associada a uma pesagem	21
1.4.1.2 Incerteza associada a uma medição de volume	22
1.4.1.3 Incerteza associada à quantificação instrumental	22
1.4.1.4 Lei de propagação de incertezas	23
1.4.1.5 Método das Simulações de Monte Carlo	24

1.4.2	Abordagens supra-analíticas	24
1.4.2.1	Incerteza associada à precisão	25
1.4.2.2	Incerteza associada à veracidade	25
1.4.3	Abordagem diferencial	27
CAPÍTULO 2 – PARTE EXPERIMENTAL		29
2.1	Material e equipamento	31
2.2	Reagentes	32
2.3	Procedimento experimental	33
2.3.1	Preparação das amostras	33
2.3.1.1	Digestão de sedimentos pelo procedimento OSPAR	34
2.3.1.2	Digestão de sedimentos pelo procedimento EPA 3050B	35
2.3.2	Preparação das soluções padrão de calibração	35
2.3.3	Preparação das soluções padrão de controle	37
2.3.4	Leitura no espectrômetro	37
2.4	Tratamento de dados	37
2.4.1	Elaboração de uma folha de cálculo	38
2.4.1.1	Preparação das soluções padrão de calibração	38
2.4.1.2	Regressão diária pelo MMQ	38
2.4.1.3	Curva de calibração usada para definir modelos de variância do sinal	39
2.4.1.4	Modelos da variação do desvio padrão do sinal com o sinal	40
2.4.1.5	Estratégias para definir o modelo de variação do sinal	41
2.4.1.6	Preparação de amostras	42
2.4.1.7	Análise de amostras	43
2.4.1.8	Simulações de Monte Carlo	43
CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO		45
3.1	Avaliação da linearidade e da homogeneidade de variâncias da resposta instrumental	47
3.2	Estudo dos limiares analíticos	49
3.3	Avaliação da incerteza de medição	51
3.3.1	Abordagem subanalítica	51
3.3.2	Abordagens supra-analíticas	51
3.3.2.1	Identificação das fontes de incerteza	52
3.3.2.2	Quantificação da incerteza de medição	52
3.3.2.3	Avaliação da compatibilidade metrológica dos resultados estimados e de referência	54
3.3.2.4	Interpretação dos resultados	55
3.3.3	Abordagem diferencial	57
3.3.3.1	Identificação das fontes de incerteza	57
3.3.3.2	Avaliação da linearidade e da homogeneidade de variâncias da resposta instrumental	57
3.3.3.3	Estratégias para definir o modelo de variação do sinal	59
3.3.3.4	Quantificação da incerteza de medição	60
3.3.3.5	Avaliação da compatibilidade metrológica dos resultados estimados e de referência	62
3.3.3.6	Interpretação dos resultados	63

3.3.3.7 Avaliação do desempenho do método das Simulações de Monte Carlo	64
3.3.3.8 Especificidade do método das Simulações de Monte Carlo	65
3.3.4 Considerações finais	66
CAPÍTULO 4 – CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
ANEXOS	77
A.1 Dados para o estudo dos limiares analíticos	79
A.2 Dados para a estimativa da incerteza de medição pelas abordagens supra-analíticas	81
A.3 Dados para a estimativa da incerteza de medição pela abordagem diferencial	83

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – FUNDAMENTOS TEÓRICOS

- Figura 1.1** – Representação esquemática de transições eletrônicas nos fenômenos de absorção e emissão. 7
- Figura 1.2** – Esquema dos componentes de um espectrómetro de absorção atômica com chama. 9
- Figura 1.3** – Esquematização de um queimador de fluxo laminar, adaptado de^[15]. 10
- Figura 1.4** – Estrutura de uma lâmpada de cátodo oco, adaptado de^[17]. 10
- Figura 1.5** – Esquema do funcionamento da lâmpada de cátodo oco. 11
- Figura 1.6** – Esquema do funcionamento do tubo fotomultiplicador. 12
- Figura 1.7** – Avaliação da linearidade e da homogeneidade variância da resposta instrumental recorrendo a gráficos de residuais (x e $(y-\hat{y})$ representam a concentração e os sinais residuais de cada padrão de calibração, respetivamente). 16
- Figura 1.8** – Representação esquemática das etapas para a estimativa da incerteza de medição. 18
- Figura 1.9** – Diagrama Ishikawa. 19

CAPÍTULO 2 – PARTE EXPERIMENTAL

- Figura 2.1** – Digestor de micro-ondas. 31
- Figura 2.2** – Espectrómetro absorção atômica. 32
- Figura 2.3** – Gerador de hidretos acoplado ao espectrómetro de absorção atômica. 32
- Figura 2.4** – Representação gráfica da digestão de sedimentos com aquecimento por micro-ondas (— Temperatura; --- Potência). 35
- Figura 2.5** – Secção relativa à preparação das soluções padrão de calibração. 38
- Figura 2.6** – Secção relativa à curva de calibração diária pelo MMQ. 39
- Figura 2.7** – Secção da folha de cálculo que apresenta os parâmetros de regressão do MMQ e avalia alguns pressupostos do modelo. 39
- Figura 2.8** – Secção relativa a uma curva de calibração alternativa para a definição de modelos da variância do sinal. 40
- Figura 2.9** – Secção da folha de cálculo que apresenta as representações gráficas da variação do desvio padrão (gráficos do lado esquerdo) ou desvio padrão relativo (gráficos do lado direito) do sinal em função do sinal médio para as curvas de calibração diária (gráficos superiores) e alternativa (gráficos inferiores). 41
- Figura 2.10** – Secção da folha de cálculo onde se procede à seleção do modelo de variação da precisão do sinal na gama de calibração. 42
- Figura 2.11** – Secção relativa à preparação de amostras. 42
- Figura 2.12** – Secção relativa à recolha de sinais das amostras e apresentação de resultados. 43
- Figura 2.13** – Secção da folha de cálculo onde são apresentados os resultados obtidos pelas SMC. 44

CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Figura 3.1** – Identificação das fontes de incerteza consideradas na aplicação das abordagens supra-analíticas, usando um diagrama Ishikawa. 52

Figura 3.2 – Identificação das fontes de incerteza consideradas na aplicação da abordagem diferencial, usando um diagrama Ishikawa (^(S) componentes simples e ^(C) componentes complexas).

57

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – FUNDAMENTOS TEÓRICOS

- Tabela 1.1** – Classificação dos sedimentos quanto ao seu grau de contaminação (mg kg^{-1}), adaptado de^[8]. 6
- Tabela 1.2** – Comprimentos de onda de radiação absorvidas por diversos elementos no estado fundamental usados na quantificação dos elementos por EAA. 7

CAPÍTULO 2 – PARTE EXPERIMENTAL

- Tabela 2.1** – Valores de referência certificados do MRC WQB-1^[36]. 34
- Tabela 2.2** – Volumes de solução padrão pipetados para a preparação das amostras fortificadas e respetiva fração de massa esperada. 34
- Tabela 2.3** – Concentração das soluções padrão utilizadas para traçar a curva de calibração respetiva para a determinação de As, Cd, Ni e Pb. 36
- Tabela 2.4** – Volume pipetado da solução de calibração concentrada ($\approx 1000 \text{ mg L}^{-1}$) ou diluída (intermediária de 1 mg L^{-1} ou 10 mg L^{-1}) de analito para 100 mL na preparação de cada solução padrão de calibração. 36
- Tabela 2.5** – Teores das soluções padrão de controlo usados no controlo de qualidade das calibrações. 37
- Tabela 2.6** – Fórmulas *MS-Excel* usadas para gerar dados com diferentes distribuições^[31] (x é o valor da grandeza medida, u é a incerteza padrão e ν é o número dos graus de liberdade envolvidos). 43

CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Tabela 3.1** – Curvas de calibração e gráficos de residuais de As (..... *LD*; -- *LQ*). 47
- Tabela 3.2** – Curvas de calibração e gráficos de residuais de Cd (..... *LD*; -- *LQ*). 48
- Tabela 3.3** – Curvas de calibração e gráficos de residuais de Ni (..... *LD*; -- *LQ*). 48
- Tabela 3.4** – Curvas de calibração e gráficos de residuais de Pb (..... *LD*; -- *LQ*). 49
- Tabela 3.5** – Limiares analíticos estimados nas diferentes condições de precisão com base no desvio padrão residual. 50
- Tabela 3.6** – Limiares analíticos estimados, em condição de precisão intermédia, com base na precisão da concentração estimada da solução padrão de calibração de menor concentração da gama de calibração. 50
- Tabela 3.7** – Intervalo de concentrações do *LQ*. 51
- Tabela 3.8** – Incertezas padrão relativas das componentes de incerteza estimadas pelas abordagens supra-analíticas. 53
- Tabela 3.9** – Valores de t tabelados (t_{tab}) e calculados (t_{cal}) para a avaliação da recuperação média estimada pelas abordagens supra-analíticas. 53
- Tabela 3.10** – Resultado da análise do MRC^[36] expresso com incerteza para um nível de confiança de 95 % ($k = 2$), segundo as abordagens supra-analíticas estudadas (U' é a incerteza expandida relativa). 54
- Tabela 3.11** – Parâmetros do teste de compatibilidade metrológica dos resultados da análise do MRC estimados pelas abordagens supra-analíticas para um nível de confiança de 95 % ou 99 %[§]. 55

Tabela 3.12 – Contribuições percentuais das componentes de incerteza para a incerteza de medição global do procedimento contabilizadas pelas abordagens supra-analíticas estudadas (■ <i>u'precisão</i> ; ■ <i>u'veracidade</i>).	56
Tabela 3.13 – Curva de calibração e gráfico de residuais de uma curva de calibração diária para cada metal (..... <i>LD</i> ; -- <i>LQ</i>).	58
Tabela 3.14 – Representação da variação da precisão do sinal ao longo da gama de calibração (s_I e I são o desvio padrão e o valor médio do sinal instrumental, respetivamente).	59
Tabela 3.15 – Incertezas padrão relativas das componentes de incerteza estimadas pela abordagem diferencial.	61
Tabela 3.16 – Valores de t tabelados (t_{tab}) e calculados (t_{cal}) para a avaliação da recuperação média estimada pela abordagem diferencial.	61
Tabela 3.17 – Resultados da análise do MRC ^[36] expresso com incerteza para um nível de confiança de 95 % ($k = 2$), segundo a abordagem diferencial (U' é a incerteza expandida relativa).	62
Tabela 3.18 – Parâmetros do teste de compatibilidade metrológica dos resultados da análise do MRC estimados pela abordagem diferencial para um nível de confiança de 95 %.	62
Tabela 3.19 – Contribuições percentuais das componentes de incerteza de medição contabilizadas pela abordagem diferencial (■ <i>u'complexa</i> ; ■ <i>u'Rm</i> ; ■ <i>u'simples</i> ; ■ <i>u'massa</i> ; ■ <i>u'volume</i> ; ■ <i>u'quantificação instrumental</i> ; ■ <i>u'outras</i> ; <i>u'global</i> é a incerteza padrão relativa global da medição e <i>u'simples</i> é a incerteza padrão relativa associada à combinação das etapas simples do procedimento).	63
Tabela 3.20 – Parâmetros do teste de compatibilidade metrológica dos resultados estimados e de referência de soluções padrão de controlo, para um nível de confiança de 95 % ou 99 % [§] .	65
Tabela 3.21 – Distribuição dos resultados das mensurandas.	65
Tabela 3.22 – Coletânea dos resultados estimados pelas abordagens em estudo, para um nível de confiança de 95 % (U' é a incerteza expandida relativa).	66

ANEXOS

Tabela A.1 – Leituras da solução padrão de calibração 0,5 µg L ⁻¹ do As para o cálculo dos limiares analíticos em condição de precisão intermédia.	79
Tabela A.2 – Leituras da solução padrão de calibração 0,005 mg L ⁻¹ do Cd para o cálculo dos limiares analíticos em condição de precisão intermédia.	79
Tabela A.3 – Leituras da solução padrão de calibração 0,075 mg L ⁻¹ do Ni para o cálculo dos limiares analíticos em condição de precisão intermédia.	80
Tabela A.4 – Leituras da solução padrão de calibração 0,1 mg L ⁻¹ do Pb para o cálculo dos limiares analíticos em condição de precisão intermédia.	80
Tabela A.5 – Resultados das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de As, pelas abordagens supra-analíticas.	81
Tabela A.6 – Resultados das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Cd, pelas abordagens supra-analíticas.	81
Tabela A.7 – Resultados das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Ni, pelas abordagens supra-analíticas.	82
Tabela A.8 – Resultados das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Pb, pelas abordagens supra-analíticas.	82
Tabela A.9 – Resultados da análise do MRC para cada metal para testar a compatibilidade metrológica dos resultados estimados pelas abordagens supra-analíticas.	83

- Tabela A.10** – Valor da concentração das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de As, pela abordagem diferencial, obtidos a partir do percentil 50 de 16000 simulações. 83
- Tabela A.11** – Valor da incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de As, pela abordagem diferencial, obtidos a partir dos percentis 16 e 84 de 16000 simulações. 84
- Tabela A.12** – Valor da concentração das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Cd, pela abordagem diferencial, obtidos a partir do percentil 50 de 16000 simulações. 84
- Tabela A.13** – Valor da incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Cd, pela abordagem diferencial, obtidos a partir dos percentis 16 e 84 de 16000 simulações. 84
- Tabela A.14** – Valor da concentração das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Ni, pela abordagem diferencial, obtidos a partir do percentil 50 de 16000 simulações. 85
- Tabela A.15** – Valor da incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Ni, pela abordagem diferencial, obtidos a partir dos percentis 16 e 84 de 16000 simulações. 85
- Tabela A.16** – Valor da concentração das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Pb, pela abordagem diferencial, obtidos a partir do percentil 50 de 16000 simulações. 86
- Tabela A.17** – Valor da incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Pb, pela abordagem diferencial, obtidos a partir dos percentis 16 e 84 de 16000 simulações. 86
- Tabela A.18** – Valor da concentração e incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, obtidos a partir do percentil 50, 16 e 84 de 16000 simulações, respetivamente, da análise do MRC para cada metal para testar a compatibilidade metrológica dos resultados estimados pela abordagem diferencial. 87
- Tabela A.19** – Valores de concentração das soluções padrão de controlo, obtidos a partir do percentil 50, para avaliar o desempenho do método das SMC na abordagem diferencial. 87

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABREVIATURAS

ANOVA - LOF	Análise de variâncias - <i>Lack-of-fit</i> .
EAA	Espetrometria de Absorção Atômica.
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> .
GH	Geração de Hidretos.
GUM	<i>Guide to the expression of Uncertainty in Measurement</i> .
HCL	Lâmpada de Cátodo Oco (<i>Hollow Cathode Lamp</i>).
LPI	Lei de propagação de incertezas.
LD	Limite de detecção.
LQ	Limite de quantificação.
MMQ	Método dos Mínimos Quadrados.
MRC	Material de Referência Certificado.
n.c.	Nível de confiança.
OSPAR	<i>Oslo/Paris convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic</i> .
PC	Solução padrão de controle.
SMC	Simulações de Monte Carlo.
STAT	<i>Slotted Tube Atom Trap</i> .
VIM	Vocabulário Internacional de Metrologia (<i>Vocabulaire International de Métrologie</i>).

SÍMBOLOS

ε	Absortividade molar.
A	Absorvância.
C ₂ H ₂	Acetileno.
C ₆ H ₈ O ₆	Ácido ascórbico.
H ₃ BO ₃	Ácido bórico.
HCl	Ácido clorídrico.
HF	Ácido fluorídrico.
HNO ₃	Ácido nítrico.
a	Amplitude de uma variável.
Ar	Árgon.
As	Arsénio.
AsH ₃	Arsina.
Cd	Cádmio.
Ar ⁺	Catião de árgon.
Pb	Chumbo.
r	Coefficiente de correlação de Pearson.
σ	Coefficiente de extinção.
λ	Comprimento de onda.

c	Concentração.
C_{std}	Concentração da solução padrão de calibração.
$C_{fortificada}$	Concentração da amostra fortificada.
m	Declive.
ρ	Densidade.
s	Desvio padrão.
s_{\square}	Desvio padrão associado à distribuição retangular.
s_{Δ}	Desvio padrão associado à distribuição triangular.
s_{R_m}	Desvio padrão associado à recuperação média de analito.
s_I	Desvio padrão associado ao sinal.
s_{PI}	Desvio padrão em condição de precisão intermédia.
s'	Desvio padrão relativo ou coeficiente de variação.
s_y	Desvio padrão residual.
D_2	Deutério.
e^-	Elétron.
E	Estado excitado de energia.
E_0	Estado fundamental de energia.
A	Extrato de sedimento.
B	Extrato de sedimento.
C	Extrato de sedimento.
A_{II}	Extrato de sedimento duplicado de A.
A_F	Extrato de sedimento fortificado de A.
C_F	Extrato de sedimento fortificado de C.
k	Fator de cobertura.
(V/V)	Fração volume/volume.
ν	Graus de liberdade.
$NaOH$	Hidróxido de sódio.
u_{int}	Incerteza associada à interpolação dos sinais da regressão.
U	Incerteza expandida.
U_x	Incerteza expandida associada a uma variável x .
U_{Dif}	Incerteza expandida associada ao $ Dif $.
U'	Incerteza expandida relativa.
u^{cal}	Incerteza padrão associada à calibração instrumental.
$u_{C_{fortificada}}$	Incerteza padrão associada à concentração da amostra fortificada.
$u_{R_{rep}}$	Incerteza padrão associada à equivalência da recuperação de analito considerando o analito presente nas amostras.
u_{R_s}	Incerteza padrão associada à influência da matriz da amostra e/ou concentração do analito.
$u_{precisão}$	Incerteza padrão associada à precisão do procedimento.
u_{std}	Incerteza padrão associada à preparação das soluções padrão de calibração.
$u_{C_{int}}$	Incerteza padrão associada à quantificação instrumental.
u^{rep}	Incerteza padrão associada à repetibilidade.
u_{ν}	Incerteza padrão associada a um volume ν .

u_m	Incerteza padrão associada a uma massa m .
u_x	Incerteza padrão associada a uma variável x .
u^{Temp}	Incerteza padrão associada ao efeito da temperatura.
u	Incerteza padrão combinada.
u'	Incerteza padrão relativa.
$u'_{precisão}$	Incerteza padrão relativa associada à precisão do procedimento.
u'_{PI}	Incerteza padrão relativa associada à precisão intermédia.
$u'_{\bar{R}_m}$	Incerteza padrão relativa associada à recuperação média.
$u'_{veracidade}$	Incerteza padrão relativa associada à veracidade do procedimento.
$u'_{complexas}$	Incerteza padrão relativa associada às etapas complexas do procedimento.
$u'_{simples}$	Incerteza padrão relativa associada às etapas simples do procedimento.
u'_{bias}	Incerteza padrão relativa associada ao <i>bias</i> .
u'_{global}	Incerteza padrão relativa global da medição.
KI	Iodeto de potássio.
M	Metal.
M(+)	Metal no estado excitado de energia.
M(0)	Metal no estado fundamental de energia.
$ Dif $	Módulo da diferença de valores.
Ni	Níquel.
n	Número de leituras.
b	Ordenada na origem.
ℓ	Percurso ótico.
I_0	Radiação incidente.
I	Radiação transmitida.
\bar{R}_m	Recuperação média de analito.
i	Solução padrão de calibração.
NaBH ₄	Tetraborohidreto de sódio.
F_{cal}	Valor de Fisher calculado.
F_{tab}	Valor de Fisher tabelado.
t_{cal}	Valor de t -Student calculado.
t_{tab}	Valor de t -Student tabelado.
\hat{y}_i	Valor do sinal estimado da solução padrão de calibração i .
\bar{x}	Valor médio das concentrações das soluções padrão de calibração.
\bar{y}_a	Valor médio das n leituras dos sinais da amostra.
\bar{y}_i	Valor médio dos sinais da solução padrão de calibração i .
s^2	Variância.
MS_{LOF}	Variância associada à falta de ajuste da regressão.
s_{maior}^2	Variância associada à solução padrão de maior concentração.
s_{menor}^2	Variância associada à solução padrão de menor concentração.
MS_{PE}	Variância associada ao erro puro.
x	Variável correspondente à concentração.
\hat{y}	Variável correspondente ao sinal instrumental estimado (\hat{I}).
y	Variável correspondente ao sinal instrumental observado (I).

PREFÁCIO

A química analítica é uma ciência metroológica que desenvolve, otimiza e aplica métodos, instrumentos e estratégias de natureza distinta que se materializam em processos de medição com o objetivo de obter informação no que concerne à composição e natureza da matéria no tempo e no espaço, bem como a respetiva qualidade destas medições, resolvendo problemas analíticos focados em questões de carácter científico, técnico ou social^[1,2]. Dada a complexidade da natureza das medições em química, surge o conceito de metrologia como um elo entre os processos de medição e a informação resultante dos mesmos, na qual estão definidos uma série de conceitos e as relações que se estabelecem entre eles. O Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM) define metrologia como a “ciência da medição e suas aplicações”, incluindo aspetos teóricos e práticos de medida, independentemente da incerteza da medição e do campo de aplicação^[3].

No âmbito de trabalho, a união destas ciências fundamentais envolve uma relação crono(lógica) entre os conceitos mensuranda, rastreabilidade, validação de procedimentos e incerteza de medição. O procedimento analítico aplicado na obtenção de informação relativa a uma mensuranda deve ser validado e os dados recolhidos durante a sua validação devem ser utilizados na avaliação da qualidade do resultado da medição, isto é, da sua incerteza. Por sua vez, os conceitos de rastreabilidade e incerteza estão profundamente relacionados. A rastreabilidade metroológica é “uma propriedade de um resultado de medição, pela qual o resultado pode ser relacionado com uma referência através de uma cadeia ininterrupta e documentada de calibrações, as quais contribuem para a incerteza de medição”^[3]. O objetivo do conceito de rastreabilidade de medição é o de identificar a referência usada na medição e certificar-se que esta é satisfatória de acordo com o fim a que se destina. Desta forma, assegura-se a comparabilidade dos resultados rastreados à mesma referência^[4]. O conhecimento detalhado destas relações inerentes à metrologia possibilita uma visão rigorosa da química analítica.

Um facto curioso, é que sendo a química analítica reconhecida como uma ciência bem estabelecida, a metrologia em química, até acerca de 30 anos atrás, foi sistematicamente desconsiderada. Atualmente, este conceito modela a forma como se trata a informação química permitindo a sua correta interpretação e a garantia da sua fiabilidade, conduzindo à valorização das ciências analíticas^[5,6].

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Sedimentos

Sedimento, do latim *sedimentum*, é a matéria que, numa solução, após estar em suspensão acaba por precipitar devido à gravidade que nela atua. Este processo denomina-se de sedimentação e ocorre infindavelmente na hidrosfera. Os fundos dos rios são locais extensivamente cobertos por sedimentos devido à elevada circulação de massas de água que têm a capacidade de os transportarem, criando deste modo um substrato capaz de suportar ecossistemas complexos. Os sedimentos desempenham algumas funções essenciais, tais como o armazenamento e a transformação de compostos naturais e contaminantes, regeneração de nutrientes e habitat para fauna e flora.

O rio Tejo é o rio mais extenso da península Ibérica e detém uma elevada relevância sociodemográfica. As dragagens efetuadas em locais predefinidos, ou seja, a recolha dos sedimentos através de uma embarcação apropriada, uma draga, têm por objetivo melhorar as condições de navegação e subaquáticas. Dada à aplicabilidade dos seus sedimentos, estes são sujeitos a um processo de dragagem a fim de serem aplicados, por exemplo, na recarga de praias, assoreamentos artificiais e na imersão de resíduos^[7,8]. Tendo em conta que os sedimentos podem estar contaminados, é necessário monitorizar os dragados por forma a averiguar a sua adequação para o fim em vista. Entre uma série de parâmetros monitorizados, a avaliação da qualidade deste recurso hídrico passa pela medição do teor de metais pesados.

1.1.1 Metais nos sedimentos

Os metais são definidos como substâncias caracterizadas pela sua boa condutividade elétrica e térmica, que facilmente perdem eletrões formando iões carregados positivamente. Quimicamente, quando estes elementos exibem elevadas densidades relativas, número e peso atómico são classificados como metais pesados.

Nos ecossistemas aquáticos, os metais pesados estão presentes como resultado de processos naturais e atividades antropogénicas. A desintegração das rochas e erupções vulcânicas são consideradas fontes naturais destes metais. Por outro lado, a queima de combustíveis fósseis, descarga de efluentes domésticos ou industriais, aplicações de inseticidas e fertilizantes na agricultura são alguns exemplos de fontes destes elementos com origem em atividades antropogénicas. Uma vez libertados nos ecossistemas aquáticos, estatísticas apontam que 85 % dos metais são acumulados na superfície dos sedimentos. Assim, os sedimentos contaminados são considerados a maior fonte de poluição dos sistemas aquáticos, no que respeita à poluição por metais pesados^[9,10]. Em todo o mundo, a presença de metais pesados nos sedimentos tornou-se um problema crescente nos ecossistemas aquáticos devido à sua toxicidade, persistência e bioacumulação com efeitos potencialmente nefastos em toda a cadeia alimentar^[11].

Os sedimentos podem ser considerados um registo do conhecimento geográfico e temporal da poluição de uma região ou ecossistema, uma vez que estes integram os contaminantes ao longo do tempo e estão sujeitos a uma deposição constante causada pelos fluxos de água^[12]. Nos trechos de rios próximos das zonas urbanas, a ocorrência de elevadas concentrações de metais nos sedimentos indica que as atividades antropogénicas associadas à urbanização e industrialização são uma fonte importante destes contaminantes^[13].

O arsénio (As) é um semimetal e o cádmio (Cd), chumbo (Pb) e níquel (Ni) são exemplos de metais pesados altamente tóxicos e cumulativos que, quando utilizados de forma indevida ou excessiva,

podem causar severos danos nos ecossistemas^[14]. Deste modo, é indispensável uma avaliação quantitativa da presença destes elementos químicos nos sedimentos para monitorizar a saúde do ecossistema ou avaliar a adequação dos respetivos dragados para a aplicação em vista.

1.1.2 Classificação dos sedimentos

A aplicação do material dragado na recarga de praias e assoreamentos artificiais e na imersão de resíduos é condicionada à presença de metais pesados nos sedimentos. A Portaria nº 1450/2007 de 12 de novembro emitida pelo Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional refere a classificação dos sedimentos quanto ao seu grau de contaminação por metais pesados^[8]. A **Tabela 1.1** reporta as classes atribuídas aos sedimentos consoante os valores de concentrações (mg kg^{-1}) dos metais.

Tabela 1.1 – Classificação dos sedimentos quanto ao seu grau de contaminação (mg kg^{-1}), adaptado de^[8].

Metal	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	Classe 5
Arsénio	< 20	20 - 50	50 - 100	100 - 500	> 500
Cádmio	< 1	1 - 3	3 - 5	5 - 10	> 10
Chumbo	< 50	50 - 150	150 - 500	500 - 1000	> 1000
Níquel	< 30	30 - 75	75 - 125	125 - 250	> 250

Ao abrigo da legislação em vigor, os sedimentos dragados estão sujeitos a diferentes procedimentos de utilização função da sua classificação. Assim os sedimentos podem ser utilizados sem normas restritivas, ter utilização condicionada ou, em casos drásticos, ter a sua utilização proibida^[8]. Tendo em conta a relevância desta monitorização, a determinação dos metais pesados nos sedimentos dragados deve ser realizada recorrendo a um procedimento de medição adequado.

1.2 Espectrometria de Absorção Atómica com chama

Em química analítica são amplamente realizadas medições baseadas na interação da radiação eletromagnética com a matéria uma vez que, muitas vezes, fornece informação muito específica sobre um dado item. A radiação eletromagnética é uma forma de energia que é transmitida através do espaço a velocidades muito elevadas e a mediação da sua interação com a matéria é realizada por meio de técnicas espectrométricas.

A espectrometria de absorção atómica (EAA) é uma técnica analítica capaz de determinar qualitativa e quantitativamente a presença de elementos químicos num item, habitualmente no estado sólido ou líquido, medindo a radiação que é absorvida pelo elemento estudado após este ser transferido para o estado físico gasoso e eletrónico fundamental. Esta técnica envolve a determinação da absorvância de radiação característica do elemento a ser determinado. A EAA é uma técnica de eleição para a análise de metais pesados uma vez que consegue detetar níveis vestigiais de muitos elementos com elevada seletividade. Esta técnica consegue quantificar alguns mg kg^{-1} ou mg L^{-1} de vários elementos em itens sólidos ou líquidos, respetivamente, ou, em alguns casos, valores de grandeza ainda menores^[15].

1.2.1 Princípios teóricos

O modelo atômico de Bohr descreve os átomos como núcleos positivamente carregados rodeados por elétrons que descrevem orbitais com um nível de energia associado^[16]. Quando um átomo é excitado, por aplicação de um estímulo energético, promove-se a transição de um elétron (e^-) da orbital correspondente ao estado fundamental, ou a um nível de menor energia (E_0), para uma orbital correspondente a um estado excitado, ou seja, para um nível mais instável de maior energia (E). A este fenómeno, que consome energia, dá-se o nome de absorção. Devido à instabilidade do átomo no estado excitado, ocorre o decaimento do elétron para um nível de menor energia com emissão de radiação. A **Figura 1.1** ilustra as transições eletrónicas de absorção e emissão entre diferentes estados de energia.

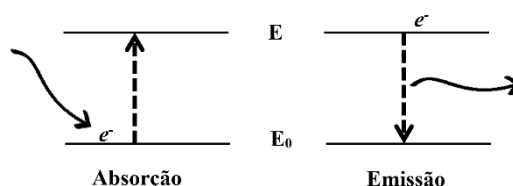


Figura 1.1 – Representação esquemática de transições eletrónicas nos fenómenos de absorção e emissão.

Cada elemento possui comprimentos de onda de absorção e emissão caraterísticos, os quais dependem da estrutura eletrónica dos seus átomos que representam os níveis de energia da(s) orbital(ais) que os elétrons ocupam. A diferença dos níveis de energia das orbitais é equivalente à energia dos fótons envolvidos nas transições eletrónicas. A **Tabela 1.2** apresenta alguns valores de comprimentos de onda de radiação absorvida pelos elementos estudados no seu estado fundamental de energia. A absorção desta radiação caraterística dos elementos estudados foi usada na quantificação dos elementos em amostras ambientais.

Tabela 1.2 – Comprimentos de onda de radiação absorvidas por diversos elementos no estado fundamental usados na quantificação dos elementos por EAA.

Metal	Comprimento de onda (nm)
Arsénio	193,7
Cádmio	228,8
Chumbo	217,0
Níquel	232,0

Em EAA, a energia de absorção é determinada pela razão entre a energia de um feixe de radiação que incide sobre os átomos e a radiação transmitida pelo decaimento dos mesmos, resultando assim numa atenuação do feixe de radiação incidente. A lei da absorção ou lei de Lambert-Beer estabelece uma relação empírica entre a atenuação de radiação observada e a concentração dos átomos posicionados num dado percurso onde a absorção ocorre^[15]. Esta lei é expressa através da **Equação 1.1**, na qual se observa que existe uma relação diretamente proporcional do logaritmo da razão da radiação incidente (I_0) e da radiação transmitida (I), ($\log(I_0/I)$), com o comprimento do percurso ótico (ℓ) e a concentração dos átomos no percurso ótico (c).

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \ell c \quad (1.1)$$

onde, A é a absorvância e ε é a absortividade molar que pode ser representada pela **Equação 1.2**.

$$\varepsilon = \frac{4\pi\sigma}{\lambda} \quad (1.2)$$

onde, σ é o coeficiente de extinção e λ o comprimento de onda.

Esta lei é apenas aplicável quando a radiação é monocromática, isto é, quando a radiação é constituída por fótons com a mesma energia e comprimento de onda, e as soluções estudadas são suficientemente diluídas^[17]. Em soluções concentradas, a proximidade entre as espécies causa ligeiras modificações no coeficiente de extinção devido a interações eletrostáticas entre as espécies que alteram a distribuição de carga nos átomos e, conseqüentemente, a extensão da absorção. A absortividade molar é característica de cada espécie química sendo função do coeficiente de extinção e do comprimento de onda, como expressa a **Equação 1.2**. A lei de Lambert-Beer indica um comportamento diretamente proporcional entre a absorvância e a concentração. Como a EAA é uma técnica relativa, é necessário construir a relação entre a absorvância e a concentração mediante a determinação da absorvância de itens, tipicamente soluções com concentrações conhecidas.

1.2.2 Instrumentação

Para analisar os elementos de interesse presentes numa solução líquida por EAA, é essencial que estes sejam promovidos ao estado eletrônico fundamental e físico gasoso, ou seja, que sejam atomizados, para se medir a absorção de radiação pelos seus átomos. Instrumentalmente, este processo inicia com a aspiração da solução para um nebulizador, sendo em seguida encaminhada na forma de pequenas gotículas para atomizador. A solução é atomizada no atomizador, onde os átomos gasosos e no estado fundamental são sujeitos a um feixe de radiação incidente (I_0) característico do elemento a analisar. Este feixe é atenuado por absorção dos átomos. A intensidade de radiação que é transmitida (I) atinge o detector que é constituído por um monocromador que isola a radiação monocromática de interesse. Paralelamente, é utilizado um feixe de radiação policromática de referência, usualmente produzido por uma lâmpada de deutério, para corrigir a emissão de fundo ou a dispersão de radiação por partículas sólidas que surgem na chama. A radiação transmitida por esta combinação de fontes é, seguidamente, dirigida para um detector que amplifica e mede a intensidade das mesmas. Por fim, é utilizado um suporte eletrônico que processa os dados e reporta valores de absorvância. Na **Figura 1.2** estão representados esquematicamente os componentes de um espectrómetro de absorção atômica com chama.

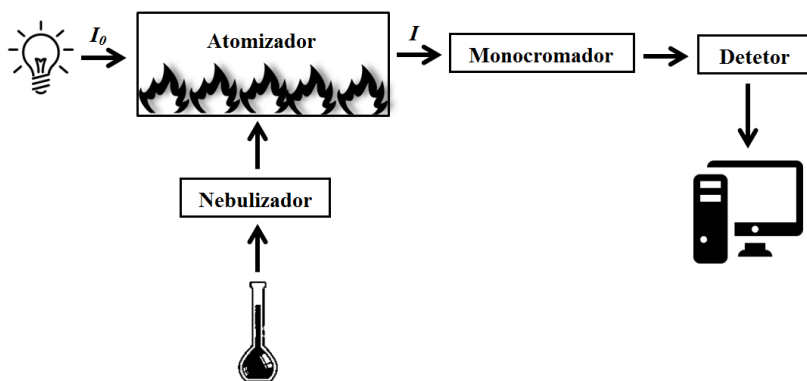


Figura 1.2 – Esquema dos componentes de um espectrômetro de absorção atômica com chama.

Alguns elementos, como o arsênio, para serem quantificados necessitam de uma etapa de pré-redução de amostra, antes da sua nebulização, através de um equipamento gerador de hidretos que é acoplado ao espectrômetro de absorção atômica.

1.2.2.1 Atomizador de chama

O atomizador de chama tem a função de converter as espécies de interesse de uma solução em átomos e iões na fase gasosa recorrendo a uma chama. O atomizador é constituído por um nebulizador pneumático que converte a solução estudada num aerossol que flui, através da câmara de nebulização, até ao queimador de fluxo laminar, onde é produzida a chama.

O nebulizador transforma continuamente a solução amostra numa nuvem de gotículas denominada de aerossol, isto é, uma suspensão de partículas líquidas finamente divididas num gás. O aerossol é produzido por aplicação de um fluxo de gás oxidante a elevadas pressões que aspira a solução, por efeito de *Venturi*, e a projeta numa esfera de impacto. O aerossol produzido é combinado com o combustível na câmara de nebulização, onde são removidas as gotas maiores de forma a minimizar a ocorrência de interferências químicas pela ineficácia da atomização de porções maiores de solução. O aerossol que atinge a chama contém apenas 5 % da solução inicial^[17]. O queimador de fluxo laminar, representado na **Figura 1.3**, produz uma chama moderadamente estável, ao longo do percurso ótico, capaz de quebrar quase todo o tipo de ligações interatômicas para produzir átomos e iões no estado gasoso. A mistura de gases que é fornecida ao queimador é potencialmente explosiva, pelo que o atomizador está equipado com um sistema de alívio de pressão^[15].

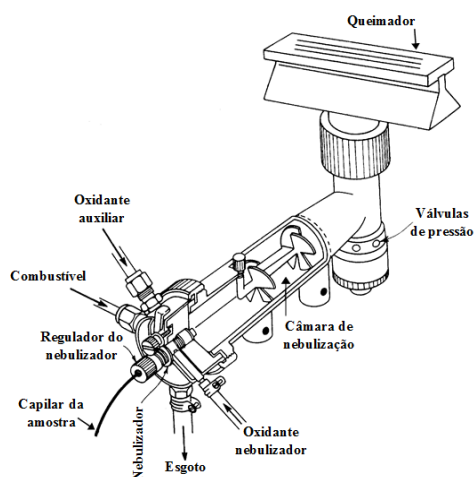


Figura 1.3 – Esquemática de um queimador de fluxo laminar, adaptado de^[15].

A chama produzida pode ser alimentada por diferentes combinações de agente oxidante e combustível. A combinação mais comum é ar/acetileno, a qual produz uma chama com uma temperatura capaz de atingir 2600 a 2900 °C^[17]. Na chama, a solução nebulizada é inicialmente dessolvada, ou seja, o solvente é evaporado na zona de combustão primária, e as partículas finamente divididas produzidas são encaminhadas para a região onde a chama atinge a sua temperatura máxima. A esta temperatura as espécies são vaporizadas e atomizadas. Por fim, os produtos de atomização são conduzidos para a zona de combustão secundária, onde pode ocorrer a oxidação dos mesmos antes que se dispersem na atmosfera^[15]. São as características da chama que determinam a eficiência de atomização, isto é, a fração de amostra nebulizada que é evaporada, vaporizada e convertida em átomos ou íons no estado gasoso.

1.2.2.2 Fontes de radiação

As lâmpadas de cátodo oco (HCL) são as fontes de radiação mais comuns em EAA. Estas fontes de radiação, representadas na **Figura 1.4**, são constituídas por um ânodo de tungstênio e um cátodo cilíndrico, fabricado com o(s) elemento(s) a analisar, selados num tubo de vidro que contém um gás inerte, como o argônio (Ar), a baixas pressões^[15]. A grande maioria das HCL tem um único elemento no cátodo permitindo apenas análises mono-elementares. Em alguns instrumentos, são usadas HCL com cátodos constituídos por ligas de três elementos permitindo a análise simultânea desses três elementos.

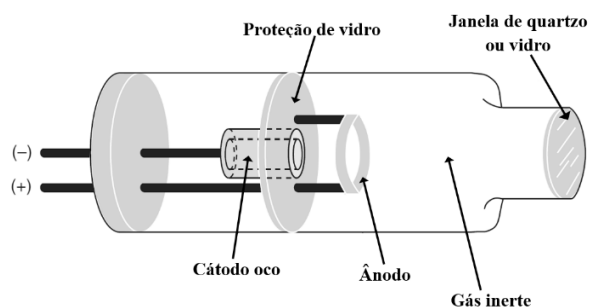


Figura 1.4 – Estrutura de uma lâmpada de cátodo oco, adaptado de^[17].

O funcionamento das HCL envolve fenômenos de ionização, pulverização catódica ou *sputtering* e excitação até que esta produza a radiação característica do elemento em estudo que irá incidir na chama. A aplicação de um potencial aos elétrodos produz a ionização do árgon (Ar), gerando uma corrente elétrica que leva à migração dos seus cátions (Ar^+) para o cátodo oco. Ao colidirem, os cátions de árgon têm energia suficiente para desalojar alguns átomos do metal (M) – *sputtering*, processo pelo qual os átomos são expelidos de uma superfície por incidência de um feixe de partículas carregadas. Os átomos metálicos removidos do cátodo encontram-se no seu estado excitado ($\text{M}(+)$) e ao retornarem ao estado fundamental ($\text{M}(0)$), emitem radiação (I_0) correspondente à radiação de absorção do elemento a analisar^[15], razão pela qual se utiliza uma lâmpada do mesmo metal que se pretende analisar. O funcionamento descrito encontra-se esquematizado na **Figura 1.5**. Após a emissão de radiação, os átomos metálicos ($\text{M}(0)$) retomam a superfície catódica ou depositam-se aleatoriamente por toda a lâmpada, conduzindo consequentemente à diminuição do tempo de vida da lâmpada.

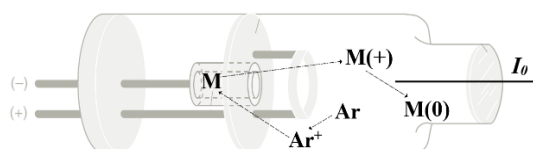


Figura 1.5 – Esquema do funcionamento da lâmpada de cátodo oco.

Devido à dispersão e emissão de radiação por outros fenômenos de excitação que podem ocorrer na chama, ao mesmo comprimento de onda do elemento que está a ser analisado, a maior parte dos espectrômetros de absorção atômica estão equipados com um sistema de feixe duplo que corrige o efeito da radiação de fundo. Esta correção é realizada mediante a utilização de uma lâmpada de deutério, isto é, uma fonte de referência contínua que estima a absorvância de fundo. Esta lâmpada consiste num tubo cilíndrico que contém deutério (D_2) a baixa pressão e uma janela de quartzo para a saída de radiação. O mecanismo de produção de radiação contínua envolve a excitação das moléculas de deutério por absorção de corrente elétrica que, ao decaírem para o estado fundamental, emitem radiação^[15]. A radiação proveniente das duas lâmpadas, ao incidir na chama em momentos diferentes, permite que a absorvância seja corrigida por diferença da absorvância total estimada pela HCL e da absorvância estimada pela lâmpada de deutério.

1.2.2.3 Monocromador e Detetor

O monocromador é um dispositivo usado para isolar o comprimento de onda específico a que a espécie de interesse absorve radiação. Este dispositivo dispersa a radiação com base nos comprimentos de onda que a compõem, isolando uma banda estreita que é direcionada para o detetor^[17]. Por sua vez, o detetor converte e amplifica a radiação num sinal elétrico de modo a que este seja medido por um sistema eletrônico, onde os dados são processados e apresentados na forma de absorvância.

O efeito fotoelétrico, isto é, a emissão de eletrões de uma superfície exposta a radiação eletromagnética, está na base da conversão e amplificação da radiação num sinal elétrico que ocorre no tubo fotomultiplicador do detetor. O tubo fotomultiplicador consiste num dispositivo que contém dois elétrodos separados por superfícies fotossensíveis, denominadas de díodos, dentro de um tubo de

vidro sob vácuo. O cátodo contém uma substância foto emissiva que, ao ser atingido por um feixe de radiação, causa o desalojamento de elétrons da sua superfície que são atraídos para o ânodo^[18], gerando assim uma corrente proporcional à intensidade da radiação. A função dos díodos entre dois elétrodos é aumentar o número de elétrons provenientes da superfície anterior, como esquematiza a **Figura 1.6**.

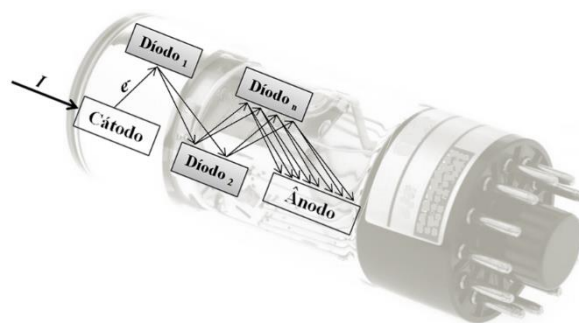


Figura 1.6 – Esquema do funcionamento do tubo fotomultiplicador.

O fluxo extremamente elevado de elétrons produzido pelos sucessivos bombardeamentos de elétrons entre os elétrodos é capaz de produzir um milhão de vezes mais de elétrons que o número inicial. Assim, este sistema de amplificação interna permite que a intensidade de radiações extremamente baixas seja convertida num sinal elétrico mensurável^[17], conferindo sensibilidade a esta técnica.

1.2.2.4 Gerador de hidretos

A geração de hidretos (GH) é uma técnica analítica desenvolvida com o objetivo de separar um analito específico de uma matriz, aumentando assim a sensibilidade da técnica de EAA e evitando a ocorrência de interferências espectrais, físicas e de matriz. Usualmente, esta técnica é aplicada na análise de alguns elementos que apresentam comprimentos de onda de absorção e emissão inferiores a 200 nm, como é o caso do arsénio. A detecção do metal, a comprimentos de onda reduzidos, é significativamente afetada pela presença de fortes interferências causadas por radicais. O gerador de hidretos é um equipamento que envolve um sistema complexo de produção de hidretos de metal, o qual é acoplado ao espectrómetro por ligação direta ao atomizador, rejeitando a utilização do nebulizador. O processo pelo qual são produzidos os hidretos do metal, por exemplo, a arsina (AsH_3), consiste na mistura da solução aquosa em estudo com uma solução redutora de tetraborohidreto de sódio (NaBH_4), resultando numa mistura de duas fases: hidretos voláteis do analito e um excesso de solução redutora. Esta mistura é encaminhada para um separador gás/líquido, no qual um fluxo de gás inerte (Ar) conduz a fase gasosa que contém o vapor de analito até ao queimador. No queimador, a fase gasosa é decomposta em átomos metálicos gasosos. A determinação de metais pela técnica GH-EAA é significativamente mais sensível que a atomização direta na chama, conseguindo aumentar a sensibilidade até cerca de 3000 vezes^[19].

1.2.3 Interferências

A EAA é uma técnica com uma elevada seletividade, pois baseia-se em transições eletrônicas seletivas de cada elemento. Apesar da sua seletividade e sensibilidade, é afetada por diferentes tipos de interferências, isto é, por fontes de variação de radiação independentes da concentração do analito^[17]. As interferências dividem-se em espectrais e não espectrais.

1.2.3.1 Interferências espectrais

As interferências espectrais resultam de uma absorção de fundo maior que o compensável pela correção de fundo disponível ou da absorção de radiação por um elemento interferente que se sobrepõe total ou parcialmente à banda de absorção do analito. A relevância das interferências espectrais produzidas por um elemento interferente é função da resolução no monocromador. A separação incompleta ou impossível da radiação transmitida produz resultados com erros positivos, uma vez que os valores são estimados por excesso devido à contribuição da absorção interferente. Se a interferência resultar de bandas largas de absorção molecular, pode ser ultrapassada pela utilização de um sistema de correção da radiação de fundo baseado na emissão de lâmpada de deutério^[15]. A correção de fundo com lâmpada de deutério não consegue eliminar interferências que resultam da absorção de radiação por um elemento interferente. Neste caso, o analista deve selecionar um comprimento de onda de absorção do analito que seja mais seletivo.

1.2.3.2 Interferências não espectrais

Neste tipo de interferências ocorrem diferenças físicas ou químicas entre as soluções analisadas e soluções de referência (por exemplo, soluções padrão de calibração do espectrómetro) que afetam a eficiência da atomização do analito e, conseqüentemente, os resultados das quantificações.

As interferências físicas estão relacionadas com os processos de aspiração, nebulização e dessolvatação e envolvem diferenças de propriedades físicas das soluções como a viscosidade, tensão superficial e densidade, entre a solução amostra e as soluções padrão de calibração. Estes efeitos de matriz podem ser minimizados se for utilizada uma matriz equivalente em todas as soluções. A análise de metais em soluções não diluídas de ácido sulfúrico deve ser realizada usando soluções padrão de calibração preparadas com a mesma concentração de ácido sulfúrico porque estas soluções têm uma viscosidade superior à da água purificada.

As interferências químicas são características de certos elementos e ocorrem, usualmente, após a dessolvatação da solução da amostra. Estas interferências têm origem na reação do analito com o interferente da matriz sendo formado um produto de reação termicamente estável que dificulta a volatilização do elemento de interesse. A utilização de agentes complexantes do interferente, que reagem preferencialmente com este deixando o analito livre, ou a utilização uma mistura de gases que produza uma chama mais quente, permite minimizar ou eliminar este tipo de interferências. Se a temperatura da chama for demasiado elevada, uma fração importante dos átomos do analito que estão no estado gasoso são ionizados e, tendo em conta que o espectro de absorção dos iões é diferente do espectro dos átomos, a absorvância atômica é reduzida. A fração de elemento ionizada é reduzida quando a chama é constituída por elementos mais facilmente ionizáveis. A determinação do teor de metais em soluções contendo níveis elevados de metais alcalinos e alcalinoterrosos deve ser realizada

por adição de um excesso destes metais com baixas energias de ionização tanto nas amostras como nos padrões de calibração, para assegurar que a fração de analito ionizada na chama é a mesma nos dois tipos de soluções^[15].

Uma vez conhecidas as interferências em absorção atômica, é relativamente simples atenuá-las ou eliminá-las, tornando a EAA uma excelente técnica de análise.

1.3 Validação de procedimentos

O VIM define validação como “verificação na qual os requisitos especificados são adequados para um uso pretendido” sendo verificação definida como “fornecimento de evidência objetiva de que um dado item satisfaz requisitos especificados”^[3]. Em química analítica, a validação de um procedimento de medição é uma exigência imprescindível para a obtenção resultados credíveis e adequados ao fim a que se destinam. A validação de um procedimento de medição é um processo que envolve um balanço de custos, riscos e possibilidades técnicas^[20], que define requisitos analíticos e demonstra cientificamente que o desempenho do procedimento, nas condições em que se está a ser aplicado, se adequa ao seu propósito. Este processo envolve um tratamento metrológico que inclui a avaliação de uma série de parâmetros, nomeadamente seletividade, gama de trabalho, linearidade, limiares analíticos, precisão, veracidade e incerteza. A incerteza de medição estimada é utilizada para decidir se o procedimento de medição é adequado ao objetivo considerando o seu âmbito de aplicação.

1.3.1 Seletividade

A seletividade é uma “propriedade dum sistema de medição, utilizado com um procedimento de medição especificado, segundo a qual o sistema fornece valores medidos para uma ou várias mensurandas, tal que os valores de cada mensuranda sejam independentes uns dos outros ou de outras grandezas associadas ao fenómeno, corpo ou substância em estudo”^[3]. De um modo sucinto, é a aptidão que um procedimento analítico possui para identificar e distinguir inequivocamente um analito, numa matriz na qual existem outros componentes.

1.3.2 Gama de trabalho e linearidade

A gama de trabalho de um procedimento de medição é definida pelo intervalo de valores de grandeza (por exemplo, concentrações, frações de massa ou pH), para o qual o procedimento produz resultados com uma incerteza adequada ao objetivo. Normalmente, o limite inferior da gama corresponde ao limite de quantificação e o limite superior corresponde ao valor mínimo para o qual se começam a observar desvios relevantes do desempenho ou os valores de grandeza medidas são pouco frequentes ou impossíveis. A curva de calibração, referente à calibração de um instrumento de medição na gama trabalho pretendida, é uma “expressão da relação entre uma indicação e o valor medido correspondente da grandeza medida”^[3]. A construção de uma curva de calibração linear, aplicável numa gama de valores de grandeza alargada, é realizada a partir de n sinais instrumentais obtidos, no mínimo, a quatro valores de grandeza equidistantes^[21]. Quando um método instrumental tem a capacidade de gerar uma variação diretamente proporcional entre uma variável dependente (y) e uma

variável independente (x), é estabelecida uma relação matemática, representada pela **Equação 1.3**. A curva de calibração é caracterizada por esta relação linear entre as variáveis, que é obtida por um modelo de regressão linear, capaz de processar estatisticamente os dados experimentais.

$$y = mx + b \quad (1.3)$$

onde, m é o declive da curva de calibração e b a ordenada na origem. Aplicando esta equação à lei de Lambert-Beer, y corresponde à absorvância e x à concentração.

1.3.2.1 Método dos Mínimos Quadrados

O Método dos Mínimos Quadrados (MMQ) é um modelo de regressão paramétrico linear não ponderado que visa encontrar o melhor ajuste entre um conjunto de sinais de padrões de calibração, minimizando os sinais instrumentais residuais, com vista a determinar o valor de grandeza do parâmetro que se pretende medir no item estudado. A aplicação deste modelo requer que três pressupostos sejam satisfeitos: a homogeneidade de variâncias da resposta instrumental, a linearidade da resposta instrumental e a incerteza associada à razão de concentrações de qualquer par de padrões de calibração seja desprezável, considerando a precisão da resposta instrumental.

A homogeneidade da precisão do sinal instrumental, isto é, a constância da dispersão dos sinais ao longo de toda a gama de trabalho, pode ser testada facilmente pela execução do teste estatístico de Fisher. Neste teste são comparadas as variâncias da resposta instrumental entre as soluções padrão de calibração, com maior (s_{maior}^2) e menor (s_{menor}^2) concentração, da gama de calibração analítica, de acordo com a **Equação 1.4**.

$$F_{cal} = \frac{s_{maior}^2}{s_{menor}^2} \quad (1.4)$$

O valor calculado (F_{cal}) é comparado com um valor tabelado (F_{tab}), para um determinado nível de significância e graus de liberdade (ν) dos desvios padrão dos padrões de calibração utilizados. A gama de calibração é considerada homoscedástica, isto é, não contém diferenças significativas entre as variâncias dos sinais, quando o valor de F_{cal} é inferior a F_{tab} . Se o valor de F_{cal} for superior ao F_{tab} , constata-se uma diferença significativa entre as variâncias dos sinais dos padrões e a gama de calibração é heteroscedástica, não podendo ser avaliada de forma adequada pelo MMQ. Uma forma mais pragmática de avaliar a homogeneidade de variâncias é através da construção e observação de um gráfico de residuais. O gráfico de residuais representa as diferenças entre sinais instrumentais observados (y) e sinais instrumentais estimados (\hat{y}), para n leituras de cada padrão de calibração (i), em função da concentração (x) dos mesmos. A **Figura 1.7** generaliza a avaliação deste pressuposto e simultaneamente a avaliação da linearidade da resposta instrumental, através deste tipo de representação gráfica.

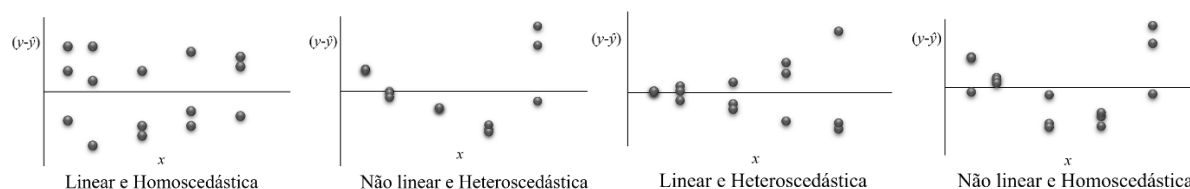


Figura 1.7 – Avaliação da linearidade e da homogeneidade variância da resposta instrumental recorrendo a gráficos de residuais (x e $(y-\hat{y})$) representam a concentração e os sinais residuais de cada padrão de calibração, respetivamente).

A linearidade da resposta instrumental também pode ser avaliada recorrendo ao coeficiente de correlação linear de Pearson (r) ou ao teste estatístico ANOVA-LOF. Por si só, o coeficiente de correlação linear de Pearson não é conclusivo sobre a linearidade de uma resposta instrumental, pelo que a informação deste deve ser complementada com resultados de outros testes^[22]. O teste estatístico ANOVA-LOF (Análise de variâncias - *Lack-of-fit*) consiste na comparação da variância da repetibilidade da resposta instrumental designada por erro puro (MS_{PE}) com a variância devido ao ajuste à linha de regressão dos sinais das soluções padrão de calibração (MS_{LOF}), de acordo com a **Equação 1.5**. Este teste só é válido se o pressuposto de homogeneidade da precisão dos sinais instrumentais for válido.

$$F_{LOF/PE} = \frac{MS_{LOF}}{MS_{PE}} = \frac{\frac{\sum_{i=1}^N n_i \times (\bar{y}_i - \hat{y}_i)^2}{(N-2)}}{\frac{\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^N (n_i - 1)}} \quad (1.5)$$

onde, N é o número de soluções padrão calibração (i) usados no traçar da curva de calibração cujos sinais foram lidos n_i vezes, \bar{y}_i o valor médio dos sinais da solução padrão de calibração i , \hat{y}_i o valor do sinal estimado para a solução padrão de calibração i a partir da linha de regressão e y_{ij} o sinal instrumental replicado (j) da solução padrão de calibração i lido n_i ^[23]. A razão das variâncias ($F_{LOF/PE}$) é comparada com um valor tabelado do teste de Fisher para um determinado nível de significância e graus de liberdade das variâncias das soluções padrão de calibração utilizados na curva de calibração. Se o valor de $F_{LOF/PE}$ for inferior ao F_{tab} , conclui-se que o modelo de regressão do MMQ ajusta-se aos dados experimentais que têm um comportamento linear.

A utilização de soluções padrão de calibração com uma qualidade adequada aos princípios da regressão é conseguida mediante a preparação destas soluções a partir de diluições sucessivas de uma solução padrão mais concentrada^[24].

Quando o modelo de regressão não ponderado satisfaz estes pressupostos, ou seja, é adequado para descrever a resposta instrumental, os erros aleatórios associados à resposta instrumental podem ser estimados através do desvio padrão residual (s_y) de acordo com a **Equação 1.6**.

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^N n_i - 2}} \quad (1.6)$$

O sucesso da utilização de modelos de regressão, na determinação de valores de grandezas de itens desconhecidos, depende da adequação do algoritmo usado para descrever a realidade físico-química^[21].

1.3.3 Limiares analíticos

O limite de deteção (LD) associado a um dado procedimento de medição, é o menor valor de grandeza (por exemplo, concentração) associado a um sinal instrumental significativamente diferente do sinal do branco, ou seja, é o valor de grandeza mínimo que pode ser distinguido do zero. O limite de quantificação (LQ) corresponde ao valor de grandeza mínimo que pode ser quantitativamente estimado, através do mesmo procedimento de medição, com fiabilidade razoável. Estes limites são estimados com base nos parâmetros do modelo regressão, declive e desvio padrão residual da curva de calibração, através das **Equações 1.7 e 1.8**, respetivamente.

$$LD = \frac{3 \times s_y}{m} \quad (1.7)$$

$$LQ = \frac{10 \times s_y}{m} \quad (1.8)$$

Contudo, se os pressupostos do modelo de regressão não forem devidamente assegurados, por exemplo, se se verificar heterogeneidade de variâncias da resposta instrumental, o s_y da regressão majora a precisão junto aos LD e LQ , e, conseqüentemente, estes limiares analíticos são sobrestimados. Assim, outra metodologia pode ser usada na estimativa destes limites, recorrendo à variabilidade dos resultados da análise de uma solução padrão de calibração com valor próximo do LD ou LQ . As **Equações 1.9 e 1.10** apresentam a estimativa do LD e do LQ , através desta metodologia, respetivamente.

$$LD = 3 \times s_{menor} \quad (1.9)$$

$$LQ = 10 \times s_{menor} \quad (1.10)$$

onde, s representa o desvio padrão de resultados replicados da análise de um padrão de calibração com valor equivalente ao LD ou LQ . Estes limiares analíticos, mais concretamente o LQ , estabelece o limite inferior da gama de calibração, através do qual não devem ser reportados valores quantitativos. As avaliações utilizadas abaixo do LD podem conduzir a falsas decisões relativamente à presença ou ausência do analito.

1.3.4 Precisão

A execução de medições replicadas de uma mensuranda permite estimar a precisão de medição. A precisão de medição é uma componente da incerteza de medição que está relacionada com os efeitos aleatórios, isto é, com a variação imprevisível que ocorre entre as medições replicadas. Segundo o VIM, é definida como o grau de concordância entre indicações ou valores medidos, obtidos por medições repetidas, no mesmo objeto ou em objetos similares, sob condições específicas de repetibilidade, precisão intermédia ou reprodutibilidade^[3].

A especificação das condições que variam ao longo das medições replicadas é um aspeto importante na avaliação da precisão. A condição de repetibilidade exige que as medições sejam realizadas pelo mesmo operador, procedimento de medição, equipamento, local e condições de operação, num curto período de tempo. Contrariamente, a condição de reprodutibilidade impõe que todos estes fatores sejam distintos, pela realização de medições replicadas em diferentes laboratórios. A condição de precisão intermédia implica que todas as fontes de variação observadas num único laboratório e num

período extenso de tempo afetam as réplicas. Neste caso, as condições de precisão são intermédias entre a repetibilidade e a reprodutibilidade.

Geralmente, a precisão de medição é expressa numericamente sob a forma de parâmetros estatísticos que descrevem a dispersão dos resultados, tipicamente o desvio padrão (s), a variância (s^2) ou o coeficiente de variação (s'). Para uma avaliação adequada da precisão, as medições replicadas devem ser efetuadas num item (por exemplo, uma amostra) que seja representativo de toda a população estudada em termos de matriz e valor de grandeza, e deve ser realizado um número mínimo de replicados, entre 6 e 15, para a obtenção de uma medição fiável da dispersão^[25].

1.3.5 Veracidade

A proximidade entre a estimativa da mensuranda a um valor convencionado como verdadeiro pode também ser afetada por erros sistemáticos, isto é, erros que se mantêm constantes ou que variam de forma previsível no procedimento de medição. A veracidade de medição, a outra componente da incerteza de medição, corresponde ao grau de concordância entre a média de um número infinito de valores medidos repetidos e um valor de referência^[3]. Uma vez que não se trata de uma grandeza mensurável, a veracidade é avaliada determinando a recuperação média do valor de referência. A recuperação média é determinada pela razão da média dos resultados de uma mensuranda e o valor de referência. Os itens com valor de referência usualmente estudados são materiais de referência, amostras fortificadas ou itens analisados por um método de referência^[25].

1.3.6 Incerteza

Em qualquer medição não existe um domínio e uma certeza absoluta sobre a natureza do que está a ser medido, surgindo assim o conceito de incerteza assente na popular expressão de dúvida. Este conceito reflete a falta de conhecimento sobre o valor exato da mensuranda^[26], caracterizando a qualidade do resultado de medição. O VIM define a incerteza de medição como um “parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão dos valores atribuídos a uma mensuranda, com base nas informações utilizadas”^[3], ou seja, a incerteza de medição corresponde à amplitude em torno do valor da grandeza medida que produz um intervalo no qual o valor convencionado como verdadeiro tem uma determinada probabilidade de estar incluído. A **Figura 1.8** apresenta as etapas envolvidas na estimativa da incerteza de medição.

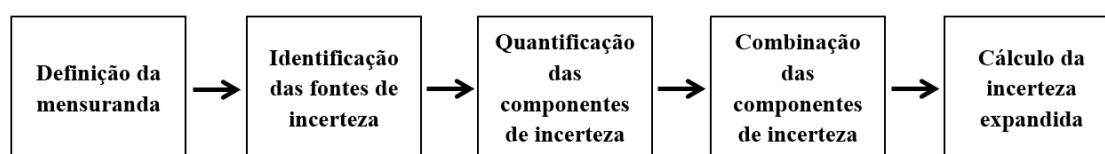


Figura 1.8 – Representação esquemática das etapas para a estimativa da incerteza de medição.

Na primeira etapa deve ser definida, inequivocamente, a grandeza que se pretende medir e a sua relação algébrica com os parâmetros de que depende. A incerteza de medição compreende uma série

de efeitos que afetam a melhor estimativa do resultado da mensurada, isto é, efeitos que causam desvios do valor estimado em relação ao valor convencionalizado como verdadeiro da mensurada, pelo que devem ser identificados como fontes de incerteza. Por vezes, a identificação das fontes que contribuem para a incerteza de medição é dificultada pela complexidade da medição. Usualmente, recorre-se à identificação das fontes de incerteza do procedimento de medição através da construção de um diagrama *Ishikawa*, também designado por diagrama causa/efeito ou “espinha de peixe”, como ilustra a **Figura 1.9**, onde cada ramo corresponde a uma fonte de incerteza. Em alguns casos, é comum ver as fontes de incerteza decompostas noutras fontes de incerteza. A simplicidade desta representação permite organizar eficazmente todas as fontes que contribuem para a incerteza global e, aquando a existência de correlações entre as mesmas, facilita as suas contabilizações.

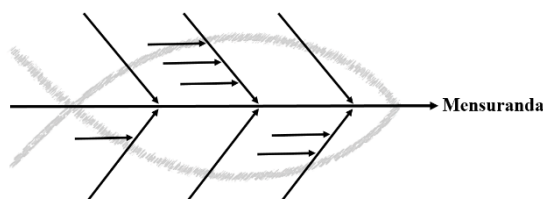


Figura 1.9 – Diagrama *Ishikawa*.

Após a identificação das fontes de incerteza que contribuem para a incerteza global, os seus valores de incerteza devem ser quantificados. A quantificação é efetuada com base na informação disponível, podendo ser dividida em dois tipos de estimativa igualmente válidas - tipo A e tipo B. As estimativas do tipo A baseiam-se numa análise estatística de dados experimentais obtidos por n repetições, em que a sua dispersão é caracterizada por medidas de dispersão, como o desvio padrão. As estimativas do tipo B são utilizadas quando os dados não são obtidos experimentalmente ou quando envolvem um número reduzido de determinações, usando-se desde modo informação de outras origens, pelo que a sua aplicação exige conhecimento e experiência. As estimativas de incerteza tipo B podem ser igualmente caracterizadas por um desvio padrão avaliado com base na função probabilidade de distribuição da variável.

Quando o número de dados disponíveis é elevado, a determinação da natureza da distribuição da variável é relativamente simples assumindo-se, na maioria dos casos, que os dados apresentam uma distribuição normal caracterizada pela média e desvio padrão. A ocorrência de desvios à normalidade pode ser influenciada pelo número reduzido de medições. Nesses casos, outras distribuições devem ser assumidas. A distribuição retangular uniforme é assumida quando se considera que o valor convencionalizado como verdadeiro da variável tem 100 % de probabilidade de estar compreendido num intervalo dado pela melhor estimativa da variável (x) e a amplitude (a) da variável ($x \pm a$) e, que é igualmente provável que esteja em qualquer ponto desse intervalo. A distribuição triangular assume igualmente um intervalo para o valor medido da variável ($x \pm a$), com um intervalo de confiança de 100 %, no entanto, o valor convencionalizado como verdadeiro tem maior probabilidade de se encontrar no centro da distribuição do que nos seus extremos. O desvio padrão (s) associado à distribuição retangular e triangular é dado pelas **Equações 1.11** e **1.12**, respetivamente.

$$s_{\square} = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad (1.11)$$

$$s_{\Delta} = \frac{a}{\sqrt{6}} \quad (1.12)$$

Outra distribuição que pode ser assumida, quando se conhece o número concreto de medições efetuadas, ou seja, o número de graus de liberdade, é a distribuição *t*-Student. Esta distribuição é semelhante à distribuição normal, uma vez que também é caracterizada pela média e desvio padrão, no entanto, é também função do número de graus de liberdade e da probabilidade selecionada na definição do intervalo da variável. A incerteza expandida da variável (U_x) é dada pela multiplicação de um valor *t* pelo desvio padrão, de acordo com a **Equação 1.13**. A distribuição *t*-Student aproxima-se da distribuição normal, quanto maior for o número de graus de liberdade.

$$U_x = t \times s \quad (1.13)$$

A incerteza padrão combinada (u) reúne todas as incertezas padrão das componentes de incerteza previamente identificadas. Esta é determinada através de uma relação algébrica apropriada, estimando assim a incerteza padrão global da medição. A incerteza expandida (U) é calculada mediante a multiplicação da incerteza padrão combinada por um fator de cobertura (k), que aumenta o nível de confiança da estimativa para, normalmente, 95 % ou 99 %.

A apresentação da informação analítica como um valor com incerteza associado permite que o resultado seja interpretável de forma objetiva, bem como a sua comparação a um valor de referência ou outro resultado expresso, igualmente, com incerteza. A incerteza garante confiança no que respeita à validade de um resultado da medição e, conseqüentemente, é um parâmetro determinante na validação de um procedimento de medição.

1.3.7 Definição de incerteza alvo

Considerando o fim a que se destinam as medições e a necessidade de se interpretar corretamente os seus resultados, é essencial que estes sejam rastreáveis a uma referência adequada e reportados com uma incerteza de medição suficientemente baixa^[27]. A avaliação da dimensão da incerteza de medição é a última etapa que encerra as avaliações preliminares da validação do procedimento de medição. De modo a assegurar que a qualidade das medições é adequada ao fim em vista, são definidos valores alvo para os parâmetros que caracterizam o desempenho da medição. Em alguns setores analíticos, a avaliação de conformidade dos itens analisados, considerando valores limite, requer que a medição tenha uma incerteza menor que um valor máximo admissível, denominada por “incerteza alvo”^[28]. O VIM define este conceito como “incerteza de medição especificada como um limite superior, a qual é definida com base no uso pretendido dos resultados de medição”^[3]. Na grande maioria dos setores analíticos, por exemplo, para a determinação de metais em sedimentos, não estão definidos valores alvo para os parâmetros de desempenho da medição, sugerindo assim, a definição da incerteza alvo com base numa estratégia que utiliza informação de outros setores analíticos. Dependendo das semelhanças no que concerne ao analito, matriz ou objetivo de medição, o valor de incerteza alvo definido para um setor analítico pode ser empregue diretamente ou com pequenos ajustes em outros problemas analíticos, quando devidamente justificado^[27].

No estudo da determinação de metais em sedimentos, os valores de incerteza alvo definidos têm por base os valores regulamentados na Diretiva nº 2015/1787 da Comissão de 6 de outubro de 2015 para a monitorização da qualidade da água destinada a consumo humano. Ao abrigo da mesma, a incerteza alvo para a determinação de arsénio é 30 % do valor paramétrico e para o cádmio, chumbo e níquel é

25 % dos respetivos valores paramétricos^[29]. Ainda assim, foi definido que, para a determinação de metais em sedimentos, a incerteza expandida alvo é 25 %. Apesar do controlo de qualidade das águas de consumo humano ser mais restrito que o controlo da contaminação de sedimentos, optou-se por usar para os sedimentos o mesmo requisito para a qualidade das medições.

1.4 Avaliação da incerteza de medição

Um valor expresso com incerteza fornece informação objetiva sobre a sua qualidade. A avaliação da incerteza de medição consiste num tratamento estatístico e metrológico do processo de medição, o qual engloba a quantificação e combinação das fontes de incerteza. Função da informação base utilizada para a quantificação da incerteza de medição, surgem diferentes abordagens de avaliação. Devido às origens distintas da informação, o conhecimento dos princípios subjacentes a cada abordagem é determinante na produção de estimativas de incerteza tecnicamente corretas^[30]. Em seguida, diferentes abordagens que seguem as etapas de quantificação da incerteza de medição supraditas, serão apresentadas.

1.4.1 Abordagem subanalítica

Os guias GUM (*Guide to the expression of Uncertainty Measurement*)^[26] e Eurachem^[31] propõem uma abordagem para a quantificação da incerteza de medição, designada por abordagem subanalítica, que se baseia na identificação, quantificação e combinação de todas as fontes de incerteza associadas aos efeitos aleatórios e sistemáticos que influenciam o resultado da medição. Com base, exclusivamente, em informação intralaboratorial, esta abordagem pressupõe que todas as fontes de incerteza, maioritárias e minoritárias, sejam contabilizadas isoladamente. De seguida descreve-se a contabilização da incerteza associada a etapas unitárias de pesagem, medição de volume e quantificação instrumental. Esta abordagem deve desenvolver modelos para as outras componentes de incerteza relevantes como a digestão ou extração da toma de ensaio.

1.4.1.1 Incerteza associada a uma pesagem

A incerteza padrão associada a uma pesagem (u_m) é estimada através de uma combinação linear da incerteza associada à calibração da balança (u^{cal}) com a repetibilidade da pesagem (u^{rep}), como expressa a **Equação 1.14**. No caso de ser efetuada uma pesagem por diferença da massa bruta pela tara, ambas as componentes são contabilizadas duas vezes, uma vez que se tratam de pesagens independentes.

$$u_m = \sqrt{(u^{cal})^2 + (u^{rep})^2} \quad (1.14)$$

A incerteza associada à calibração da balança corresponde à incerteza da linearidade e sensibilidade da resposta instrumental, determinada por uma estimativa do tipo B, recorrendo ao erro máximo de indicação da balança, retirado do certificado do equipamento, e assumindo uma distribuição retangular uniforme para o erro. A incerteza associada à repetibilidade é estimada pelo desvio padrão de pesagens sucessivas obtidas em condições de repetibilidade.

1.4.1.2 Incerteza associada a uma medição de volume

A incerteza padrão associada a uma volumetria (u_v) é, igualmente, estimada por uma combinação linear entre a incerteza associada à calibração do material volumétrico (u^{cal}), à repetibilidade da manipulação do mesmo (u^{rep}) e ao efeito da temperatura (u^{Temp}), de acordo com a **Equação 1.15**.

$$u_v = \sqrt{(u^{cal})^2 + (u^{rep})^2 + (u^{Temp})^2} \quad (1.15)$$

A incerteza associada à calibração do material volumétrico convencional ou automático é determinada por uma estimativa do tipo B, recorrendo à tolerância referente ao valor nominal do seu volume, fornecida pelo fabricante, e assumindo uma distribuição retangular uniforme ou triangular. A incerteza associada à repetibilidade é estimada pelo desvio padrão da massa de volumes replicados de água purificada contida ou dispensada pelo material volumétrico, em condições de repetibilidade, visto que a densidade da água à temperatura ambiente é aproximadamente 1 g mL⁻¹. Assim, o desvio padrão da massa em grama é equivalente ao do volume valor em mililitros. A incerteza associada ao efeito da temperatura reflete o impacto da temperatura do laboratório na medição do volume referenciado a 20 °C. Se a temperatura variar entre mais ou menos 4 °C, acima e abaixo de 20 °C, este efeito é desprezável.

1.4.1.3 Incerteza associada à quantificação instrumental

A incerteza associada à quantificação instrumental ($u_{C_{int}}$) é estimada com base na incerteza associada à interpolação do sinal da amostra na curva de calibração (u_{int}) obtida por um modelo de regressão e na incerteza associada à preparação das soluções padrão de calibração (u_{std}), de acordo com a **Equação 1.16**.

$$u_{C_{int}} = C_{int} \times \sqrt{\left(\frac{u_{int}}{C_{int}}\right)^2 + \left(\frac{u_{std}}{C_{std}}\right)^2} \quad (1.16)$$

onde, C_{int} é a concentração interpolada obtida na quantificação instrumental e C_{std} é a concentração da solução padrão de calibração utilizada nesta combinação. Quando a curva de calibração é adequadamente descrita pelo modelo de regressão MMQ, o que implica que os pressupostos previamente descritos estão salvaguardados, a incerteza associada à interpolação do sinal é estimada através da **Equação 1.17**.

$$u_{int} = \frac{s_y}{m} \times \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y}_a - \bar{y})^2}{m^2 \times \sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad (1.17)$$

onde, m é o declive da curva de calibração, s_y o desvio padrão residual da curva de calibração, N o número de leituras das soluções padrão usadas para traçar a curva de calibração, n o número de leituras da amostra, \bar{y}_a o valor médio das n leituras da amostra, \bar{y} o valor médio das N leituras das soluções padrão de calibração, x_i o valor da concentração de cada padrão de calibração (i) e \bar{x} o valor médio das concentrações das soluções padrão de calibração. Dependendo do procedimento envolvido, a incerteza associada à preparação das soluções padrão de calibração pode ser estimada pela combinação das incertezas associadas às etapas gravimétricas e/ou volumétricas envolvidas. No entanto, quando preparadas a partir da mesma solução padrão concentrada, com incerteza de

diluição desprezável, assume-se que o termo $\left(\frac{u_{std}}{C_{std}}\right)$ é estimado pela incerteza padrão relativa associada ao valor da concentração da solução padrão concentrada.

Após reunidas e quantificadas, as componentes de incerteza são combinadas.

1.4.1.4 Lei de propagação de incertezas

A lei de propagação de incertezas (LPI) é utilizada para a combinação das componentes de incerteza, sob a forma de incertezas padrão. Quando as variáveis de entrada são independentes (a , b , n) as respetivas incertezas padrão combinam-se através da **Equação 1.18**.

$$u_x = \sqrt{\left(\frac{\partial x}{\partial a}\right)^2 \times u_a^2 + \left(\frac{\partial x}{\partial b}\right)^2 \times u_b^2 + \dots + \left(\frac{\partial x}{\partial n}\right)^2 \times u_n^2} \quad (1.18)$$

Esta equação geral por ser apresentada em formas mais simples aplicáveis quando as variáveis de entrada se combinam em forma de expressões lineares ou multiplicativas. As **Equações 1.19 e 1.21** descrevem as expressões lineares e multiplicativas, respetivamente, e as **Equações 1.20 e 1.22** a respetiva combinação de incertezas.

$$x = h + h_a \times a + h_b \times b + \dots + h_n \times n \quad (1.19)$$

$$u_x = \sqrt{(h_a \times u_a)^2 + (h_b \times u_b)^2 + \dots + (h_n \times u_n)^2} \quad (1.20)$$

$$x = \frac{ha}{bn} \quad (1.21)$$

$$\frac{u_x}{x} = \sqrt{\left(\frac{u_a}{a}\right)^2 + \left(\frac{u_b}{b}\right)^2 + \dots + \left(\frac{u_n}{n}\right)^2} \quad (1.22)$$

em que, h é um valor constante que não tem incerteza.

A abordagem subanalítica é muito exigente em termos do domínio do conceito de incerteza de medição e a sua aplicação implica o cumprimento de algumas condições e pressupostos. A LPI só é aplicável quando a função $x = f(a, b, \dots, n)$ varia de forma aproximadamente linear com variações das variáveis de entrada relacionadas com a dimensão da respetiva incerteza. Existem ferramentas de avaliação deste pressuposto. Outra limitação desta abordagem é assumir que o resultado final tem uma distribuição, pelo menos, aproximadamente normal^[32]. Qualquer desvio em relação a estas condições “ideais” implica que o resultado providenciado pela abordagem seja apenas uma aproximação e, por vezes, a sua aplicação pode não ser adequada. O método das Simulações de Monte Carlo, descrito num suplemento do GUM^[33], é uma alternativa à combinação das componentes de incerteza, quando estas condições não são cumpridas, viabilizando a estimativa da incerteza de medição para casos mais complexos.

1.4.1.5 Método das Simulações de Monte Carlo

O método das Simulações de Monte Carlo (SMC) é um método numérico que, através de uma ferramenta computacional, simula pseudo aleatoriamente valores das variáveis de entrada de forma repetida a fim de obter uma distribuição exata do resultado final. Neste contexto, este método constitui uma alternativa para se avaliar a propagação das incertezas de medição^[34]. Este método, em oposição à LPI, pode ser aplicado a equações modelo marcadamente não-lineares e a combinação das componentes de incerteza é realizada através das funções de distribuição das variáveis de entrada, e não com base nas suas melhores estimativas e incertezas padrão, designando este método como um método de propagação de distribuições. Deste modo, a aplicação das SMC visa obter uma estimativa da distribuição dos valores da mensuranda e não apenas a melhor estimativa do seu resultado, habitualmente apresentado como tendo uma distribuição normal, e o respetivo parâmetro estatístico de dispersão^[32].

Se estiver disponível um sistema computacional capaz de gerar adequadamente números aleatórios, este método é relativamente fácil de implementar. O processo envolve o estabelecimento de uma equação modelo que relaciona as variáveis de entrada com o resultado final da mensuranda e representa todas as componentes de incerteza. Para cada componente de incerteza é selecionada a sua distribuição e, com base nela, são gerados resultados das variáveis de entrada segundo a distribuição definida^[31-33]. O conjunto de valores simulados, correspondentes a todas as variáveis, são combinados pela aplicação da equação modelo instituída, estimando a melhor distribuição dos valores da mensurada. A partir da função de distribuição da mensurada obtida podem ser extraídos quaisquer parâmetros estatísticos, incluindo a melhor estimativa do resultado, a incerteza de medição e o intervalo de confiança, por extração dos seus correspondentes percentis. A principal limitação da aplicação desta ferramenta deve-se à natureza computacional intensiva^[31].

Em procedimentos analíticos que envolvam etapas analíticas complexas, isto é, etapas com desempenho difícil de modelar, por exemplo digestões, extrações, filtrações, etc., nem mesmo o pragmatismo do método das SMC facilita a utilização da abordagem subanalítica. Por outro lado, quando aplicável, esta abordagem possibilita estimar a contribuição percentual de cada componente de incerteza e, desta forma, o melhoramento do desempenho do procedimento analítico e/ou a redução dos custos envolvidos.

1.4.2 Abordagens supra-analíticas

As abordagens supra-analíticas são alternativas muito simples para quantificar a incerteza de medição de procedimentos analíticos complexos. Estas abordagens, com possibilidade de utilizar dados exclusivamente intralaboratorias, consistem na combinação das incertezas associadas aos parâmetros de desempenho global da medição, precisão e veracidade, estimadas durante um estudo de validação intralaboratorial com a incerteza associada às componentes de incerteza que são mantidas constantes durante o estudo. Desde modo, grande parte das correlações entre variáveis é contabilizada nos parâmetros de desempenho global. Os guias Eurachem^[31] e Nordtest^[35] propõem duas formas distintas de quantificação da incerteza de medição que envolvem a combinação das incertezas padrão relativas das componentes de incerteza identificadas, expressas através da **Equação 1.23**. Habitualmente, as componentes de incerteza mantidas constantes durante os estudos de validação são desprezáveis.

$$u' = \sqrt{(u'_{\text{precisão}})^2 + (u'_{\text{veracidade}})^2} \quad (1.23)$$

onde, $u'_{\text{precisão}}$ é a incerteza padrão relativa associada à precisão e $u'_{\text{veracidade}}$ é a incerteza padrão relativa associada à veracidade. Ambas as abordagens seguem metodologias de avaliação semelhantes, diferindo apenas na estimativa da incerteza associada à veracidade de medição.

1.4.2.1 Incerteza associada à precisão

A componente de incerteza associada à precisão da medição é quantificada pelo desvio padrão da precisão intermédia que pode ser determinado pela combinação dos desvios padrão (s_j) de vários ensaios replicados (n_j) de amostras diferentes (j) obtidas em condições de precisão intermédia, de acordo com a **Equação 1.24**.

$$u_{\text{precisão}} = s_{PI} = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^t (n_j - 1) \times s_j^2}{\sum_{j=1}^t (n_j - 1)}} \quad (1.24)$$

onde, $u_{\text{precisão}}$ é a incerteza padrão associada à precisão, s_{PI} é o desvio padrão da precisão intermédia e t é o número de amostras.

1.4.2.2 Incerteza associada à veracidade

A veracidade de medição reflete os efeitos sistemáticos que afetam a melhor estimativa do resultado da medição, sendo avaliada através do cálculo da recuperação média de analito (\bar{R}_m). O estudo da recuperação é, frequentemente, realizado através da análise de n amostras fortificadas, isto é, amostras às quais é adicionado um teor conhecido de analito. A fortificação pode ser realizada em amostras com ou sem analito nativo. No caso de amostras que contenham analito nativo, o valor da concentração nativa de analito deve ser subtraído à concentração observada após a fortificação. A recuperação média de analito pode ser calculada através da **Equação 1.25**.

$$\bar{R}_m = \frac{(\bar{C}_{\text{observada}} - \bar{C}_{\text{nativa}})}{C_{\text{fortificada}}} \quad (1.25)$$

onde, $\bar{C}_{\text{observada}}$ é a concentração média de analito observada, \bar{C}_{nativa} é a concentração média de analito nativo e $C_{\text{fortificada}}$ é a concentração da fortificação.

O guia Eurachem propõe que a incerteza associada à veracidade seja estimada através da combinação das incertezas associadas à recuperação média de analito ($u_{\bar{R}_m}$), à influência da matriz da amostra e/ou concentração do analito na recuperação (u_{R_s}) e à equivalência da recuperação de analito considerando o analito presente nas amostras envolvido no estudo da recuperação ($u_{R_{rep}}$). As incertezas associadas à influência da matriz das amostras e/ou concentração do analito e à equivalência da forma físico-química do analito presente nas amostras e nos itens de referência não são contabilizadas quando o procedimento analítico compreende uma gama de concentrações estreita e é aplicável a um tipo de matriz e a forma físico-química do analito presente nas amostras e itens de referência é

equivalente em termos analíticos. Deste modo, a incerteza associada à veracidade é dada pela **Equação 1.26**.

$$u'_{\text{veracidade}} = u'_{\bar{R}_m} = \sqrt{\frac{s_{R_m}^2}{\bar{R}_m^2 \times n} + \left(\frac{u_{C_{\text{fortificada}}}}{C_{\text{fortificada}}}\right)^2} \quad (1.26)$$

onde, $u'_{\text{veracidade}}$ é a incerteza padrão relativa associada à veracidade, $u'_{\bar{R}_m}$ é a incerteza padrão relativa da recuperação média de analito, s_{R_m} é o desvio padrão associado à recuperação média analito, n é o número de recuperações, $u_{C_{\text{fortificada}}}$ é a incerteza padrão associada à concentração da amostra fortificada ($C_{\text{fortificada}}$).

A dimensão dos erros sistemáticos que afetam os resultados de medição deve ser posteriormente avaliada por um teste t -Student, de acordo com a **Equação 1.27**.

$$t_{\text{cal}} = \frac{|1 - \bar{R}_m|}{u_{\bar{R}_m}} \quad (1.27)$$

Este teste avalia se \bar{R}_m é significativamente diferente de 100 %. O valor de t calculado (t_{cal}) é comparado com um valor de t tabelado (t_{tab}) associado aos graus de liberdade da $u'_{\bar{R}_m}$. Se o valor de t_{cal} for inferior ao valor de t_{tab} , os efeitos sistemáticos não são relevantes. Quando o valor de t_{cal} é superior ao valor de t_{tab} , existem erros sistemáticos revelantes visto que a recuperação média de analito é significativamente diferente de 100 %, pelo que é necessário recorrer a uma correção destes desvios, mediante a multiplicação dos valores da mensuranda pelo inverso da \bar{R}_m .

Sob outra perspetiva, o guia Nordtest propõe que os efeitos sistemáticos sejam incluídos na estimativa da incerteza de medição, rejeitando a avaliação de significância destes desvios. A **Equação 1.28** traduz a forma como a incerteza associada à veracidade (u'_{bias}) é quantificada por este guia. O “*bias*” é um componente de incerteza que se refere ao erro médio relativo de medição, que pode ser calculado através da **Equação 1.29**.

$$u'_{\text{veracidade}} = u'_{\text{bias}} = \sqrt{\frac{s_{R_m}^2}{\bar{R}_m^2 \times n} + \left(\frac{u_{C_{\text{fortificada}}}}{C_{\text{fortificada}}}\right)^2 + (\text{bias})^2} \quad (1.28)$$

$$\text{bias}' = \frac{(\bar{C}_{\text{observada}} - \bar{C}_{\text{nativa}}) - C_{\text{fortificada}}}{C_{\text{fortificada}}} \quad (1.29)$$

onde, u'_{bias} é a incerteza padrão relativa associada ao *bias*.

Apesar destas abordagens englobarem todas as componentes de incerteza da medição, inclusive as componentes correspondentes a etapas analíticas complexas, não é possível reportar a contribuição percentual de cada etapa analítica para a incerteza. Apenas se pode reportar a contribuição percentual da precisão e veracidade que é pouco útil para a otimização da medição.

1.4.3 Abordagem diferencial

A abordagem diferencial surge como uma resposta às limitações das abordagens previamente descritas. Reunindo as principais vantagens das abordagens subanalítica e supra-analíticas, esta abordagem alternativa tem a capacidade de estimar a contribuição percentual de todas as etapas analíticas na incerteza do resultado final, incluindo o desempenho de etapas analíticas complexas. Desta forma esta abordagem produz modelos detalhados do desempenho analítico, independentemente da complexidade da medição, com vista a permitir a otimização da medição e a produção de estimativas de incerteza de elevada qualidade. A metodologia base para quantificar a incerteza de medição consiste na divisão do procedimento analítico em etapas analíticas simples, as quais são descritas por modelos conhecidos, e etapas analíticas complexas, as quais não são descritas por modelos fundamentados em conhecimento detalhado dos seus princípios^[4]. A incerteza padrão relativa de medição (u') é estimada usando a LPI, na qual são discriminadas as incertezas padrão relativas associadas às componentes simples ($u'_{simples}$), às componentes complexas ($u'_{complexas}$) e à recuperação média do analito ($u'_{\bar{R}_m}$), como demonstra a **Equação 1.30**.

$$u' = \sqrt{(u'_{simples})^2 + (u'_{complexas})^2 + (u'_{\bar{R}_m})^2} \quad (1.30)$$

A incerteza associada às componentes simples é obtida sob a forma de uma incerteza padrão relativa por combinação das componentes de incertezas associadas às etapas analíticas simples (por exemplo pesagens, volumetrias e quantificação instrumental) estimadas de modo análogo ao descrito para a abordagem subanalítica. A combinação destas componentes de incerteza pode ser realizada mediante a LPI, caso os pressupostos supramencionados se verifiquem, ou através do método das SMC. Paralelamente, é estimada a incerteza associada à precisão intermédia ($u'_{precisão}$), por exemplo de acordo com a **Equação 1.24**, a qual é comparada com a combinação das componentes das etapas analíticas simples ($u'_{simples}$) que afetam a precisão estimada. Os dois valores são comparados estatisticamente através de um teste de Fisher unilateral para um nível de confiança de 95 %, avaliando a significância entre eles. Se o valor da $u'_{precisão}$ não for significativamente superior ao valor da $u'_{simples}$, conclui-se que a incerteza associada às etapas analíticas simples é suficiente para descrever a dispersão dos valores ou que a sua incerteza de precisão foi sobrestimada. Caso se verifique o contrário, estima-se por diferença a incerteza associada às etapas analíticas complexas, podendo determinar-se a sua contribuição para a incerteza de medição^[4]. A incerteza associada à recuperação média do analito é estimada como descrita na abordagem supra-analítica proposta no guia Eurachem.

Esta abordagem permite extrair uma quantidade de informação extra, resultante da interpretação da informação subanalítica e supra-analítica reunida, útil para a otimização da medição.

O conhecimento detalhado das abordagens, das suas vantagens, limitações e diferenças, do processo de avaliação da incerteza de medição, é essencial para a produção de estimativas de incertezas da medição metrologicamente corretas e adequadas ao fim a que se destinam^[30].

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

A Divisão de Química e Poluição do Meio Marinho do Instituto Hidrográfico tem procedimentos de medição desenvolvidos para a determinação de metais pesados em sedimentos por espectrometria de absorção atômica. Neste trabalho procedeu-se à validação dos procedimentos de determinação de arsénio, cádmio, níquel e chumbo em sedimentos. Estes procedimentos têm uma etapa prévia de digestão das amostras seguida da quantificação por EAA com chama.

2.1 Material e equipamento

Os sedimentos e os reagentes foram pesados na balança analítica *Mettler Toledo AE 240*. A digestão dos sedimentos foi efetuada pelo micro-ondas *Milestone ETHOS PLUS*, apresentado na **Figura 2.1**, equipado com um rotor de 10 posições, um sensor de temperatura e um *software MWB-640*.



Figura 2.1 – Digestor de micro-ondas.

A quantificação dos metais foi realizada num espectrómetro de absorção atômica *Thermo Scientific iCE™ 3500*, equipado com as lâmpadas de cátodo oco de cada elemento, um sistema de correção de fundo com lâmpada de deutério, um queimador e um *software* de aquisição de dados *Thermo Scientific*. A quantificação do As foi efetuada por com um gerador de hidretos com um tubo em T de sílica. Na quantificação do Cd foi utilizado um tubo STAT (*Slotted Tube Atom Trap*), a fim de aumentar a sensibilidade da medição. A **Figura 2.2** e a **Figura 2.3** apresentam os equipamentos mencionados.



Figura 2.2 – Espectrômetro absorção atômica.

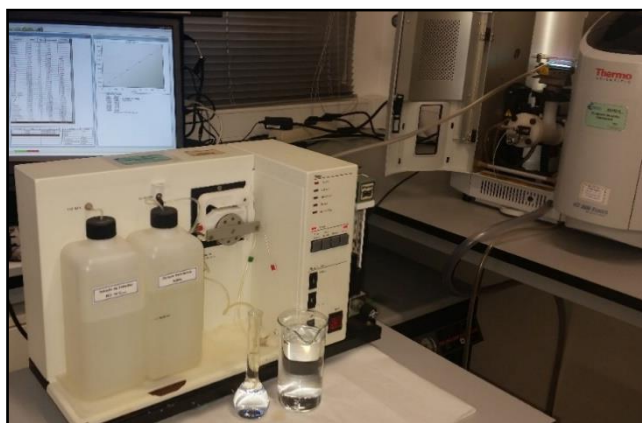


Figura 2.3 – Gerador de hidretos acoplado ao espectrômetro de absorção atômica.

As soluções padrão de calibração e de controle foram preparadas em balões volumétricos de 50 mL e 100 mL de classe A, utilizando micropipetas *Hirschmann* 5 – 50 μL , *Biohit* 50 – 200 μL , *LLG* 100 – 1000 μL , *Sartorius* 100 – 1000 μL e pipetas volumétricas de 5 mL de classe AS, em função da gama de medição pretendida.

Foi utilizado um equipamento de purificação de água *Q-POD® Element Merck Millipore* e material corrente de laboratório.

2.2 Reagentes

Na preparação das amostras estiveram envolvidos diferentes reagentes de acordo com o procedimento adotado. Para as amostras preparadas de acordo com o procedimento OSPAR, foram utilizados os seguintes reagentes: HCl 30 % (V/V), $\rho = 1,15 \text{ g mL}^{-1}$, HNO₃ 65 % (V/V), $\rho = 1,39 \text{ g mL}^{-1}$, ácido fluorídrico (HF) 40 % (V/V), $\rho = 1,13 \text{ g mL}^{-1}$ e ácido bórico (H₃BO₃), pureza $\geq 99,8 \%$ da *Merck* e água ultrapura. No procedimento EPA 3050B, as amostras foram preparadas utilizando HNO₃ 65 % (V/V), $\rho = 1,39 \text{ g mL}^{-1}$ da *Merck* e água ultrapura.

Na determinação de As, foi adicionado às soluções amostra, preparadas por ambos os procedimentos, às soluções padrão de calibração e de controle, uma solução redutora. Esta solução foi preparada com iodeto de potássio (KI), $\rho = 3,13 \text{ g mL}^{-1}$, pureza $\geq 99,5 \%$ da *Chem-Lab*, ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), $\rho = 1,69 \text{ g mL}^{-1}$ da *VWR* e água ultrapura.

As soluções padrão de calibração, para a determinação de cada metal, foram preparadas a partir das respectivas soluções padrão da *Panreac*: As ($1003,0 \pm 1,5$) mg L^{-1} , Cd ($1001,0 \pm 1,5$) mg L^{-1} , Ni ($1001,0 \pm 1,5$) mg L^{-1} e Pb ($1001,0 \pm 1,5$) mg L^{-1} , e de água ultrapura acidificada. Na preparação das soluções padrão de calibração de As foi utilizada uma solução aquosa acidificada com ácido clorídrico (HCl) 10 % (V/V) e na preparação das soluções padrão de calibração dos restantes metais foi utilizada uma solução aquosa de ácido nítrico (HNO_3) 0,5 % (V/V). Estas soluções aquosas acidificadas foram preparadas, em água ultrapura, a partir de HCl 30 % (V/V), $\rho = 1,15 \text{ g mL}^{-1}$ e HNO_3 65 % (V/V), $\rho = 1,39 \text{ g mL}^{-1}$ da *Merck*.

As soluções padrão de controle, de cada metal, foram preparadas a partir das respectivas soluções padrão da *Merck*: As (988 ± 3) mg L^{-1} ($k = 2$; n.c. 95 %), Cd (990 ± 3) mg L^{-1} ($k = 2$; n.c. 95 %), Ni (984 ± 4) mg L^{-1} ($k = 2$; n.c. 95 %) e Pb (989 ± 4) mg L^{-1} ($k = 2$; n.c. 95 %), e da mesma água purificada acidificada utilizada na preparação das soluções padrão de calibração.

No espectrómetro, para a atomização das soluções, foi utilizado ar comprimido como agente oxidante e acetileno (C_2H_2) como combustível. Adicionalmente, somente na quantificação de As, foi utilizado argon (Ar) para arraste do vapor de hidretos.

Aquando do acoplamento de gerador de hidretos ao espectrómetro, para determinação de As, foi utilizada a solução aquosa acidificada de HCl 10 % (V/V) e uma solução aquosa de borohidreto, preparada a partir de tetraborohidreto de sódio (NaBH_4), pureza $\geq 96 \%$ da *Fisher Chemical*, hidróxido de sódio (NaOH), pureza $\geq 99 \%$ da *Fisher Scientific* e água ultrapura para geração de hidretos.

2.3 Procedimento experimental

O procedimento experimental envolveu a preparação de soluções padrão de calibração e de controle e o pré-tratamento das amostras, seguindo-se as respectivas leituras no espectrómetro de absorção atômica.

2.3.1 Preparação das amostras

Neste trabalho experimental foram analisados três sedimentos distintos, previamente fracionados, liofilizados e moídos, e o material de referência certificado (MRC) WQB-1 *National Water Research Institute*^[36]. A **Tabela 2.1** apresenta os valores certificados de concentração e incerteza expandida para um nível de confiança de 95 % para o MRC, função do procedimento de digestão empregue. Os sedimentos foram designados como amostras A, B e C. Foram analisados um duplicado da amostra A (A_{II}) e duas fortificações dos sedimentos A (A_F) e C (C_F).

Tabela 2.1 – Valores de referência certificados do MRC WQB-1^[36].

Metal	Procedimento de digestão	Concentração (mg kg ⁻¹)	$U, k = 2$ (mg kg ⁻¹)
As	OSPAR	23,00	1,84
	EPA	23,10	-
Ni	OSPAR	61,50	17,60
	EPA	63,10	-
Pb	OSPAR	83,70	22,30
	EPA	85,00	-

Na **Tabela 2.2**, são apresentados os valores de volumes adicionados de solução padrão *Panreac* ($\approx 1000 \text{ mg L}^{-1}$) de Cd, Ni, Pb e da solução padrão intermediária de 10 mg L^{-1} de As para preparar as amostras A_F e C_F e a fração de massa esperada das mesmas.

Tabela 2.2 – Volumes de solução padrão pipetados para a preparação das amostras fortificadas e respetiva fração de massa esperada.

Metal	Volume (μL)	Concentração (mg kg ⁻¹)
As	375	7,5
Cd	5	10,0
Ni	25	50,0
Pb	25	50,0

Para a determinação dos metais nos sedimentos e no MRC, foi necessário submeter os sedimentos a uma etapa prévia de extração dos metais para uma fase aquosa. Foram realizados dois procedimentos distintos de digestão por micro-ondas. Os procedimentos basearam-se no procedimento OSPAR (*Oslo/Paris convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic*)^[37] e no procedimento empírico EPA (*Environmental Protection Agency*) 3050B^[38].

2.3.1.1 Digestão de sedimentos pelo procedimento OSPAR

Este procedimento consiste numa digestão vigorosa dos sedimentos, ou seja, os sedimentos foram sujeitos a um ataque ácido forte onde se pretende determinar o teor total de metais na matriz. Foram pesados ($0,500 \pm 0,050$) g de sedimento para um vaso de teflon, onde foram adicionados 6 mL de água régia (1 HNO₃ 65 % (V/V):3 HCl 30 % (V/V)), preparada imediatamente anterior à sua utilização e 2 mL de HF 40 % (V/V). Os vasos foram colocados no micro-ondas segundo um programa com condições de digestão especificadas na **Figura 2.4**.

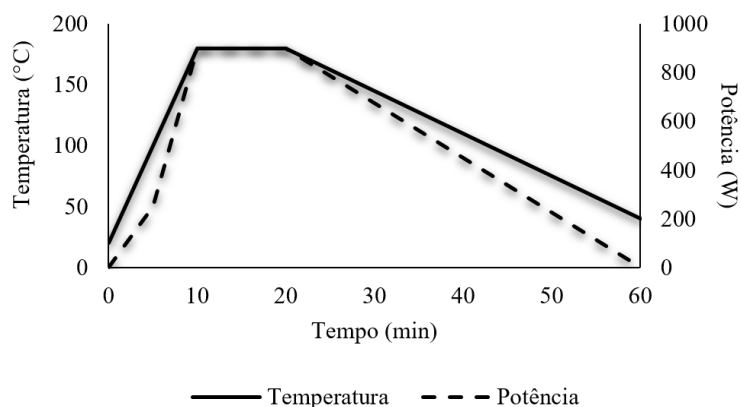


Figura 2.4 – Representação gráfica da digestão de sedimentos com aquecimento por micro-ondas (— Temperatura; - - - Potência).

Após esta etapa, foi adicionado a cada vaso ($0,500 \pm 0,020$) g de H_3BO_3 sob agitação. Todo o conteúdo foi transferido para balões volumétricos de polipropileno de 50 mL aferidos com água ultrapura.

2.3.1.2 Digestão de sedimentos pelo procedimento EPA 3050B

Este procedimento consistiu numa extração superficial dos metais dos sedimentos para a fase aquosa, através de um ataque ácido fraco. Foram pesados ($0,500 \pm 0,050$) g de sedimento para um vaso de teflon, onde foram adicionados 10 mL de HNO_3 65 % (V/V). De igual modo, o vaso foi colocado no micro-ondas cujo aquecimento seguiu as condições apresentadas na **Figura 2.4**. Seguidamente, todo o conteúdo digerido foi transferido para balões volumétricos de polipropileno de 50 mL aferidos com água ultrapura.

Ambos os procedimentos de digestão foram realizados no mesmo dia, para o mesmo conjunto de amostras, em dez dias diferentes.

Algumas amostras foram diluídas antes da leitura por EAA. Na quantificação de As, as amostras sofreram uma diluição de 1:50, às quais foram adicionados 2 mL de solução redutora, no dia anterior à quantificação por EAA. As amostras A_F e C_F , foram diluídas de 1:4, para a quantificação de Cd.

2.3.2 Preparação das soluções padrão de calibração

A gama de calibração definida para a determinação de cada metal é dada pelas concentrações das soluções padrão de calibração apresentadas na **Tabela 2.3**.

Tabela 2.3 – Concentração das soluções padrão utilizadas para traçar a curva de calibração respectiva para a determinação de As, Cd, Ni e Pb.

Metal	Soluções padrão de calibração (mg L ⁻¹) ou (µg L ⁻¹) [§]							
	Branco	1	2	3	4	5	6	7
As	0,000 [§]	0,050 [§]	1,000 [§]	2,000 [§]	3,000 [§]	4,000 [§]	5,000 [§]	-
Cd	0,000	0,005	0,010	0,020	0,030	0,040	0,050	-
Ni	0,000	0,075	0,200	0,300	0,400	0,500	0,600	0,750
Pb	0,000	0,100	0,200	0,300	0,500	0,700	0,800	1,000

A preparação das soluções padrão de calibração de Ni e Pb consistiu na adição de um determinado volume da respectiva solução padrão *Panreac* ($\approx 1000 \text{ mg L}^{-1}$) para balões de 100 mL, com exceção de um padrão de Ni. A solução padrão de $0,075 \text{ mg L}^{-1}$ de Ni foi preparada pipetando 5 mL da solução padrão de $0,75 \text{ mg L}^{-1}$, com uma pipeta volumétrica de 5 mL, para um balão de 50 mL. Os balões foram aferidos com água acidificada a 0,5 % (V/V) de HNO_3 . O procedimento foi idêntico para as soluções padrão de calibração de Cd, contudo, estas foram preparadas a partir de uma solução padrão intermediária de 10 mg L^{-1} . Esta solução foi obtida por uma diluição de 1:10 da solução padrão *Panreac* ($\approx 1000 \text{ mg L}^{-1}$) de Cd em HNO_3 0,5 % (V/V). Os Brancos de calibração são a água acidificada usada na preparação das soluções padrão. Todas as soluções foram preparadas no próprio dia da análise.

Na preparação das soluções padrão de calibração de As, foram realizadas duas diluições prévias da solução padrão *Panreac* ($\approx 1000 \text{ mg L}^{-1}$), em HCl 10 % (V/V). A primeira solução padrão intermediária de 10 mg L^{-1} foi preparada por diluição de 1:10, a qual apresentava um tempo de conservação de cerca de um mês quando refrigerada. A segunda solução padrão intermediária de 1 mg L^{-1} foi obtida por uma diluição de 1:10 a partir da primeira solução padrão intermediária. As soluções padrão de calibração foram preparadas a partir da solução padrão 1 mg L^{-1} , em balões de 100 mL, sendo-lhes adicionados 4 mL de solução redutora. Os balões foram aferidos com HCl 10 % (V/V). O Branco de calibração foi constituído apenas por água acidificada de HCl 10 % (V/V) e pela solução redutora na preparação das soluções padrão. A solução redutora, a solução padrão intermediária de 1 mg L^{-1} e as soluções padrão de calibração foram preparados no dia anterior à análise.

A **Tabela 2.4** apresenta os valores dos volumes pipetados na preparação de cada solução padrão de calibração, de acordo com o procedimento descrito.

Tabela 2.4 – Volume pipetado da solução de calibração concentrada ($\approx 1000 \text{ mg L}^{-1}$) ou diluída (intermediária de 1 mg L^{-1} ou 10 mg L^{-1}) de analito para 100 mL na preparação de cada solução padrão de calibração.

Metal	Volume (µL)							
	Branco	1	2	3	4	5	6	7
As	0	50	100	200	300	400	500	-
Cd	0	50	100	200	300	400	500	-
Ni	0	-	20	30	40	50	60	75
Pb	0	10	20	30	50	70	80	100

2.3.3 Preparação das soluções padrão de controlo

As soluções padrão de controlo (PC's) foram preparadas a partir das soluções padrão *Merck* ($\approx 1000 \text{ mg L}^{-1}$), independentes da solução de calibração, seguindo exatamente o mesmo procedimento das soluções padrão de calibração correspondentes. Foram preparadas duas soluções padrão de controlo para cada metal, PC₁ e PC₂. A concentração da solução PC₁ é equivalente à concentração da primeira solução padrão quantitativa de calibração da gama de trabalho e a concentração da solução PC₂ está posicionada a meio da curva de calibração. Na **Tabela 2.5** estão indicados os valores de concentração das soluções PC₁ e PC₂ sendo reportada respetiva incerteza padrão.

Tabela 2.5 – Teores das soluções padrão de controlo usados no controlo de qualidade das calibrações.

Metal	Soluções padrão de controlo					
	PC ₁			PC ₂		
	Concentração (mg L ⁻¹) ou (µg L ⁻¹) [§]	Volume (µL)	<i>u</i> (mg L ⁻¹) ou (µg L ⁻¹) [§]	Concentração (mg L ⁻¹) ou (µg L ⁻¹) [§]	Volume (µL)	<i>u</i> (mg L ⁻¹) ou (µg L ⁻¹) [§]
As	0,050 [§]	50	0,0038 [§]	3,000 [§]	300	0,0349 [§]
Cd	0,005	50	0,0002	0,030	300	0,0010
Ni	0,075	-	0,0004	0,400	40	0,0033
Pb	0,100	10	0,0029	0,500	50	0,0035

2.3.4 Leitura no espectrómetro

Antes de iniciar a quantificação por EAA, foram otimizadas as condições operatórias. No *software* foi selecionado o metal que se pretendia analisar, no qual estava automaticamente programado o comprimento de onda de análise e a correção de fundo adequada. Mediante a leitura de uma solução padrão de otimização do analito, foram realizados ajustes ao nível do caudal de aspiração de solução, fluxo de gases, posicionamento do queimador e, aquando da sua utilização, o posicionamento dos tubos T e de STAT com vista a aumentar o sinal do analito.

Para todos os metais a sequência de análise definida foi a seguinte: duas leituras consecutivas das soluções padrão de calibração, soluções padrão de controlo 1 e 2, conjunto de amostras obtidos pelo procedimento de digestão OSPAR e o conjunto de amostras obtidos pelo procedimento de digestão EPA 3050B.

No total foram realizadas dez sequências destas análises em dias diferentes, em que a preparação das amostras e soluções padrão de calibração e de controlo também foram realizadas em dias distintos.

2.4 Tratamento de dados

O tratamento dos dados analíticos foi realizado através da utilização de folhas de cálculo desenvolvidas no *software Microsoft Excel 2016*. Este trabalho envolveu a construção de uma folha de cálculo para a avaliação da incerteza de medição de metais em sedimentos em que as componentes da incerteza foram combinadas usando o método das SMC.

2.4.1 Elaboração de uma folha de cálculo

A folha de cálculo desenvolvida teve com objetivo aplicar o método das SMC no cálculo de incertezas de medição. Paralelamente, as incertezas foram também estimadas pela LPI. Esta folha foi dividida em várias secções e pode ser aplicada, inclusive, no controlo de qualidade dos ensaios. Em seguida serão abordadas as várias secções, ilustrando-as com a utilização de dados reais da determinação de As.

2.4.1.1 Preparação das soluções padrão de calibração

Esta secção identificada na folha como “*Calibration preparation*”, ilustrada na **Figura 2.5**, refere-se à preparação das soluções padrão de calibração. Nesta parte da folha de cálculo são inseridos os valores de concentração da solução padrão concentrada, os volumes envolvidos na preparação das soluções padrão de calibração e todos os dados relevantes para contabilizar a incerteza associada a certas operações como a incerteza, erros máximos admissíveis e repetibilidade das operações. Com base nestes dados, foi calculado o valor da concentração associada a cada solução padrão de calibração, incluindo a respetiva incerteza.

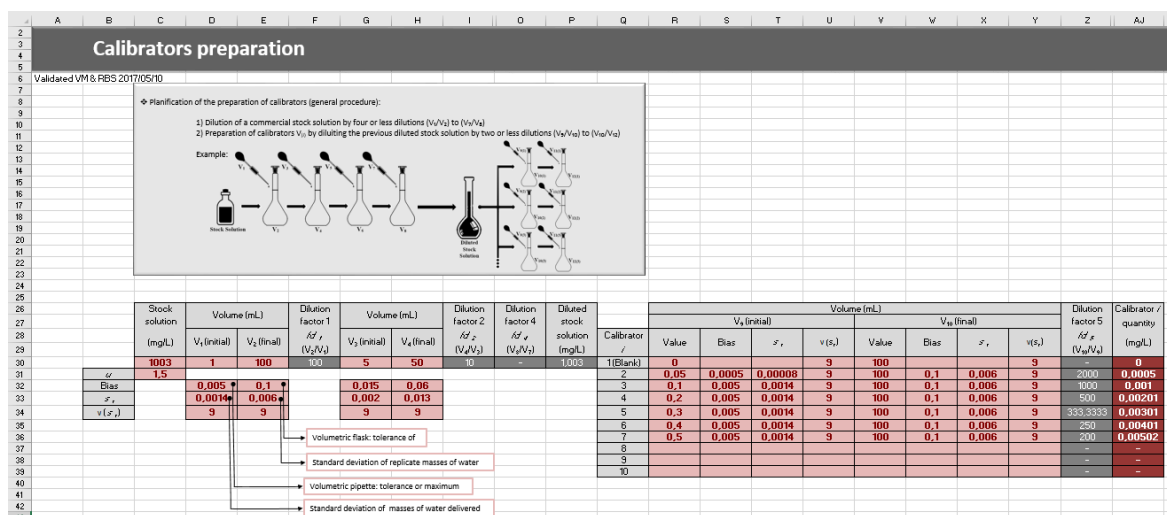


Figura 2.5 – Secção relativa à preparação das soluções padrão de calibração.

2.4.1.2 Regressão diária pelo MMQ

Nesta secção, intitulada por “*Daily least squares regression*”, os valores dos sinais instrumentais das soluções padrão de calibração, previamente preparados, até um máximo de dez replicados, são inseridos em células apropriadas, como mostra a **Figura 2.6**. A curva de calibração é obtida com base nos *n* sinais instrumentais das soluções padrão de calibração e nos respetivos valores de concentrações calculados anteriormente.

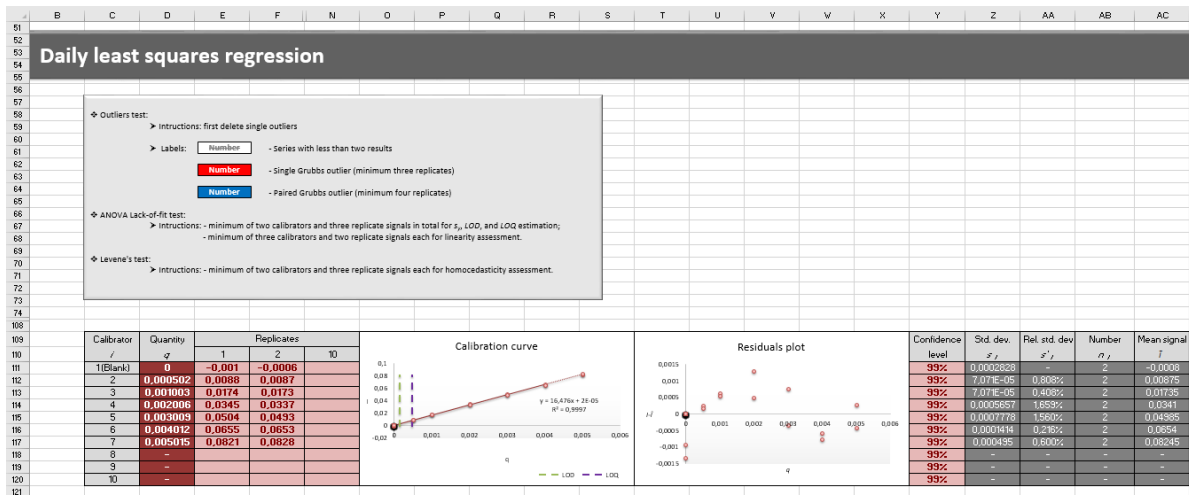


Figura 2.6 – Seção relativa à curva de calibração diária pelo MMQ.

A curva de calibração foi obtida pelo MMQ e, portanto, foram seguidamente avaliados os seus pressupostos de linearidade e homogeneidade de variâncias da resposta instrumental. A avaliação foi realizada através da observação de um gráfico de residuais e execução do teste de Fisher, pela Equação 1.4, e do teste ANOVA-LOF, pela Equação 1.5. A Figura 2.7 mostra o resultado da execução destes testes, bem como providencia os valores dos parâmetros de regressão linear.

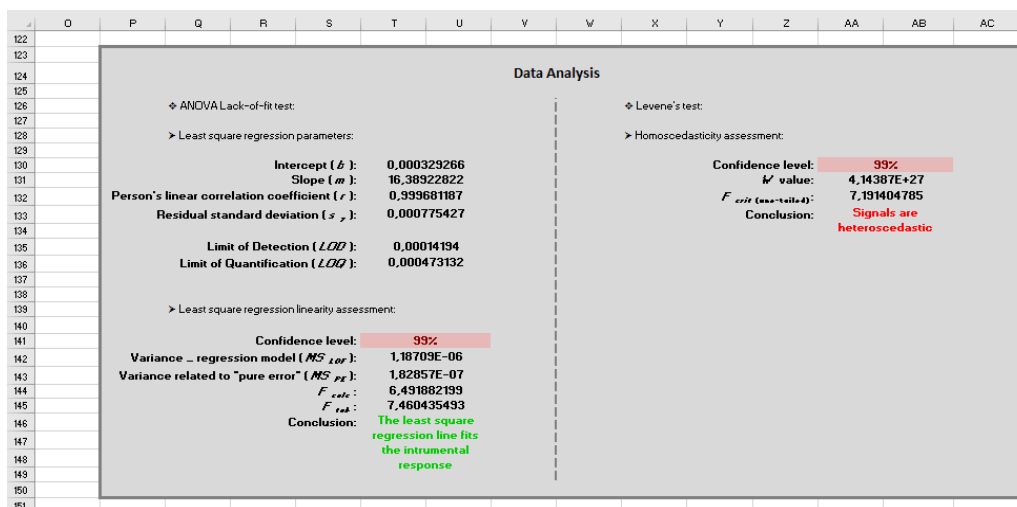


Figura 2.7 – Seção da folha de cálculo que apresenta os parâmetros de regressão do MMQ e avalia alguns pressupostos do modelo.

2.4.1.3 Curva de calibração usada para definir modelos de variância do sinal

A construção desta seção, identificada como “*Calibration (previous or actual calibration) used to define variance models*”, visou a disponibilização de um conjunto alternativo de dados para estabelecer modelos da variância do sinal instrumental. A construção da curva de calibração alternativa, apresentada na Figura 2.8, é equivalente à curva de calibração da Seção 2.4.1.2, permitindo inserir, neste caso até um máximo de vinte sinais replicados, associados às mesmas

soluções padrão de calibração. Para estas calibrações são apresentados os parâmetros de regressão linear e a avaliação da linearidade e da homogeneidade de variâncias da resposta instrumental é realizada, de forma simplificada, por um gráfico de residuais.

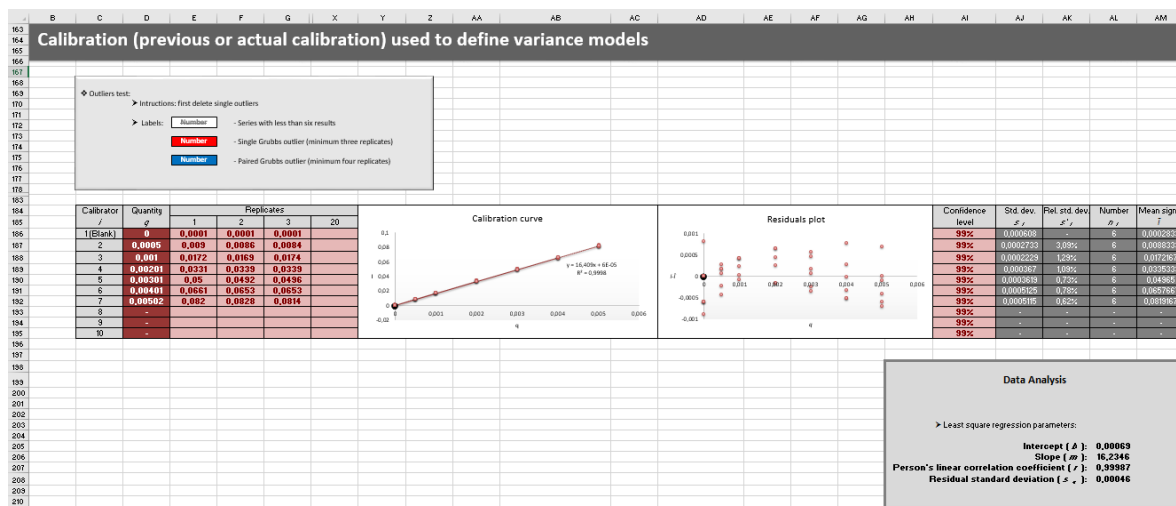


Figura 2.8 – Secção relativa a uma curva de calibração alternativa para a definição de modelos da variância do sinal.

2.4.1.4 Modelos da variação do desvio padrão do sinal com o sinal

Uma vez que a finalidade da criação desta folha de cálculo foi possibilitar a estimativa da incerteza das medições utilizando o método das SMC, todas as componentes de incertezas foram contabilizadas, incluindo a precisão do sinal instrumental que varia ao longo da gama de calibração. Deste modo, na secção designada por “*Models of the variation of signal's standard deviation (s_I) with the signal (I)*”, houve a necessidade de criar modelos de variação do desvio padrão do sinal ao longo da gama de calibração. O estudo foi realizado através de representações da dispersão dos sinais instrumentais associados às soluções padrão de calibração em função do valor médio dos próprios sinais, para as duas curvas de calibração (diária e alternativa). A Figura 2.9 ilustra as representações gráficas da variação do desvio padrão, em termos absoluto (gráficos do lado esquerdo) e em termos relativos (gráficos do lado direito) do sinal instrumental em função do valor médio do sinal para as curvas de calibração diária (*Daily calibration*) e alternativa (*Previous calibration*).

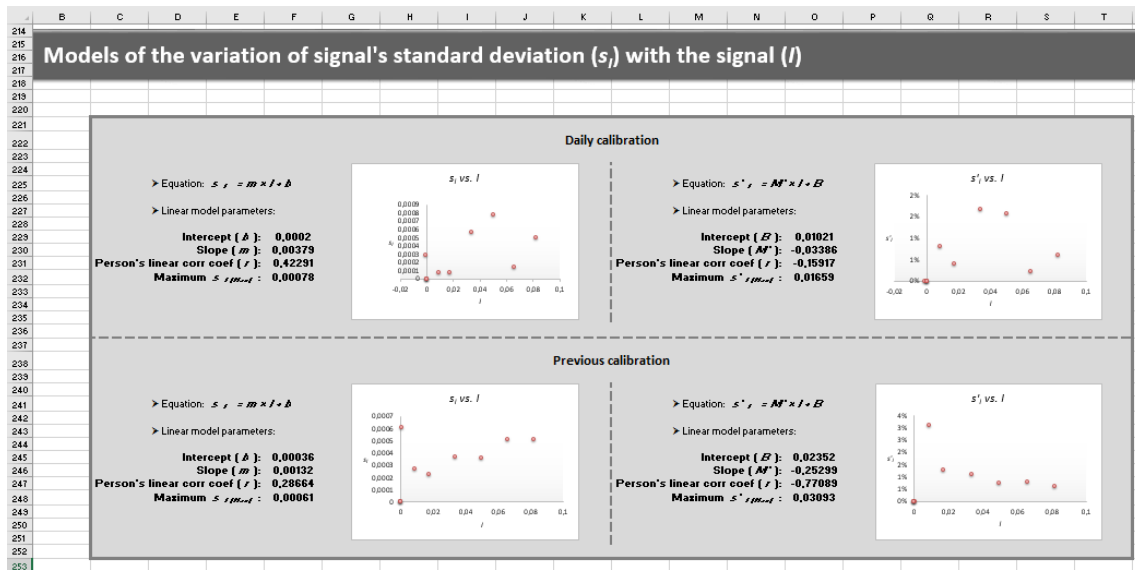


Figura 2.9 – Secção da folha de cálculo que apresenta as representações gráficas da variação do desvio padrão (gráficos do lado esquerdo) ou desvio padrão relativo (gráficos do lado direito) do sinal em função do sinal médio para as curvas de calibração diária (gráficos superiores) e alternativa (gráficos inferiores).

Para cada representação foi disponibilizada informação sobre os parâmetros de uma regressão linear e o valor correspondente ao máximo do desvio padrão do sinal.

2.4.1.5 Estratégias para definir o modelo de variação do sinal

A fim de escolher o modelo de variação da precisão do sinal que melhor se adequa a cada caso em estudo, foi construída esta secção da folha de cálculo, designada por “Strategies to define the variance model of signal”, que envolve a seleção de opções relativas a duas características do modelo.

A primeira característica do modelo refere-se aos dados experimentais usados para a construção do modelo para a qual existem três opções: **1^a-i)** desvio padrão dos n sinais replicados da curva diária, **1^a-ii)** desvio padrão dos n sinais replicados da curva alternativa e **1^a-iii)** desvio padrão estimado por uma conversão entre dados de ambas as curvas, mediante os seus desvios padrões residuais.

Após a avaliação das representações gráficas sobre a variação do desvio padrão do sinal com o sinal médio, a segunda característica do modelo, é seleccionada sendo disponibilizada quatro hipóteses: **2^a-i)** o valor máximo do desvio padrão absoluto do sinal, **2^a-ii)** o valor máximo do desvio padrão relativo do sinal, **2^a-iii)** a regressão linear do desvio padrão absoluto em função do sinal médio e **2^a-iv)** a regressão linear do desvio padrão relativo em função do sinal médio. A **Figura 2.10** mostra a secção da folha de cálculo onde são registadas estas opções, sendo apresentado um quadro que resume toda a informação sobre as seleções efetuadas.

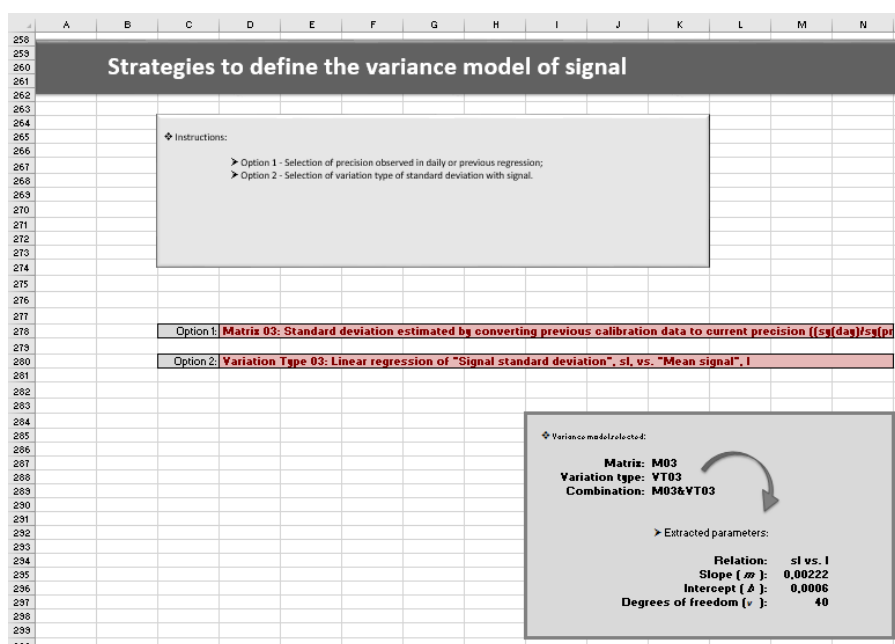


Figura 2.10 – Secção da folha de cálculo onde se procede à seleção do modelo de variação da precisão do sinal na gama de calibração.

2.4.1.6 Preparação de amostras

Na secção da preparação das amostras denominada por “*Sample preparation*”, como ilustra a Figura 2.11, são inseridos os valores de massa e volumes medidos e respetivos erros máximos admissíveis e repetibilidade das operações na preparação de cada amostra, permitindo inserir os valores referentes até um máximo de trinta amostras.

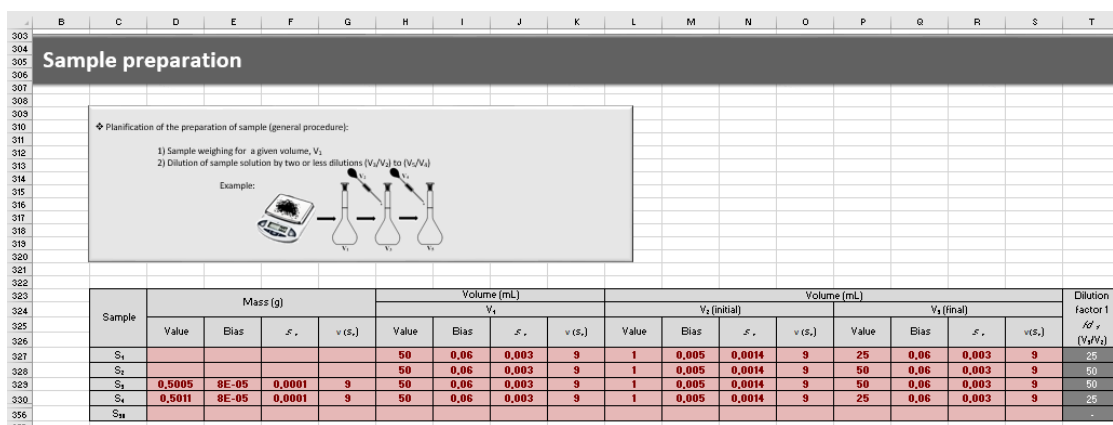


Figura 2.11 – Secção relativa à preparação de amostras.

2.4.1.7 Análise de amostras

Nesta secção, identificada como “*Sample analysis*”, como ilustra a **Figura 2.12**, são inseridos os valores das n leituras replicadas das amostras, permitindo inserir um máximo de vinte sinais para um máximo de trinta amostras. Após os cálculos da determinação da incerteza utilizando a LPI e o método das SMC, os resultados obtidos pelas duas metodologias de combinação de incerteza são apresentados para um nível de confiança de 95 % ou 99 %.

Sample	Replicates				Confidence level	Number	Mean signal	Not simulated		Simulated		Confidence level
	1	2	3	20				(Result ± Uncertainty) (units)	Relative und	(Result ± Uncertainty) (units)	Relative und	
S ₁	0.0023			20	99%	1	0.0023	(0.15 ± 0.2) ERROR	130%	(0.22 ± 0.55) ERROR	248%	99%
S ₂	0.0254			20	99%	1	0.0254	(3.82 ± 0.38) ERROR	10%	(3.79 ± 0.34) ERROR	25%	99%
S ₃	0.0723			20	99%	1	0.0723	(21.93 ± 0.83) (mg/kg)	4%	(21.8 ± 7) (mg/kg)	32%	99%
S ₄	0.0232			20	99%	1	0.0232	(3.48 ± 0.38) (mg/kg)	11%	(3.42 ± 0.76) (mg/kg)	22%	99%
S ₁₁				20	99%	-	-	-	-	-	-	99%

Figura 2.12 – Secção relativa à recolha de sinais das amostras e apresentação de resultados.

2.4.1.8 Simulações de Monte Carlo

Nesta secção da folha de cálculo, designada por “*Monte Carlo Simulations*”, com base nos dados inseridos na preparação das soluções padrão de calibração e das amostras, foram realizadas 16000 simulações de cada variável, ou seja, foram pseudo aleatoriamente gerados valores para as massas, volumes, sinais instrumentais, etc. Por forma a obter as melhores aproximações possíveis dos valores convencionados como verdadeiros, as simulações foram realizadas considerando a distribuição seleccionada para cada variável. As fórmulas *MS-Excel* usadas para simular os valores de cada variável (x), de acordo com a distribuição pretendida, são apresentadas na **Tabela 2.6**.

Tabela 2.6 – Fórmulas *MS-Excel* usadas para gerar dados com diferentes distribuições^[31]
(x é o valor da grandeza medida, u é a incerteza padrão e v é o número dos graus de liberdade envolvidos).

Distribuição	Fórmula
Normal	$\text{INV.NORMAL}(\text{ALEATÓRIO}();x;u)$
Retangular	$x + 2 \times u \times ((\text{ALEATÓRIO}()) - 0,5)$
Triangular	$x + u \times (\text{ALEATÓRIO}() - \text{ALEATÓRIO}())$
t-Student	$x + u \times \text{INV.T}(\text{ALEATÓRIO}();v)$

Os valores simulados de cada conjunto de variáveis foram combinados no resultado final para um número igual ao de conjuntos simulados (por exemplo, 16000). A partir deste conjunto de valores, foram extraídos os valores da melhor estimativa da mensuranda, a incerteza de medição e os intervalos de confiança, usando os correspondentes percentis. A **Figura 2.13** apresenta os dados extraídos para cada amostra.

	B	C	D	E	F	G	H	AH
418								
419	Monte Carlo Simulations							
420								
421								
422								
423								
424								
425								
426		Exported data						
427								
428								
429		Sample (units)	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	
430			ERROR	ERROR	(mg/kg)	(mg/kg)		-
431		0,5%	-2,5542831	3,0164035	20,7233972	3,2989864		-
432		2,5%	-2,2429101	3,0489739	20,764114	3,3103695		-
433		50%	0,1696017	3,7259488	21,668137	3,623141		-
434		97,5%	0,5981451	4,3639113	22,48321	4,1405132		-
435		99,5%	0,6455944	4,4432715	22,485893	4,2007655		-
436		95%	1,4205276	0,6574687	0,8595478	0,4150719		-
437		99%	1,5999388	0,713431	0,8809556	0,4506895		-
438		95%	838%	13%	4%	11%		-
439		99%	943%	19%	4%	12%		-
440		Simulations number	16000	16000	16000	16000		-
441								
442								
443								
444								
445								
446								
447								

Figura 2.13 – Seção da folha de cálculo onde são apresentados os resultados obtidos pelas SMC.

Apesar desta folha de cálculo ter sido desenvolvida para um procedimento experimental específico, reúne condições para a aplicação a outros procedimentos experimentais.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um dos objetivos deste trabalho passa pela validação da determinação de metais pesados (As, Cd, Ni e Pb) em sedimentos por EAA com chama, em que os sedimentos são digeridos para a determinação de metais totais ou extraíveis com um ataque ácido menos vigoroso. A digestão menos vigorosa determina a fração que vai ter maior impacto no ambiente.

O processo de validação envolve o estabelecimento de requisitos analíticos e uma avaliação metrológica da capacidade de as medições cumprirem esses requisitos, em particular, a capacidade de produzirem resultados com incerteza de medição suficientemente baixa, uma vez que esta oferece informação sobre a qualidade dos mesmos. Outro objetivo crucial deste trabalho é comparar as incertezas de medição estimadas por diferentes abordagens.

3.1 Avaliação da linearidade e da homogeneidade de variâncias da resposta instrumental

O comportamento do espectrómetro na gama de calibração considerada para as determinações de As, Cd, Ni e Pb foi estudado no que respeita à linearidade e homogeneidade de variâncias da resposta instrumental. Foi avaliado o desempenho instrumental considerando sinais recolhidos em condição de repetibilidade e precisão intermédia. Da **Tabela 3.1** à **Tabela 3.4** são apresentadas as representações gráficas das curvas de calibração e gráficos de residuais para os metais em estudo, nas duas condições de precisão. Em todos os casos, foi despistada a presença de valores aberrantes únicos e emparelhados usando o teste de Grubbs.

Tabela 3.1 – Curvas de calibração e gráficos de residuais de As (..... LD; - - LQ).

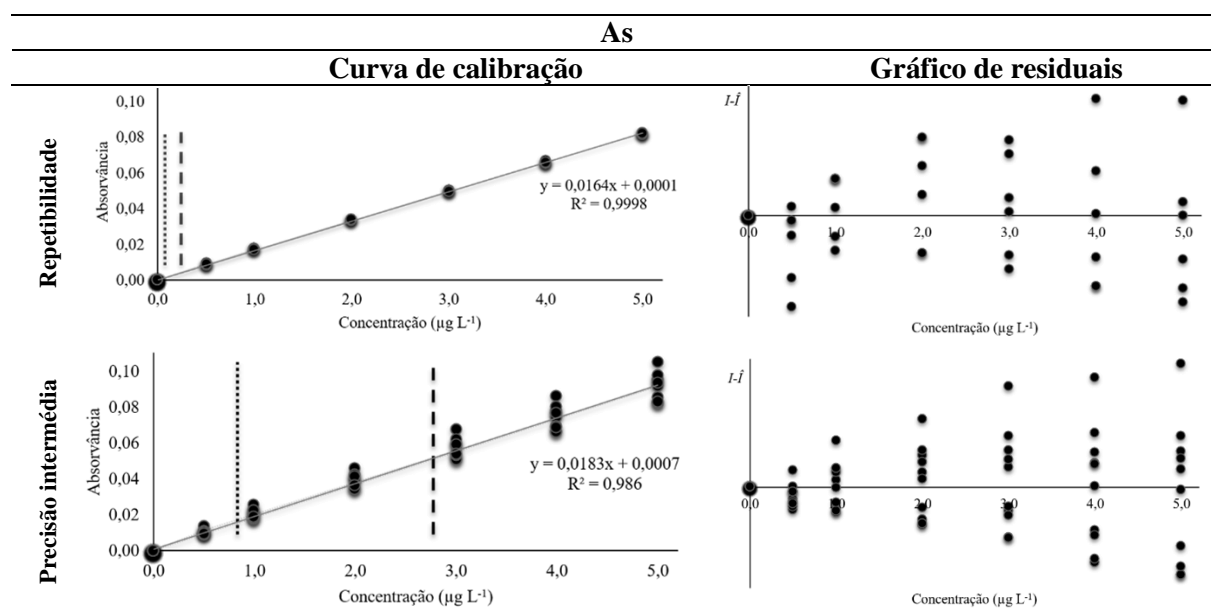


Tabela 3.2 – Curvas de calibração e gráficos de residuais de Cd (..... LD; - - LQ).

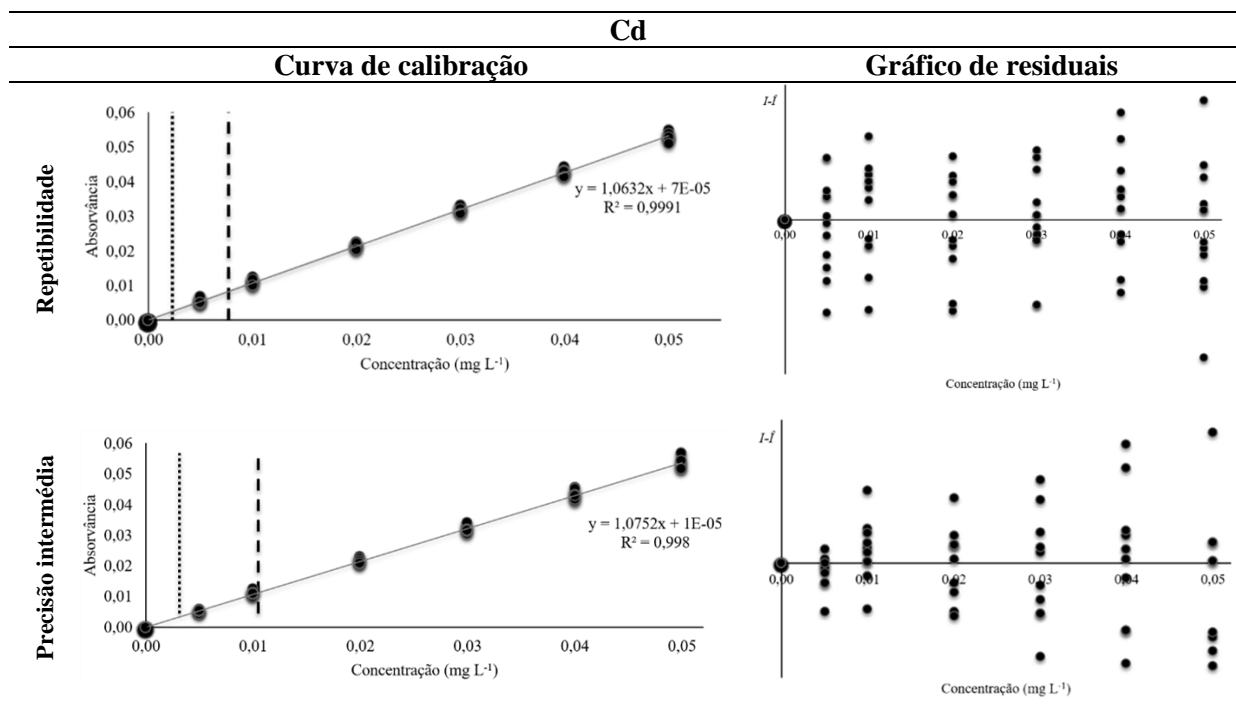


Tabela 3.3 – Curvas de calibração e gráficos de residuais de Ni (..... LD; - - LQ).

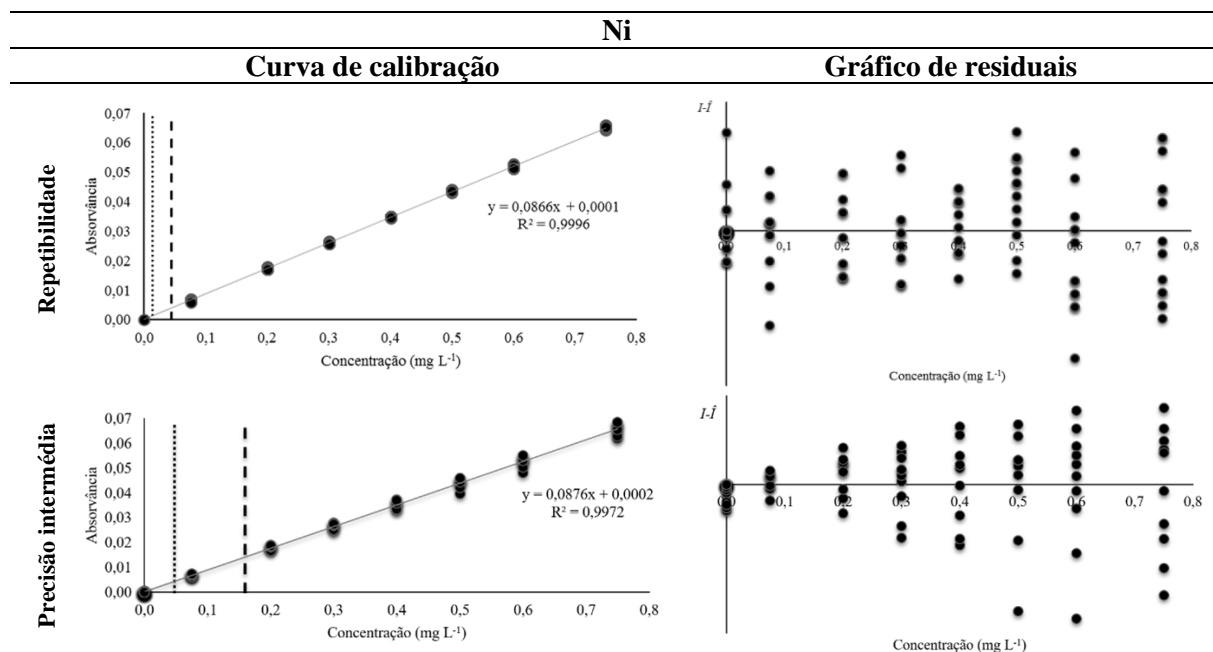
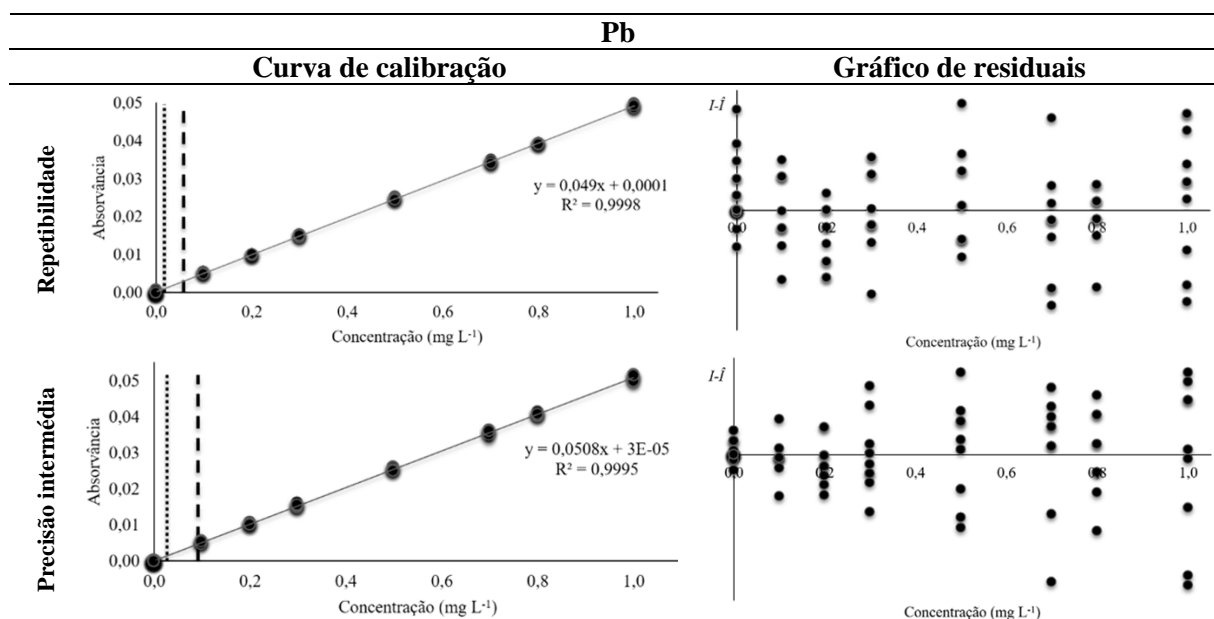


Tabela 3.4 – Curvas de calibração e gráficos de residuais de Pb (..... LD; - - LQ).



Os dados recolhidos em condição de precisão intermédia tiveram como objetivo determinar os limiares analíticos nestas condições de precisão e avaliar a estabilidade, entre dias, dos sinais instrumentais

Pode ser retirada muita informação destas representações gráficas, em particular, sobre a validade de dois dos pressupostos do modelo de regressão MMQ. Uma das formas pragmáticas de avaliar a linearidade é através do coeficiente de correlação de Pearson (r), representado pelo coeficiente de determinação (R^2) nas curvas de calibração. Observa-se que, em todos os casos, o valor deste coeficiente é menor na condição de precisão intermédia comparativamente à condição de repetibilidade. Esta diferença é observada porque o R^2 aumenta com a dispersão das réplicas mesmo quando a tendência linear da resposta é perfeita. Analisando os gráficos de residuais, para os quatro metais e nas duas condições de precisão, observa-se que os seus residuais ($I - \hat{I}$) estão distribuídos equivalentemente acima e abaixo do eixo residual zero, confirmando-se a relação linear entre a absorvância e a concentração. Por outro lado, pode observar-se que, em condição de precisão intermédia, a dispersão dos residuais aumenta com a concentração, e em condição de repetibilidade esta dispersão mantém-se constante, indicando que a variância da resposta instrumental das gamas de calibração é heteroscedástica e homoscedástica, respetivamente. Estes resultados foram corroborados com os testes estatísticos Fisher e ANOVA-LOF, dados pelas **Equações 1.4** e **1.5**, respetivamente. Tendo em conta que a calibração do espectrómetro é realizada em condições de repetibilidade, é o desempenho nestas condições de precisão que importa destacar.

3.2 Estudo dos limiares analíticos

Os limiares analíticos foram estudados em condições de repetibilidade e precisão intermédia, a partir de leituras replicadas das soluções padrão de calibração da respetiva gama de calibração. Diferentes metodologias podem ser seguidas para a quantificação do LD e do LQ. A **Tabela 3.5** reporta os valores destes limites, estimados com base no desvio padrão residual, de acordo com as **Equações 1.7** e **1.8**, os quais podem ser também observados na **Tabela 3.1** à **Tabela 3.4** (a tracejado).

Tabela 3.5 – Limiares analíticos estimados nas diferentes condições de precisão com base no desvio padrão residual.

Metal	<i>LD</i>		<i>LQ</i>	
	(mg L ⁻¹) ou (µg L ⁻¹) [§]		(mg L ⁻¹) ou (µg L ⁻¹) [§]	
	Repetibilidade	Precisão intermédia	Repetibilidade	Precisão intermédia
As	0,0718 [§]	0,8317 [§]	0,2392 [§]	2,7722 [§]
Cd	0,0023	0,0031	0,0077	0,0105
Ni	0,0130	0,0509	0,0435	0,1696
Pb	0,0168	0,0273	0,0560	0,0909

Analisado os valores apresentados, constata-se que, como esperado, o *LD* e o *LQ* são inferiores quando estimados em condições de repetibilidade. Em condição de precisão intermédia, o aumento da dispersão dos sinais resulta no aumento do desvio padrão residual e, conseqüentemente, no aumento dos valores dos limiares analíticos, que ficam sobrestimados. Uma vez que, em condição de precisão intermédia, o pressuposto da homogeneidade de variâncias da resposta instrumental não foi cumprido, o s_y não é uma boa aproximação da dispersão dos sinais, estes limites devem ser estimados em condições de repetibilidade.

A **Tabela 3.6** reporta os valores dos limiares analíticos estimados, em condição de precisão intermédia, com base na dispersão dos resultados da análise da solução padrão de calibração de menor concentração de cada metal, através das **Equações 1.9** e **1.10**. Os dados utilizados para este cálculo encontram-se na **Tabela A.1** à **Tabela A.4**. Os sinais das soluções padrão de calibração foram convertidos em unidades de concentração através dos parâmetros de regressão linear da calibração diária.

Tabela 3.6 – Limiares analíticos estimados, em condição de precisão intermédia, com base na precisão da concentração estimada da solução padrão de calibração de menor concentração da gama de calibração.

Metal	<i>LD</i>	<i>LQ</i>
	(mg L ⁻¹) ou (µg L ⁻¹) [§]	
As	0,0833 [§]	0,2776 [§]
Cd	0,0026	0,0086
Ni	0,0339	0,1130
Pb	0,0208	0,0692

Como se pode observar, os valores do *LD* e do *LQ* estimados por esta metodologia aproximam-se dos valores estimados em condição de repetibilidade. Os limiares analíticos apresentados na **Tabela 3.6** são menores que os valores obtidos em condição de precisão intermédia da **Tabela 3.5** porque a utilização da calibração diária mitiga as variações entre dias da sensibilidade que afeta os limiares quando estimados com base no desvio padrão residual.

As gamas de calibração apresentadas na **Tabela 2.3**, para os metais em estudo, já se encontravam pré-definidas pelo laboratório, de acordo com estudos de validação efetuados. Para as curvas de calibração de As, o *LD* e o *LQ* estimados nas duas condições de precisão apresentam valores de concentração superiores à concentração da primeira solução padrão de calibração quantitativa. No caso do Cd, em ambas as condições, o valor do *LQ* fica ligeiramente acima do valor de concentração da primeira solução padrão de calibração quantitativa. Relativamente ao Ni, apenas em condição de precisão intermédia, o valor do *LQ* é superior ao valor de concentração da primeira

solução padrão de calibração quantitativa, sendo que a diferença entre eles não é muito significativa. Em ambas as condições de precisão, para as curvas de calibração de Pb, os valores dos limiares analíticos encontram-se abaixo do valor de concentração da primeira solução padrão de calibração quantitativa. Na prática, quando os resultados são apresentados com incerteza, os conceitos de *LD* e *LQ* não são particularmente necessários.

No processo de validação de um procedimento analítico, o estudo dos limiares analíticos é importante para estabelecer um critério de aceitação para as amostras consideradas para o cálculo da incerteza de medição. Neste trabalho foi considerado o intervalo de concentrações, reportado na **Tabela 3.7**, com base no *LQ* estimado nas diversas condições de precisão. Os valores de concentrações abaixo de *LQ* têm incertezas relativas muito altas, que se indevidamente transferidas para outras gamas de concentração sugerem que as medições não são adequadas ao objetivo.

Tabela 3.7 – Intervalo de concentrações do *LQ*.

Metal	<i>LQ</i> (mg kg⁻¹)
As	2,39 - 2,78
Cd	0,77 - 0,86
Ni	4,35 - 11,30
Pb	5,60 - 6,92

3.3 Avaliação da incerteza de medição

O objetivo principal deste trabalho foi estimar a incerteza da medição de As, Cd, Ni e Pb em sedimentos, usando digestões com diversos vigos recorrendo a diferentes abordagens, a fim de se estabelecer uma relação entre elas. Sucintamente, neste estudo, foram analisadas diversas amostras com analito nativo, sendo duas delas fortemente fortificadas. Estas amostras foram preparadas e quantificadas em dias diferentes. As amostras selecionadas para o cálculo da incerteza de medição, foram sujeitas a aceitação em função do intervalo de concentrações apresentadas na **Tabela 3.7**. A qualidade do resultado de medição estimado pelas diferentes abordagens, foi avaliada através da análise de um MRC e avaliação da compatibilidade metrológica entre o valor estimado e de referência.

3.3.1 Abordagem subanalítica

A determinação de metais pesados em sedimentos por EAA, envolve uma etapa de digestão tornando difícil a aplicação direta da abordagem subanalítica, visto que não estão disponíveis resultados do desempenho das digestões realizadas.

3.3.2. Abordagens supra-analíticas

Os guias Eurachem e Nordtest propõem abordagens simplistas sobre a quantificação da incerteza de medição de métodos analíticos mesmo quando estes são complexos, como é o caso da determinação de metais pesados em sedimentos. Estas abordagens foram usadas para estimar a incerteza das medições estudadas.

3.3.2.1 Identificação das fontes de incerteza

Estas abordagens baseiam-se na divisão das componentes de incerteza naquelas que podem ser isoladas em dois parâmetros do desempenho global de medição. As componentes de incerteza, ilustradas na **Figura 3.1**, foram divididas em incertezas associadas à precisão e à veracidade de medição, as quais quantificam os efeitos aleatórios e sistemáticos, respetivamente.

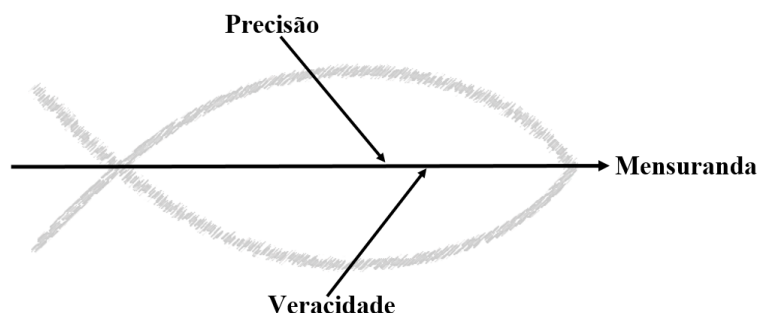


Figura 3.1 – Identificação das fontes de incerteza consideradas na aplicação das abordagens supra-analíticas, usando um diagrama *Ishikawa*.

Não foram identificadas outras componentes de incerteza supra-analíticas relevantes para a determinação de metais em tomas de sedimentos.

3.3.2.2 Quantificação da incerteza de medição

O conjunto de dados utilizados para quantificar e combinar as componentes de incerteza identificadas encontram-se apresentados na **Tabela A.5** à **Tabela A.8** para o As, Cd, Ni e Pb, respetivamente.

A incerteza padrão relativa associada à precisão (u'_{pf}) foi estimada, em condição de precisão intermédia, combinando os dados das diversas amostras analisadas usando a **Equação 1.24**. A estimativa desta incerteza é comum a ambas as abordagens supra-analíticas.

O que distingue estas abordagens é a forma como cada uma calcula a incerteza associada à veracidade e a avaliação ou não da relevância dos efeitos sistemáticos na determinação do resultado da mensuranda. A abordagem proposta no guia Eurachem estima a incerteza associada à veracidade (u'_{R_m}) de acordo com a **Equação 1.26**. Por seu lado, a abordagem proposta pelo guia Nordtest estima a incerteza associada à veracidade (u'_{bias}) através da **Equação 1.28**. A quantificação desta componente foi realizada mediante a utilização dos dados das duas amostras fortificadas (A_F e C_F), pelo que a \bar{R}_m calculada, através da **Equação 1.25**, foi estimada com base na média das recuperações médias de analito das amostras A_F e C_F , correspondente a cada metal e procedimento de digestão, à exceção do Cd e do procedimento de digestão EPA do As, em que foi utilizada apenas uma amostra fortificada.

A **Tabela 3.8** reúne os dados calculados das incertezas padrão relativas das componentes de incerteza identificadas, de acordo com as abordagens supra-analíticas, para os metais e procedimentos de digestão das amostras estudadas.

Tabela 3.8 – Incertezas padrão relativas das componentes de incerteza estimadas pelas abordagens supra-analíticas.

Metal	Procedimento de digestão	u'_{PI} (%)	Eurachem	Nordtest
			$u'_{\bar{R}_m}$ (%)	u'_{bias} (%)
As	OSPAR	4,04	2,47	5,36
	EPA	4,68	1,65	5,05
Cd	OSPAR	9,05	3,31	6,62
	EPA	9,75	3,38	3,53
Ni	OSPAR	7,10	1,17	8,53
	EPA	6,87	1,28	5,74
Pb	OSPAR	5,54	1,57	5,31
	EPA	6,29	1,24	4,24

Como mencionado na **Secção 1.4.2.2**, somente a abordagem proposta pelo guia Eurachem tem a particularidade de avaliar a relevância dos efeitos sistemáticos através do teste t -Student, apresentado na **Equação 1.27**. A **Tabela 3.9** apresenta os valores de t obtidos para a avaliação da relevância dos desvios da \bar{R}_m em relação ao valor ideal de 100 %.

Tabela 3.9 – Valores de t tabelados (t_{tab}) e calculados (t_{cal}) para a avaliação da recuperação média estimada pelas abordagens supra-analíticas.

Metal	Procedimento de digestão	t_{tab}		t_{cal}	
		A _F	C _F	A _F	C _F
As	OSPAR	2,26	2,36	2,76	1,17
	EPA	2,26	-	3,19	-
Cd	OSPAR	-	2,36	-	1,95
	EPA	-	2,36	-	0,30
Ni	OSPAR	2,36	2,78	9,06	8,41
	EPA	2,57	2,57	5,55	4,00
Pb	OSPAR	2,26	2,31	1,21	5,17
	EPA	2,26	2,36	2,85	4,11

Aquando do tratamento dos resultados das duas amostras fortificadas, foi estabelecido um critério para decidir se os efeitos sistemáticos afetam significativamente ou não o resultado da mensuranda, uma vez que para cada amostras é estimado um par de valores de t . Considera-se que se em apenas uma amostra t_{cal} for superior ao valor de t_{tab} , os efeitos sistemáticos são considerados relevantes e procede-se à correção dos valores das mensurandas, multiplicando o seu valor original de fração de massa pelo inverso da \bar{R}_m . Segundo os dados apresentados, são indicadas correções para os resultados das determinações de As, Ni e Pb, uma vez que para pelo menos num dos pares de valores de t , o t_{cal} é superior ao respetivo t_{tab} . Para o Cd, os efeitos sistemáticos não foram considerados relevantes pelo que não se procedeu a nenhuma correção.

Para ambas as abordagens, as incertezas associadas à precisão e à veracidade foram combinadas através da LPI, de acordo com a **Equação 1.23**. O valor da incerteza de medição foi expresso para um nível de confiança de 95 % ($k = 2$). A **Tabela 3.10** apresenta os resultados expressos com incerteza expandida para este nível de confiança e a correspondente incerteza expandida relativa (U'), estimadas através das abordagens propostas nos guias Eurachem e Nordtest.

Tabela 3.10 – Resultado da análise do MRC^[36] expresso com incerteza para um nível de confiança de 95 % ($k = 2$), segundo as abordagens supra-analíticas estudadas (U' é a incerteza expandida relativa).

Metal	Procedimento de digestão	Eurachem		Nordtest	
		Resultado (mg kg ⁻¹)	U' (%)	Resultado (mg kg ⁻¹)	U' (%)
As	OSPAR	(23,9 ± 2,3)	9,5	(22,4 ± 3,0)	13,4
	EPA	(21,3 ± 2,1)	9,9	(19,3 ± 2,7)	13,8
Cd	OSPAR	(1,90 ± 0,37)	19,3	(1,90 ± 0,43)	22,4
	EPA	(1,98 ± 0,41)	20,6	(1,98 ± 0,41)	20,7
Ni	OSPAR	(53,2 ± 7,5)	14,4	(46 ± 10)	22,2
	EPA	(57,0 ± 8,0)	14,0	(52,4 ± 9,4)	17,9
Pb	OSPAR	(68,1 ± 7,8)	11,5	(64 ± 10)	15,3
	EPA	(74,5 ± 9,5)	12,8	(70 ± 11)	15,2

Os resultados apresentados mostram que, em todos os casos, os valores da incerteza de medição estimada pela abordagem proposta pelo guia Eurachem é inferior à incerteza estimada pela abordagem do guia Nordtest. Uma vez que a abordagem do guia Nordtest considera o erro médio relativo como uma componente de incerteza, a incerteza de medição é sobrestimada. É de realçar que os valores da melhor estimativa da mensuranda propostos, estimados pela abordagem do guia Eurachem, diferem dos resultados apresentados na **Tabela A.9**, exceto para o Cd, devido à correção efetuada sobre os mesmos.

3.3.2.3 Avaliação da compatibilidade metrológica dos resultados estimados e de referência

A fim de provar a qualidade metrológica dos resultados estimados, foi efetuado um teste de compatibilidade metrológica entre o resultado estimado por cada abordagem e o valor convencionalizado como verdadeiro apresentado na **Tabela 2.1**. A expressão usada para testar a compatibilidade dos resultados, para um nível de confiança de 95 %, é expressa na **Equação 3.1**.

$$|C_{estimada} - C_{certificada}| \leq 2 \times \sqrt{(u_{C_{estimada}})^2 + (u_{C_{certificada}})^2} \quad (3.1)$$

Se a condição anterior se verificar, ou seja, se o módulo da diferença dos valores de concentração ($|Dif|$) for inferior ou igual à incerteza expandida da sua diferença (U_{Dif}), para um nível de confiança de 95 %, o resultado estimado pela abordagem é metrologicamente compatível com o valor certificado do MRC. Na hipótese de o teste falhar para este nível de confiança, é testada a compatibilidade para um nível de confiança de 99 %, substituindo na equação o fator 2 por 3. A **Tabela 3.11** apresenta os valores obtidos para os dois termos da **Equação 3.1** para cada abordagem.

Tabela 3.11 – Parâmetros do teste de compatibilidade metrológica dos resultados da análise do MRC estimados pelas abordagens supra-analíticas para um nível de confiança de 95 % ou 99 %[§].

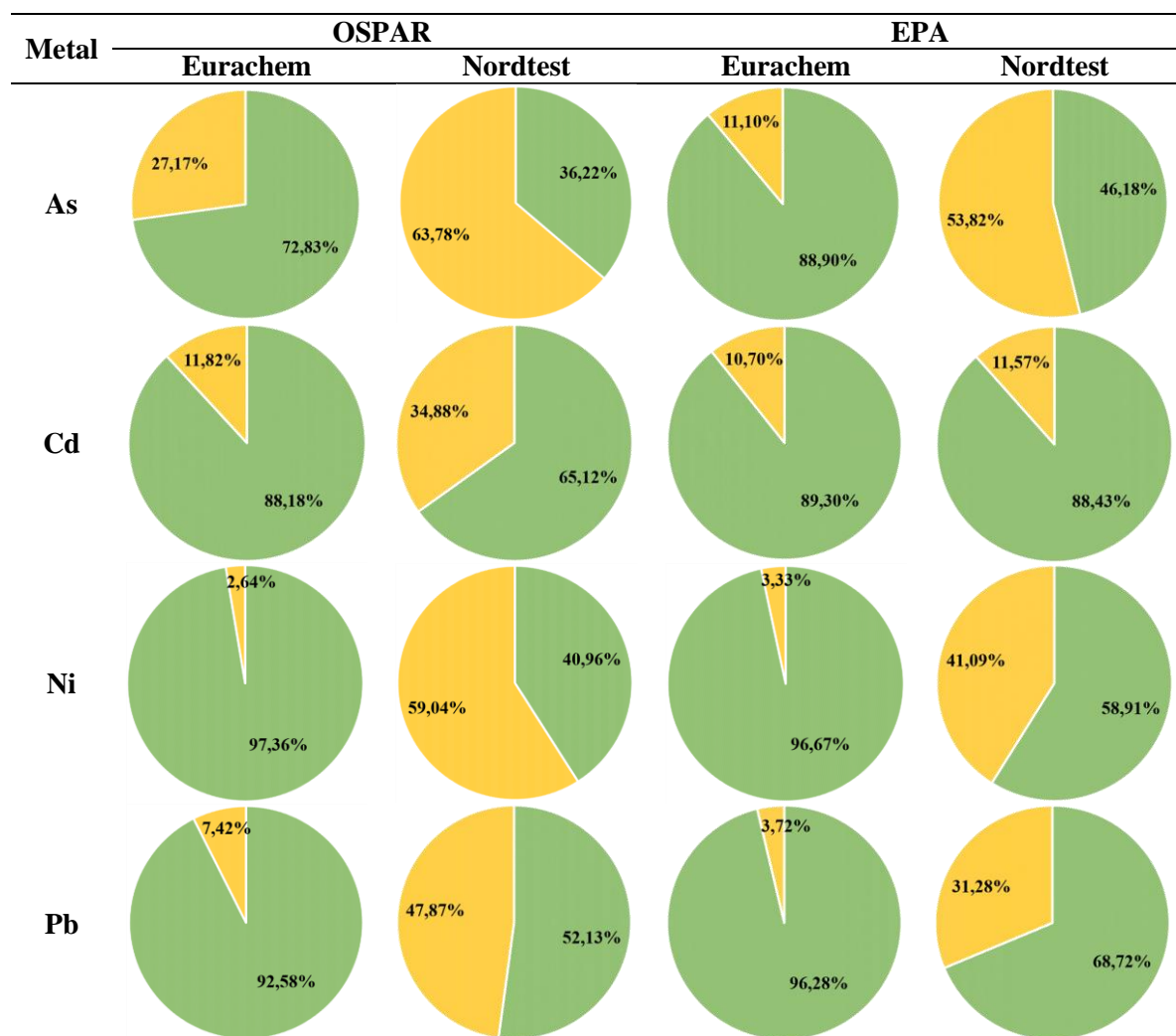
Metal	Procedimento de digestão	Eurachem		Nordtest	
		$ Dif $	U_{Dif}	$ Dif $	U_{Dif}
As	OSPAR	0,93	2,44	0,59	3,14
	EPA	1,76	3,46 [§]	3,80	4,22 [§]
Ni	OSPAR	9,25	19,14	15,68	20,33
	EPA	6,13	19,32	10,66	19,95
Pb	OSPAR	15,63	23,64	19,89	24,36
	EPA	10,53	24,26	14,76	24,71

Como se pode observar, a condição avaliada é satisfeita, pelo que os resultados são metrologicamente compatíveis. Contudo, é de salientar que, para o procedimento de digestão EPA, não existia um valor de incerteza certificado, pelo que foi assumido o mesmo valor de incerteza do procedimento de digestão OSPAR, permitindo produzir resultados meramente indicativos acerca do desempenho da medição. No que concerne aos resultados da determinação de Cd, a compatibilidade não foi testada porque não existiam valores de referência certificados da determinação deste metal no MRC.

A compatibilidade foi igualmente testada para as restantes nove leituras do MRC, para cada metal e procedimento de digestão. Na determinação de As pelo procedimento de digestão OSPAR, para ambas as abordagens, os resultados foram compatíveis para um nível de confiança de 95 %, à exceção de um valor compatível apenas para 99 %. No procedimento de digestão EPA, para o mesmo metal, 4 de 10 e 8 de 10 resultados estimados pelas abordagens Eurachem e Nordtest, respetivamente, mostraram-se não compatíveis, para um intervalo de confiança de 99 %. O sucedido pode ser explicado pela utilização de um valor de referência que não se encontra certificado para este tipo de digestão, bem como, pelo facto do procedimento de digestão descrito no certificado não ser exatamente igual ao procedimento de digestão utilizado neste trabalho. Na determinação de Ni e Pb, todos os resultados evidenciaram compatibilidade para 95 %, à exceção de um valor de Pb determinado pelo procedimento de digestão OSPAR que se mostrou compatível apenas para 99 %.

3.3.2.4 Interpretação dos resultados

Apesar das abordagens supra-analíticas não permitirem estimar a contribuição individual das etapas analíticas para a incerteza da medição, é possível estimar a contribuição das incertezas agrupadas em componentes de precisão e veracidade. A **Tabela 3.12** apresenta as contribuições percentuais da incerteza da precisão e veracidade, representadas sob a forma de diagramas circulares.

Tabela 3.12 – Contribuições percentuais das componentes de incerteza para a incerteza de medição global do procedimento contabilizadas pelas abordagens supra-analíticas estudadas ($u'_{\text{precisão}}$; $u'_{\text{veracidade}}$).

Observa-se que, para o Cd e Pb, considerando os dois procedimentos de digestão, a incerteza de medição estimada pelas abordagens supra-analíticas é produzida maioritariamente por efeitos aleatórios. O comportamento é idêntico para o Ni, com exceção do resultado da sua determinação com digestão pelo procedimento OSPAR estimado pela abordagem do guia Nordtest. Relativamente ao As, verifica-se que estes efeitos aleatórios são apenas predominantes na estimativa da incerteza de medição pela abordagem proposta pelo guia Eurachem. Comparando as abordagens, observam-se que as contribuições associadas aos efeitos sistemáticos são significativamente superiores quando estimadas pela abordagem do guia Nordtest, uma vez que a abordagem proposta pelo guia Eurachem minimiza a presença dos efeitos sistemáticos pela correção do resultado da mensuranda. No caso da determinação de Cd pelo procedimento de digestão EPA, a contribuição das componentes é semelhante, dado que não foram efetuadas correções ao nível da melhor estimativa da mensuranda. Porém, no procedimento de digestão OSPAR, apesar de, igualmente, não terem sido realizadas correções, a incerteza associada à veracidade é superior na abordagem do guia Nordtest.

3.3.3. Abordagem diferencial

A abordagem diferencial é uma abordagem pragmática que integra as vantagens das abordagens subanalítica e supra-analítica para estimar a incerteza de medição, permitindo obter informação sobre as contribuições percentuais de cada etapa analítica, incluindo as etapas complexas.

3.3.3.1 Identificação das fontes de incerteza

Esta abordagem baseia-se na divisão das componentes de incerteza em associadas a etapas analíticas simples e complexa, as quais afetam a precisão de medição, e na incerteza associada à veracidade de medição. Neste trabalho, as etapas analíticas simples englobaram pesagens, medições de volumes e a quantificação instrumental e a etapa complexa correspondeu à digestão da amostra. A incerteza associada à veracidade foi estimada pela incerteza da recuperação de analito. Para o procedimento de determinação de metais de sedimentos por EAA, as componentes de incerteza identificadas encontram-se ilustradas na **Figura 3.2**.

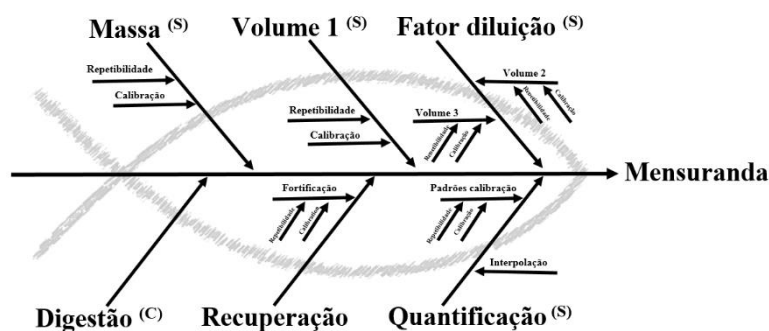


Figura 3.2 – Identificação das fontes de incerteza consideradas na aplicação da abordagem diferencial, usando um diagrama Ishikawa (S) componentes simples e (C) componentes complexas).

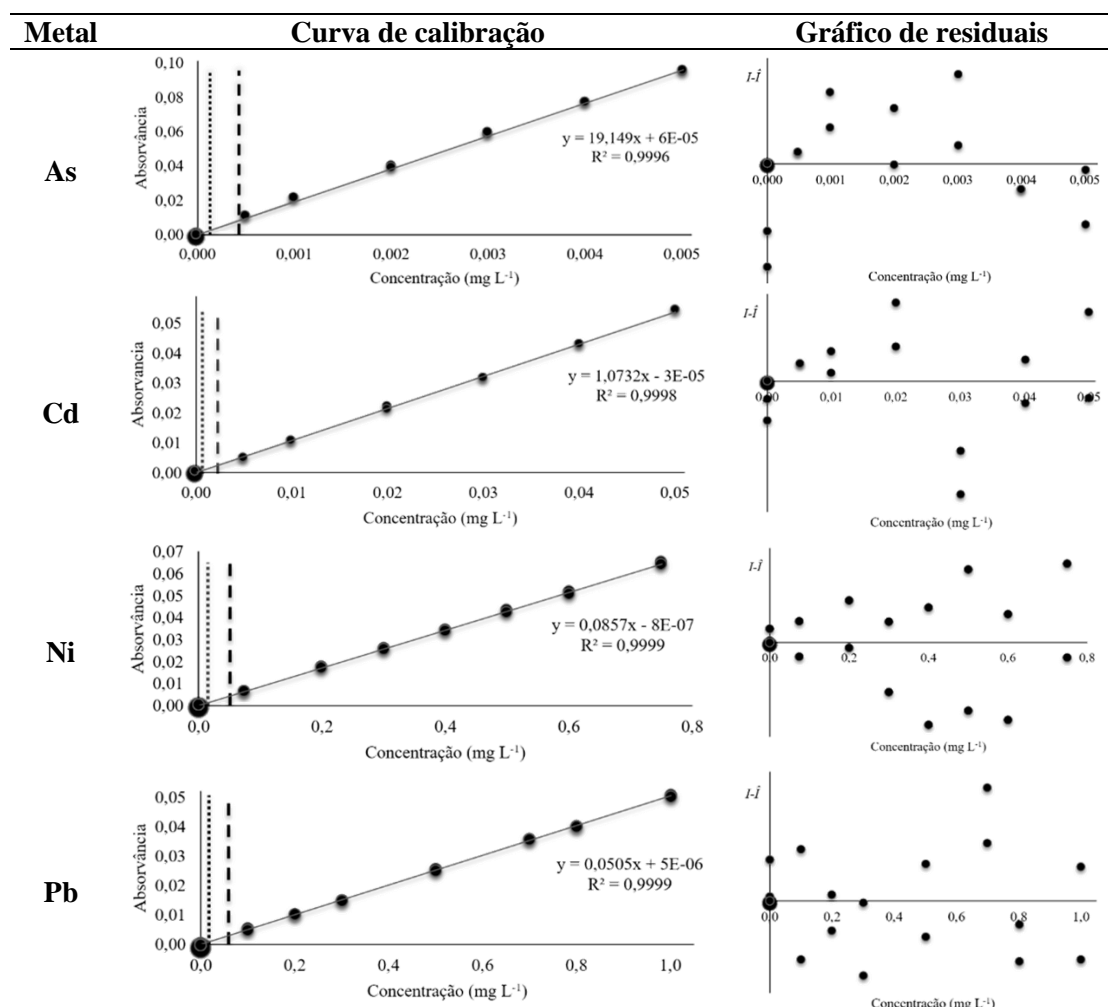
Neste estudo, para estimar a incerteza de medição associada às etapas analíticas simples que são comparadas com o desvio padrão da precisão intermédia, com vista a estimar-se a $u'_{complexas}$ por diferença, a componente associada à calibração da balança foi excluída, uma vez que foi utilizada sempre a mesma balança nas pesagens. O mesmo sucedeu para a incerteza associada ao valor da solução padrão concentrada ($\approx 1000 \text{ mg L}^{-1}$), dado que as soluções padrão de calibração foram preparadas a partir da mesma solução. Contudo, as componentes excluídas da determinação da $u'_{complexas}$, posteriormente foram consideradas no cálculo da incerteza associada aos resultados das amostras e MRC.

3.3.3.2 Avaliação da linearidade e da homogeneidade de variâncias da resposta instrumental

Ao contrário das abordagens supra-analíticas, a abordagem diferencial impõe que os pressupostos do MMQ sejam cumpridos se este modelo de regressão foi usado no cálculo da incerteza de interpolação. Desta forma, nesta abordagem foi verificado o comportamento da resposta instrumental nas gamas de

calibração, de modo análogo ao descrito na **Secção 3.1**. A **Tabela 3.13** ilustra as representações gráficas de uma curva de calibração diária e correspondente gráfico de residuais para os metais em estudo.

Tabela 3.13 – Curva de calibração e gráfico de residuais de uma curva de calibração diária para cada metal (..... LD; -- LQ).



Esta avaliação sumária da calibração diária serve de verificação dos pressupostos avaliados de forma detalhada com curvas de calibração construídas com mais dados experimentais.

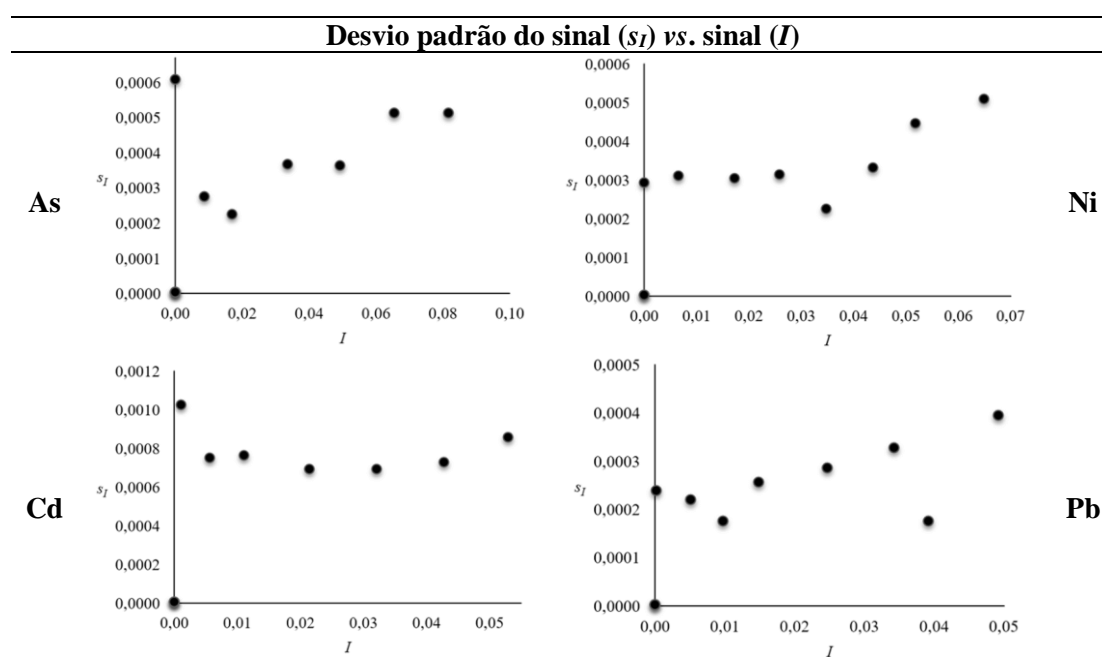
Verifica-se que, para todos os metais, o coeficiente de correlação de Pearson, apresentado nas correspondentes curvas de calibração, é superior a 0,999 e, simultaneamente, através dos gráficos de residuais, observa-se que os residuais ($I - \hat{I}$) distribuem-se aleatoriamente acima e abaixo do residual zero, evidenciando assim a linearidade da resposta instrumental. O teste estatístico ANOVA-LOF, dado para **Equação 1.5**, confirmou o resultado desta análise. A utilização de apenas dois resultados replicados, para avaliar a homogeneidade de variâncias dos sinais instrumentais, através do gráfico de residuais, pode levantar dúvidas, pelo que nesta avaliação foi usado o teste de Fisher, dado pela **Equação 1.4**, o qual provou que as gamas de trabalho, para os todos os metais, são heteroscedásticas.

Os limiares analíticos apresentados a tracejado nas curvas de calibração foram estimados pelo desvio padrão residual obtido pelo MMQ usado para descrever a curva de calibração. Uma vez na presença de gamas de calibração heteroscedásticas, a utilização do LQ estimado por esta metodologia é contraindicada, pelo que se considerou o LQ estabelecido na **Tabela 3.7**. Pela mesma razão, o MMQ não é o modelo mais adequado para a estimativa da incerteza de interpolação do sinal de uma amostra na curva de calibração, a incerteza de resultados interpolados na parte inferior da gama é sobrestimada e a incerteza de resultados interpolados na parte superior da gama é subestimada. Por forma a contornar esta limitação, foi utilizado o método das SMC que permite estimar a incerteza de quantificações realizadas pelo MMQ mesmo quando os pressupostos do modelo não são cumpridos. Tal é possível porque o método das SMC simula o impacto de todas as componentes de incerteza que afetam o resultado determinado por interpolação de um sinal na curva de calibração definida.

3.3.3.3 Estratégias para definir o modelo de variação do sinal

Tendo em conta a necessidade de contabilizar todas as componentes de incerteza que afetam a medição e o facto do desempenho do espectrómetro variar ao longo da gama de calibração, foram desenvolvidos modelos da variação do valor e precisão do sinal instrumental ao longo da gama de calibração. Como as curvas de calibração diárias são traçadas com base em valores de dois replicados das soluções padrão de calibração e a variância dos seus sinais mostrou-se heteroscedástica, a utilização dos dados referentes a estas curvas para estimar a variabilidade do sinal, não é adequada. Deste modo foram utilizados os dados referentes à curva de calibração alternativa obtidas em condição de repetibilidade, a qual corresponde à curva de calibração em condição de repetibilidade apresentada na **Tabela 3.1** à **Tabela 3.4**, com um número elevado de réplicas. Assim, esta foi usada para estimar a variação do desvio padrão (s_I) em função da média dos valores dos próprios sinais (I). Na **Tabela 3.14** está representada a variação da precisão do sinal ao longo da gama de calibração para cada metal.

Tabela 3.14 – Representação da variação da precisão do sinal ao longo da gama de calibração (s_I e I são o desvio padrão e o valor médio do sinal instrumental, respetivamente).



Considerando os dados recolhidos para os vários metais, para o modelo da variação da precisão ao longo da curva de calibração, foi decidido considerar o desvio padrão estimado por conversão entre dados das curvas de calibração diária e alternativa, usando os seus desvios padrões residuais (**1^a-iii**), porque a curva de calibração diária pode estar associada a uma precisão absoluta significativamente diferente da observada na calibração alternativa. Analisando as representações gráficas de s_I vs. I , observa-se um comportamento linear para estes parâmetros nas determinações de As, Ni e Pb, optando-se por seleccionar os parâmetros de regressão absolutos para s_I vs. I (**2^a-iii**) para estimar a variabilidade do sinal. No caso do Cd evidencia-se uma variação mais constante, pelo que foi escolhido o valor máximo do desvio padrão absoluto (**2^a-i**), por forma a sobrestimar a variabilidade do sinal e, consequentemente, a incerteza associada à quantificação instrumental.

3.3.3.4 Quantificação da incerteza de medição

A quantificação da incerteza de medição proposta por esta abordagem foi realizada através da folha de cálculo, demonstrada ao longo da **Secção 2.4.1**. Nesta folha, os valores das variáveis de entrada da determinação do analito, foram devidamente combinados, permitindo extrair facilmente uma boa estimativa da mensuranda, através do percentil 50 e a incerteza associada às etapas simples ($u'_{simples}$), através dos percentis que produzem um intervalo com um nível de confiança de 68 %. Foram estudados os resultados da análise das amostras A, A_{II}, A_F, B, C e C_F. Os percentis dos resultados simulados da análise das amostras utilizados para estimar a incerteza de medição, encontram-se na **Tabela A.10** à **Tabela A.17**. No caso do Cd, as amostras A, A_{II}, B e C não foram utilizadas para estimar a incerteza de medição usando os dois procedimentos de digestão, pois estas apresentavam valores de fração de massa inferiores ao LQ .

Para cada combinação “analito”/“procedimento de digestão” foram compiladas as melhores estimativas dos resultados das análises realizadas em dias diferentes, sendo estimado o seu desvio padrão relativo (u'_{PI}) que corresponde à condição de precisão intermédia. No caso das amostras fortificadas, a $u'_{simples}$ estimada pelas SMC foi combinada com a incerteza associada à fortificação. Com vista a estimar a incerteza associada às etapas complexas, os valores da u'_{PI} e $u'_{simples}$ foram comparados estatisticamente através de um teste de Fisher unilateral. Na determinação de As na amostra C_F, pelo procedimento de digestão EPA, Cd na amostra A_F e Pb na amostra A_{II}, por ambos os procedimentos de digestão, os valores de u'_{PI} são significativamente inferiores à $u'_{simples}$, revelando que a incerteza associada às componentes simples foi sobrestimada, resultando na exclusão destas amostras para a estimativa da incerteza de medição. Reunindo o conjunto dos resultados em que $u'_{complexas}$ é significativa, foi estimada, por diferença, através da **Equação 3.2**, a incerteza associada à etapa complexa ($u'_{complexa}$).

$$u'_{complexa} = \sqrt{(u'_{PI})^2 - (u'_{simples})^2} \quad (3.2)$$

A incerteza associada à etapa complexa da medição foi dada pela combinação da $u'_{complexa}$ de diversas amostras através da **Equação 1.24**. A incerteza associada à veracidade da medição foi estimada, de modo análogo à abordagem supra-analítica proposta pelo guia Eurachem, de acordo com a **Equação 1.26**. A **Tabela 3.15** compila os valores estimados das incertezas padrão relativas das componentes de incerteza identificadas. Os valores $u'_{simples}$ reportados foram obtidos para os dois procedimentos de digestão aquando da análise do MRC apresentado na **Tabela A.18**.

Tabela 3.15 – Incertezas padrão relativas das componentes de incerteza estimadas pela abordagem diferencial.

Metal	Procedimento de digestão	$u'_{simples}$ (%)	$u'_{complexa}$ (%)	$u'_{\bar{R}_m}$ (%)
As	OSPAR	1,20	3,07	2,46
	EPA	1,27	3,62	1,65
Cd	OSPAR	3,17	5,81	3,31
	EPA	3,10	6,98	3,38
Ni	OSPAR	1,18	4,62	1,17
	EPA	1,09	5,53	1,28
Pb	OSPAR	1,82	4,49	1,57
	EPA	1,71	5,42	1,24

Uma vez que a incerteza associada à veracidade foi estimada com base na abordagem apresentada no guia Eurachem, o processo para avaliar a incerteza da recuperação de analito foi o mesmo descrito previamente. Os valores de t_{tab} e t_{cal} utilizados para a avaliação da $u'_{\bar{R}_m}$ encontram-se na **Tabela 3.16**.

Tabela 3.16 – Valores de t tabelados (t_{tab}) e calculados (t_{cal}) para a avaliação da recuperação média estimada pela abordagem diferencial.

Metal	Procedimento de digestão	t_{tab}		t_{cal}	
		A _F	C _F	A _F	C _F
As	OSPAR	2,26	2,36	2,76	1,16
	EPA	2,26	-	3,20	-
Cd	OSPAR	-	2,36	-	1,96
	EPA	-	2,36	-	0,29
Ni	OSPAR	2,36	2,78	9,05	8,42
	EPA	2,57	2,57	5,55	4,00
Pb	OSPAR	2,26	2,31	1,21	5,17
	EPA	2,26	2,36	2,84	4,11

Utilizando o critério supracitado para decidir sobre a correção dos efeitos sistemáticos, constatou-se que são indicadas correções nos resultados das determinações de As, Ni e Pb, uma vez que pelo menos num dos pares de valores de t , o t_{cal} foi superior ao respetivo t_{tab} . Para o Cd, em ambos os procedimentos de digestão, os valores de t_{tab} foram superiores aos valores de t_{cal} , pelo que não se procedeu a nenhuma correção das estimativas originais.

As componentes de incerteza foram combinadas através da **Equação 1.30**. Os resultados da análise do MRC foram determinados com incerteza para um nível de confiança de 95 % ($k = 2$). A **Tabela 3.17** apresenta os resultados expressos com incerteza expandida para este nível de confiança e a correspondente incerteza relativa expandida (U') estimada pela abordagem diferencial.

Tabela 3.17 – Resultados da análise do MRC^[36] expresso com incerteza para um nível de confiança de 95 % ($k = 2$), segundo a abordagem diferencial (U' é a incerteza expandida relativa).

Metal	Procedimento de digestão	Resultado (mg kg ⁻¹)	U' (%)
As	OSPAR	(23,9 ± 2,0)	8,2
	EPA	(21,3 ± 1,8)	8,4
Cd	OSPAR	(1,90 ± 0,28)	14,8
	EPA	(1,98 ± 0,33)	16,7
Ni	OSPAR	(52,2 ± 5,1)	9,8
	EPA	(57,0 ± 6,6)	11,6
Pb	OSPAR	(68,0 ± 6,9)	10,2
	EPA	(74,4 ± 8,7)	11,6

A disparidade entre os valores de fração de massa apresentados na **Tabela 3.17** com os apresentados na **Tabela A.18**, deve-se à correção efetuada da estimativa original dos teores de As, Ni e Pb, originada pela presença de efeitos sistemáticos relevantes.

3.3.3.5 Avaliação da compatibilidade metrológica dos resultados estimados e de referência

Como descrito anteriormente, e considerando o carácter inovador da metodologia usada para estimar a incerteza de medição, no qual estão englobadas etapas analíticas complexas, é usado um método computacional intensivo na combinação das componentes de incerteza, tornando imprescindível a avaliação da qualidade do resultado estimado. Os resultados estimados foram comparados com os valores de referência certificados do MRC, apresentados na **Tabela 2.1**, com vista a testar a compatibilidade metrológica, segundo o mesmo procedimento descrito na **Secção 3.3.2.3**. A **Tabela 3.18** apresenta os valores obtidos para os dois termos da **Equação 3.1** com o objetivo de avaliar os resultados estimados.

Tabela 3.18 – Parâmetros do teste de compatibilidade metrológica dos resultados da análise do MRC estimados pela abordagem diferencial para um nível de confiança de 95 %.

Metal	Procedimento de digestão	$ Dif $	U_{Dif}
As	OSPAR	0,93	2,17
	EPA	1,76	2,01
Ni	OSPAR	9,25	18,33
	EPA	6,14	18,79
Pb	OSPAR	15,65	23,35
	EPA	10,56	23,92

Ao verificar que o valor do módulo da diferença das frações de massa estimada e certificada é inferior à incerteza expandida da diferença, para um nível de confiança de 95 %, constata-se que, os resultados obtidos na determinação dos metais no MRC, segundo os dois procedimentos de digestão, são metrologicamente compatíveis com o valor de referência certificado. Salienta-se que a conclusão extraída para o procedimento de digestão EPA deve ser conscienciosamente deferida, dado que não

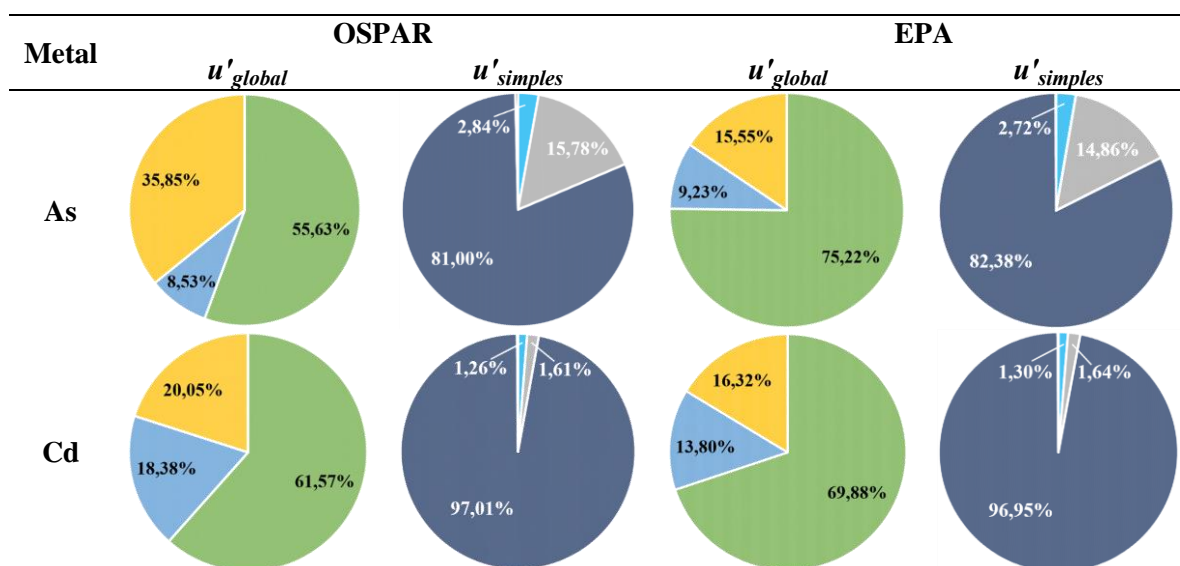
existem valores certificados para este procedimento. Pelas razões previamente mencionadas, não foi testada a compatibilidade dos resultados da determinação de Cd.

A semelhança da avaliação realizada às abordagens supra-analíticas, para as dez leituras do MRC, os resultados estimados foram comparados com o valor de referência certificado. Os resultados obtidos para a determinação de As, pelo procedimento de digestão OSPAR, mostraram-se compatíveis para um nível de confiança de 95 %. Por outro lado, para o mesmo metal, aquando da utilização do procedimento de digestão EPA, registou-se que 4 de 10 resultados não são compatíveis com o valor de referência para um nível de confiança de 99 %, devido aos argumentos citados anteriormente para a justificação desta divergência. Para as determinações de Ni e Pb, todos os resultados são compatíveis com o valor referência para um nível de confiança de 95 %.

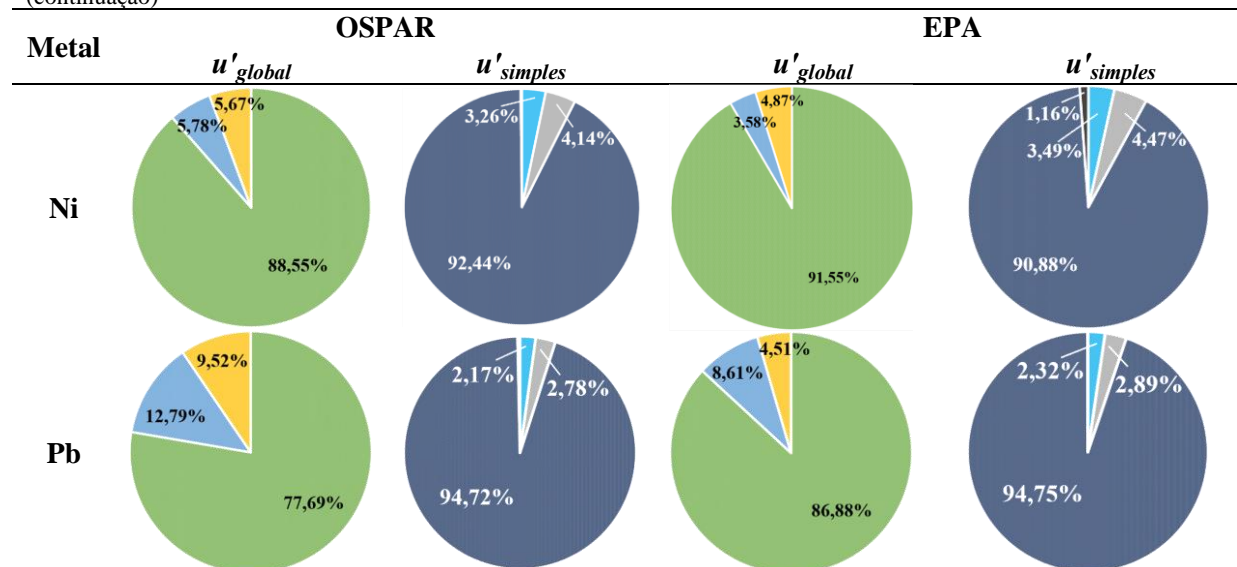
3.3.3.6 Interpretação dos resultados

Ao contrário do que acontece com as abordagens supra-analíticas, a abordagem diferencial tem a capacidade de quantificar isoladamente a contribuição para a incerteza das diversas etapas de medição, nas quais estão incluídas as etapas complexas. A **Tabela 3.19** apresenta as contribuições percentuais das componentes, sob a forma de diagramas circulares. Note-se que os diagramas com tonalidade de azul apresentam subdivisões da $u'_{simples}$ do diagrama imediatamente à sua esquerda, ou seja, estes diagramas ilustram a contribuição isolada das componentes de incerteza simples consideradas relevantes para a incerteza global da medição.

Tabela 3.19 – Contribuições percentuais das componentes de incerteza de medição contabilizadas pela abordagem diferencial (■ $u'_{complexa}$; ■ u'_{R_m} ; ■ $u'_{simples}$; ■ u'_{massa} ; ■ u'_{volume} ; ■ $u'_{quantificação\ instrumental}$; ■ u'_{outras} ; u'_{global} é a incerteza padrão relativa global da medição e $u'_{simples}$ é a incerteza padrão relativa associada à combinação das etapas simples do procedimento).



(continuação)



Os diagramas apresentados comprovam que a incerteza associada à precisão de medição, a qual é constituída pelas incertezas associadas às etapas simples e complexa, é a fonte de incerteza maioritária na determinação dos metais em sedimentos por EAA. Analisando esta componente da incerteza global da medição, verifica-se que a etapa de digestão é a parte principal desta componente. A contribuição das etapas simples é repartida pelas etapas de pesagem, medições de volumes, quantificação instrumental e outras componentes, em que mais de 80 % destas advém da incerteza associada à quantificação instrumental.

Por sua vez, constata-se que a contribuição associada à precisão de medição é inferior quando estimada pela abordagem diferencial face à estimada pela abordagem proposta no guia Eurachem. Pode-se assinalar que o motivo para a obtenção de menores valores deve-se à contabilização de todas as componentes de incerteza associadas aos efeitos aleatórios de forma isolada, evitando que a $u'_{precisão}$ seja sobrestimada por repetições.

3.3.3.7 Avaliação do desempenho do método das Simulações de Monte Carlo

A qualidade dos resultados das SMC foi avaliada através da análise de soluções padrão de controlo equivalente às soluções padrão de calibração para assegurar que a incerteza da etapa de digestão não mascara desvios nesta parte das estimativas.

Esta avaliação foi realizada utilizando as soluções padrão de controlo, preparadas a dois níveis de concentração, como descrito na **Secção 2.3.3**. Como estas soluções de controlo não estiveram sujeitas a uma etapa de digestão, a sua incerteza é dada apenas por componentes referentes à preparação e quantificação instrumental, possibilitando avaliar o desempenho do modelo numérico desenvolvido. O teste foi executado de maneira idêntica ao teste de compatibilidade metrológica referenciado nas **Secções 3.3.2.3** e **3.3.3.5**, porém a comparação é realizada utilizando os valores teóricos das soluções PC, apresentados na **Tabela 2.5**, e os valores estimados pelo método das SMC, apresentados na **Tabela A.19**. A **Tabela 3.20** contém os valores calculados pelos dois termos da **Equação 3.1** para averiguar a compatibilidade dos valores das soluções PC₁ e PC₂, e consequentemente, a validade do método das SMC implementado.

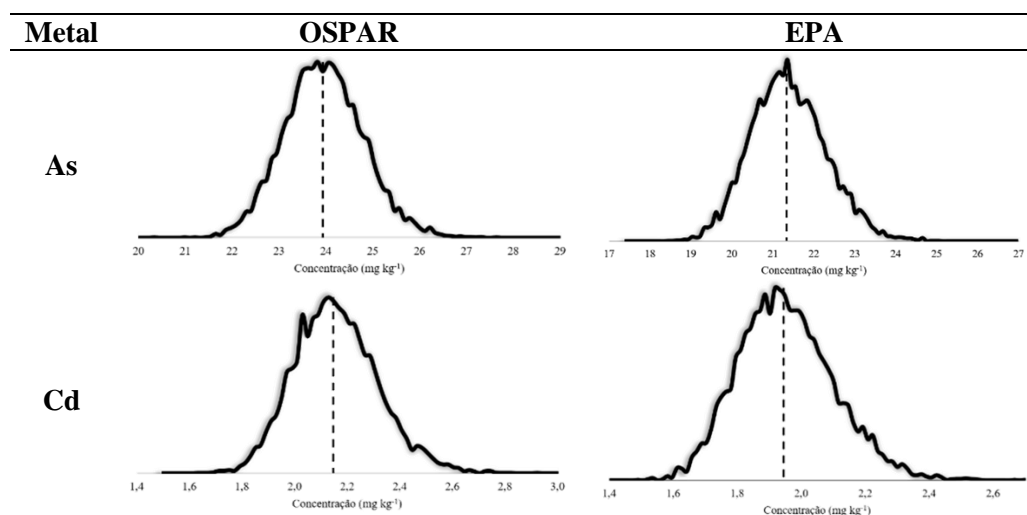
Tabela 3.20 – Parâmetros do teste de compatibilidade metrológica dos resultados estimados e de referência de soluções padrão de controle, para um nível de confiança de 95 % ou 99 %[§].

Metal	PC ₁		PC ₂	
	Dif	U _{Dif}	Dif	U _{Dif}
As	0,00004	0,00008	0,000018	0,00008 [§]
Cd	0,00071	0,00091 [§]	0,00117	0,00167
Ni	0,00563	0,00824	0,00677	0,00877 [§]
Pb	0,00405	0,01809	0,00361	0,01189

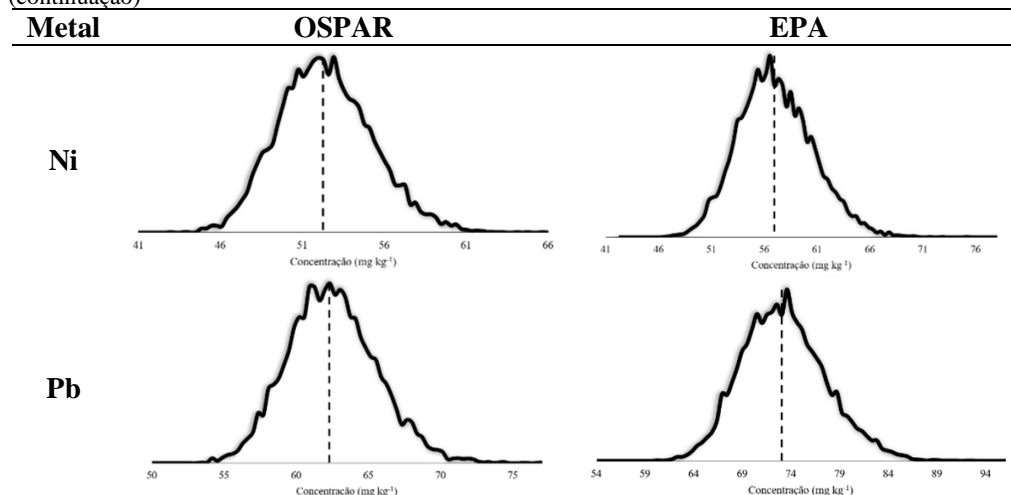
Como se pode verificar, os resultados reportados são todos compatíveis, para os níveis de confiança indicados, à exceção do resultado da determinação de As na solução PC₂, sugerindo que, neste caso, a sua incerteza pode ter sido subestimada. A opção por um nível de confiança de 99 % resultou da observação de incompatibilidade para um nível de confiança de 95 %, como acontece por exemplo nas determinações de As no PC₂, Cd no PC₁ e Ni no PC₂. Mediante os dados apresentados, atesta-se que na grande generalidade observa-se compatibilidade metrológica entre resultados estimados e de referência e, concluiu-se que, o modelo das SMC é metodologicamente válido para a combinação e quantificação da incerteza associada às etapas analíticas simples. Todavia, este teste foi executado somente para as curvas de calibração representadas na **Tabela 3.13**, pelo que o número de dados pode não ser o suficiente para afirmar inequivocamente o sucesso desta aplicação computacional.

3.3.3.8 Especificidade do método das Simulações de Monte Carlo

O método das SMC ao propagar as funções de densidades de probabilidades de todas as componentes de incerteza, através da equação modelo, ao invés de apenas o valor das suas incertezas, permite obter uma distribuição de valores que descreve a mensuranda. A **Tabela 3.21** apresenta as distribuições dos resultados dos metais no MRC. Estas distribuições foram obtidas gerando 160000 simulações que tiverem em conta todas as componentes de incerteza associadas às etapas analíticas simples, complexas e, à exceção do Cd, a correção associada à recuperação, efetuada sobre os resultados estimados para cada mensuranda.

Tabela 3.21 – Distribuição dos resultados das mensurandas.

(continuação)



A vantagem deste método é a exatidão da estimativa da mensuranda, mesmo quando esta não tem uma distribuição normal. Como se pode observar, as distribuições apresentadas tendem todas para uma distribuição normal, apresentando algumas simetrias em relação ao valor central. A linha a tracejado representa o valor do percentil 50, neste caso, representa a melhor estimativa da mensuranda. Os pequenos desvios observados entre os valores correspondentes ao percentil 50 e os resultados apresentados na **Tabela 3.17** devem-se ao número reduzido de simulações considerado.

3.3.4 Considerações finais

Com o propósito de comparar as incertezas de medição estimas pelas abordagens supra-analíticas e diferencial, na **Tabela 3.22** estão reportados os resultados obtidos por estas abordagens por forma a facilitar a sua comparação. Para a melhor comparação, os resultados referem-se à mesma leitura.

Tabela 3.22 – Coletânea dos resultados estimados pelas abordagens em estudo, para um nível de confiança de 95 % (U' é a incerteza expandida relativa).

Metal	Procedimento de digestão	Abordagem diferencial		Abordagens supra-analíticas			
		Resultado (mg kg^{-1})	U' (%)	Eurachem		Nordtest	
				Resultado (mg kg^{-1})	U' (%)	Resultado (mg kg^{-1})	U' (%)
As	OSPAR	$(23,9 \pm 2,0)$	8,2	$(23,9 \pm 2,3)$	9,5	$(22,4 \pm 3,0)$	13,4
	EPA	$(21,3 \pm 1,8)$	8,4	$(21,3 \pm 2,1)$	9,9	$(19,3 \pm 2,7)$	13,8
Cd	OSPAR	$(1,90 \pm 0,28)$	14,8	$(1,90 \pm 0,37)$	19,3	$(1,90 \pm 0,43)$	22,4
	EPA	$(1,98 \pm 0,33)$	16,7	$(1,98 \pm 0,41)$	20,6	$(1,98 \pm 0,41)$	20,7
Ni	OSPAR	$(52,2 \pm 5,1)$	9,8	$(53,2 \pm 7,5)$	14,4	(46 ± 10)	22,2
	EPA	$(57,0 \pm 6,6)$	11,6	$(57,0 \pm 8,0)$	14,0	$(52,4 \pm 9,4)$	17,9
Pb	OSPAR	$(68,0 \pm 6,9)$	10,2	$(68,1 \pm 7,8)$	11,5	(64 ± 10)	15,3
	EPA	$(74,4 \pm 8,7)$	11,6	$(74,5 \pm 9,5)$	12,8	(70 ± 11)	15,2

Analisando os resultados, verifica-se que a incerteza de medição é majorada pelas abordagens supra-analíticas, sobretudo pela abordagem proposta pelo guia Nordtest. A explicação incide no facto de esta última abordagem não considerar qualquer correção dos efeitos sistemáticos ao contrário da

abordagem do guia Eurachem. A obtenção de valores de incerteza inferiores, pela abordagem diferencial, deve-se à contabilização de todas as componentes de incertezas isoladamente evitando a contabilização repetida de componentes.

Todavia, apesar das abordagens supra-analíticas majorarem o valor da incerteza de medição, neste estudo, as U' não ultrapassam os 23 %, para um nível de confiança de 95 %. Em contrapartida, a abordagem diferencial estimou valores de U' nunca superiores a 17 %, para o mesmo nível de confiança.

No que concerne aos valores da melhor estimativa da mensuranda apresentados, evidencia-se semelhanças entre os valores estimados pelas abordagens diferencial e supra-analítica segundo o guia Eurachem, dado que ambas as abordagens seguem o mesmo protocolo de gestão de erros sistemáticos em particular a correção de efeitos sistemáticos relevantes. Pela razão oposta, verificam-se disparidades entre os resultados estimados por estas abordagens face à abordagem supra-analítica proposta pelo guia Nordtest. Exclusivamente na determinação de Cd, segundo os dois procedimentos de digestão, os valores das melhores estimativas da mensuranda são todos equivalentes visto que não foi necessário proceder a nenhuma correção dos resultados originais.

No que respeita à adequabilidade dos procedimentos de medição do qual a avaliação da incerteza faz parte, conclui-se que estas são adequadas à monitorização dos metais em sedimentos marinhos, uma vez que produzem incertezas relativas expandidas inferiores ao valor alvo definido de 25 %.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

No âmbito da validação de um procedimento analítico, é imprescindível uma avaliação metrológica do cumprimento dos requisitos da medição, os quais conferem um veredicto relativamente à adequabilidade do procedimento e da qualidade das suas medições. O procedimento analítico foco deste trabalho consistiu na determinação de metais pesados (As, Cd, Ni e Pb) em sedimentos por espectrometria de absorção atômica, recorrendo a uma etapa prévia de digestão das amostras segundo um de dois procedimentos distintos. A validação do procedimento envolveu o estudo da linearidade e da homogeneidade de variâncias da resposta instrumental, dos limiares analíticos e a avaliação da incerteza de medição por três abordagens com origem em diferentes níveis de informação.

O estudo da linearidade e da homogeneidade de variâncias da resposta instrumental foi realizado em condição de repetibilidade e de precisão intermédia. Em ambas as condições de precisão e para os analitos verificou-se que, ao longo das gamas de calibração, a absorvância varia linearmente com a concentração. Contudo, somente em condição de repetibilidade, constatou-se a existência de homoscedasticidade das gamas de calibração.

Os limiares analíticos foram, igualmente, estimados em duas condições de precisão, definindo duas metodologias. O LD e o LQ estimados, em condição de precisão intermédia, com base no desvio padrão residual da regressão apresentaram valores superiores face aos valores estimados com base na variabilidade da concentração estimada do padrão de calibração de menor concentração. O estabelecimento dos limiares analíticos visou definir um limite inferior da gama de calibração, para o qual não se recomenda que sejam reportados valores quantitativos.

As incertezas de medição foram estimadas pelas abordagens supra-analíticas propostas nos guias Eurachem e Nordtest e pela abordagem diferencial. Em todos os casos, observaram-se que os valores das incertezas estimadas pelas abordagens supra-analíticas foram majorados, comparativamente aos valores estimados pela abordagem diferencial. Estes resultados eram espetáveis, devido aos princípios subjacentes a cada abordagem. A qualidade dos resultados foi avaliada metrologicamente através da análise de um MRC. A evidência de compatibilidade metrológica entre os resultados sugere que os valores estimados possam ser rastreados à mesma referência dos resultados certificados do MRC, e consequentemente, permite que estes sejam comparados a outros resultados rastreados à referência em comum. No que respeita aos resultados obtidos pelo procedimento de digestão EPA 3050B, fica ao critério do analista a decisão sobre a rastreabilidade destes resultados ao valor definido pelo procedimento de ensaio, devido à ausência de valores de referência certificados segundo este procedimento de digestão ou a utilização futura de um MRC adequado para esta avaliação. Independentemente da abordagem utilizada na avaliação da incerteza de medição, os procedimentos de medição provaram ser adequados à monitorização dos metais pesados em sedimentos, uma vez que os valores da incerteza expandida relativa estimados, para um nível de confiança de 95 %, foram inferiores ao valor alvo definido de 25 %.

A aplicação do método de Monte Carlo na combinação das componentes de incerteza da abordagem diferencial, através da folha de cálculo desenvolvida neste trabalho, permitiu produzir um modelo detalhado das medições apesar da sua elevada complexidade. O modelo metrológico desenvolvido tem a capacidade de estimar as contribuições percentuais de todas as componentes de incertezas que afetam a medição, incluindo a etapa de digestão da amostra. Através de testes realizados, ao nível da quantificação instrumental, concluiu-se que esta inovadora metodologia foi utilizada com sucesso na estimativa da incerteza das medições. Num futuro próximo, após pequenos ajustes na folha de cálculo, esta poderá ser aplicada paralelamente a muitos outros tipos de medição em química.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] D. Moore, *Chemistry International*, **24-4** (2002) 16-17.
- [2] M. Valcárcel, *Trends in Analytical Chemistry*, **16** (1997) 124-131.
- [3] Joint Committee for Guides in Metrology, International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM), 3rd ed., JCGM 200, 2012.
- [4] R. Silva, Modelação do desempenho de métodos analíticos complexos, Tese de Doutoramento em Química, Universidade de Lisboa, Departamento de Química e Bioquímica, 2004.
- [5] Analytical Methods Committee, AMC Technical Brief N° 76, *The Royal Society of Chemistry*, 2016.
- [6] M. Valcárcel, B. Lendl, *Trends in Analytical Chemistry*, **23** (2004) 527-534.
- [7] N. Bray, M. Cohen (Eds.), *Dredging for development*, International Association of Dredging Companies (IADC) & International Association of Ports and Harbors (IAPH), 6th ed., 2010.
- [8] PORTUGAL, Portaria n° 1450/2007 de 12 de novembro do Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, *Diário da República*, 1^a série - n° 217/2007.
- [9] M. Gao *et al.*, *Archives of Environmental Contamination Toxicology*, **71** (2016) 87-96.
- [10] Z. Zhang *et al.*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **126** (2016) 94-101.
- [11] W. Tang *et al.*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **36** (2017) 1149-1155.
- [12] A. Ferreira, M. Horta, C. Cunha, *Gestão Costeira Integrada*, **10** (2010) 229-241.
- [13] W. Tang *et al.*, *Environmental Science and Pollution Research*, **23** (2016) 23630-23637.
- [14] Regulamento (CE) n° 1272/2008 de 16 de dezembro do Parlamento Europeu e do Conselho, *Jornal Oficial da União Europeia*, 2008.
- [15] D. A. Skoog *et al.*, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8th ed., Thomson-Brooks Cole, 2004.
- [16] E. Metcalfe, *Atomic Absorption and Emission Spectroscopy – Analytical chemistry by open learning*, John Wiley & Sons, London, 1991.
- [17] D. C. Harris, *Quantitative Chemical Analysis*, 7th ed., W. H. Freeman and Company, New York, 2007.
- [18] J. E. Cantle, *Atomic Absorption Spectrometry - Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry – Volume 5*, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam-Oxford-New York, 1982.
- [19] A. Hineman, Application Note - Determination of As, Se and Hg in Waters by Hydride Generation/Cold Vapor Atomic Absorption Spectroscopy, Perkin Elmer®, 2011-2012.
- [20] ISO/IEC 17025:2005, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories, ISO, 2005.
- [21] B. Brasil *et al.*, *Analytica Chimica Acta*, **804** (2013) 287-295.

- [22] J. Loco *et al.*, *Accreditation and Quality Assurance*, **7** (2002) 281-285.
- [23] R. Silva, *Talanta*, **148** (2016) 177-190.
- [24] R. Silva, M. Camões, *Analytical Letters*, **43** (2010) 1257-1266.
- [25] B. Magnusson, U. Örnemark (Eds.), *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, 2nd ed., 2014.
- [26] Joint Committee for Guides in Metrology, *Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*, 1st ed., JCGM 100, 2008.
- [27] R. Bettencourt da Silva, A. Williams (Eds.), *Eurachem/CITAC Guide: Setting and Using Target Uncertainty in Chemical Measurement*, 1st ed., 2015.
- [28] R. Silva, *Water*, **10-5** (2013) 1279-1302.
- [29] Regulamento (UE) n° 2015/1787 de 6 de outubro da Comissão, *Jornal Oficial da União Europeia*, 2015.
- [30] R. Silva, J. Santos, M. Camões, *Accreditation and Quality Assurance*, **10** (2006) 664-671.
- [31] S. L. R. Ellison, A. Williams (Eds.), *Eurachem/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 3rd ed., 2012.
- [32] M. Cox, M. Dainton, P. Harris, *Software Support for Metrology – Best Practise Guide No. 6 – Uncertainty and Statistical Modelling*, 2001.
- [33] Joint Committee for Guides in Metrology, *Evaluation of measurement data – Supplement 1 to the “Guide to the expression of uncertainty in measurement” – Propagation of distributions using a Monte Carlo method*, 1st ed., JCGM 101, 2008.
- [34] M. Herrador, A. González, *Talanta*, **64** (2004) 415-422.
- [35] B. Magnusson *et al.*, *Nordtest technical report - Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories*, TR 537 ed. 3.1, 2012.
- [36] National Water Research Institute, *Certificate of Analysis – WQB-1 - A Lake Ontario Sediment for Trace Elements*, Canada, 2001.
- [37] OSPAR Commission, *JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in Sediments*, Ref. n° 2002-16, Technical Annex 6, 2002.
- [38] EPA, *Method 3050B – Acid Digestion of sediments, sludges, and soils*, 1996.

ANEXOS

A.1 Dados para o estudo dos limiares analíticos

Tabela A.1 – Leituras da solução padrão de calibração 0,5 µg L⁻¹ do As para o cálculo dos limiares analíticos em condição de precisão intermédia.

Absorvância									
08-02-17	09-02-17	02-03-17	03-03-17	14-03-17	15-03-17	28-03-17	29-03-17	05-04-17	06-04-17
0,0071	0,0083	0,0098	0,0100	0,0119	0,0097	0,0089	0,0095	0,0086	0,0086
0,0084	0,0088	0,0100	0,0097	0,0120	0,0096	0,0091	0,0098	0,0090	0,0085
0,0084	0,0088	0,0103	0,0100	0,0124	0,0105	0,0096	0,0098	0,0093	0,0090
0,0081	0,0087	0,0109	0,0104	0,0130	0,0101	0,0094	0,0102	0,0097	0,0093
0,0084	0,0085	0,0104	0,0098	0,0128	0,0108	0,0092	0,0103	0,0093	0,0095
0,0082	0,0090	0,0103	0,0100	0,0130	0,0107	0,0098	0,0102	0,0095	0,0096
0,0084	0,0084	0,0101	0,0098	0,0129	0,0106	0,0102	0,0100	0,0092	0,0095
0,0086	0,0087	0,0103	0,0094	0,0123	0,0102	0,0097	0,0100	0,0095	0,0094
0,0083	0,0086	0,0101	0,0104	0,0130	0,0106	0,0094	0,0101	0,0093	0,0091
0,0082	0,0088	0,0105	0,0106	0,0123	0,0103	0,0102	0,0102	0,0087	0,0093

Tabela A.2 – Leituras da solução padrão de calibração 0,005 mg L⁻¹ do Cd para o cálculo dos limiares analíticos em condição de precisão intermédia.

Absorvância									
09-11-16	30-11-16	28-12-16	16-01-17	17-01-17	30-01-17	13-02-17	21-02-17	01-03-17	08-03-17
0,0043	0,0055	0,0049	0,0046	0,0046	0,0075	0,0049	0,0036	0,0062	0,0047
0,0043	0,0051	0,0052	0,0049	0,0046	0,0053	0,0048	0,0033	0,0059	0,0051
0,0044	0,0055	0,0054	0,0050	0,0048	0,0052	0,0049	0,0041	0,0056	0,0047
0,0045	0,0052	0,0057	0,0050	0,0047	0,0056	0,0048	0,0038	0,0055	0,0044
0,0049	0,0052	0,0058	0,0049	0,0051	0,0056	0,0046	0,0038	0,0055	0,0047
0,0052	0,0053	0,0060	0,0051	0,0052	0,0055	0,0044	0,0037	0,0055	0,0048
0,0054	0,0054	0,0062	0,0051	0,0051	0,0055	0,0045	0,0036	0,0058	0,0050
0,0051	0,0052	0,0064	0,0052	0,0052	0,0058	0,0045	0,0034	0,0057	0,0042
0,0051	0,0051	0,0067	0,0051	0,0055	0,0060	0,0046	0,0035	0,0055	0,0052
0,0052	0,0052	0,0067	0,0051	0,0056	0,0059	0,0049	0,0037	0,0055	0,0052

Tabela A.3 – Leituras da solução padrão de calibração 0,075 mg L⁻¹ do Ni para o cálculo dos limiares analíticos em condição de precisão intermédia.

Absorvância									
08-11-16	29-11-16	05-12-16	07-12-16	09-12-16	12-12-16	19-12-16	21-12-16	22-12-16	23-12-16
0,0068	0,0080	0,0080	0,0064	0,0063	0,0075	0,0072	0,0063	0,0060	0,0068
0,0065	0,0081	0,0083	0,0068	0,0064	0,0078	0,0073	0,0068	0,0063	0,0072
0,0064	0,0081	0,0085	0,0065	0,0067	0,0074	0,0071	0,0067	0,0061	0,0072
0,0069	0,0081	0,0085	0,0066	0,0064	0,0077	0,0071	0,0070	0,0063	0,0069
0,0068	0,0081	0,0084	0,0067	0,0065	0,0075	0,0072	0,0070	0,0063	0,0072
0,0071	0,0083	0,0086	0,0070	0,0068	0,0078	0,0074	0,0070	0,0062	0,0079
0,0070	0,0081	0,0086	0,0071	0,0069	0,0080	0,0074	0,0069	0,0067	0,0073
0,0068	0,0084	0,0088	0,0069	0,0069	0,0078	0,0077	0,0072	0,0066	0,0076
0,0070	0,0084	0,0088	0,0072	0,0068	0,0078	0,0075	0,0077	0,0065	0,0077
0,0072	0,0085	0,0089	0,0071	0,0066	0,0080	0,0076	0,0072	0,0064	0,0078

Tabela A.4 – Leituras da solução padrão de calibração 0,1 mg L⁻¹ do Pb para o cálculo dos limiares analíticos em condição de precisão intermédia.

Absorvância								
28-11-16	07-12-16	09-12-16	12-12-16	19-12-16	21-12-16	22-12-16	23-12-16	28-12-16
0,0056	0,0055	0,0057	0,0054	0,0055	0,0057	0,0059	0,0048	0,0057
0,0052	0,0058	0,0054	0,0055	0,0054	0,0055	0,0059	0,0048	0,0057
0,0054	0,0055	0,0054	0,0054	0,0052	0,0054	0,0061	0,0048	0,0057
0,0054	0,0055	0,0055	0,0054	0,0055	0,0055	0,0057	0,0048	0,0060
0,0052	0,0056	0,0057	0,0053	0,0056	0,0058	0,0061	0,0049	0,0060
0,0055	0,0057	0,0054	0,0054	0,0057	0,0057	0,0060	0,0049	0,0056
0,0053	0,0057	0,0053	0,0056	0,0055	0,0054	0,0061	0,0049	0,0057
0,0056	0,0054	0,0055	0,0055	0,0057	0,0057	0,0062	0,0049	0,0059
0,0055	0,0056	0,0058	0,0052	0,0056	0,0057	0,0060	0,0049	0,0059
0,0052	0,0055	0,0057	0,0053	0,0058	0,0057	0,0060	0,0048	0,0060

A.2 Dados para a estimativa da incerteza de medição pelas abordagens supra-analíticas

Tabela A.5 – Resultados das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de As, pelas abordagens supra-analíticas.

Leitura	Dia de análise	Concentração (mg kg ⁻¹)										
		OSPAR						EPA				
		A	A _{II}	A _F	B	C	C _F	A	A _{II}	A _F	B	C
1	08-02-2017	15,2359	15,0714	21,7432	15,5830	6,1487	-	16,1007	15,8235	22,4287	14,0135	5,6881
2	09-02-2017	16,3421	15,2280	23,5506	13,7248	6,2340	14,3255	15,4518	16,0160	23,7559	12,4058	4,7847
3	02-03-2017	15,3093	14,7191	21,3571	14,1037	6,1706	12,8709	15,0996	14,9151	20,8383	13,5862	4,8170
4	03-03-2017	16,4954	15,2342	22,0662	14,7194	6,5253	14,0551	15,9321	15,9026	22,5658	14,7341	5,3825
5	14-03-2017	15,4874	15,0616	21,7407	14,7786	6,1493	13,5786	15,8608	14,9958	22,5683	14,3820	4,8668
6	15-03-2017	15,2645	15,0026	23,1942	14,7004	6,6009	13,6248	15,5592	15,6104	22,2152	13,9475	4,9619
7	28-03-2017	15,9178	-	23,4072	16,0556	6,6963	13,7742	16,3522	16,1998	23,4436	15,1675	5,5413
8	29-03-2017	15,2823	15,3393	22,5492	13,9783	7,0601	13,0808	15,2429	15,6554	22,4084	13,5790	4,9715
9	05-04-2017	15,8796	15,7669	22,6978	14,8073	6,5641	14,5469	16,3118	15,6546	22,6024	14,7130	5,5651
10	06-04-2017	15,7183	15,9658	23,1536	13,5368	-	-	16,1917	16,5741	23,3193	13,5125	-

Tabela A.6 – Resultados das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Cd, pelas abordagens supra-analíticas.

Leitura	Dia de análise	Concentração (mg kg ⁻¹)	
		OSPAR	EPA
		C _F	C _F
1	23-01-2017	9,8698	10,2572
2	13-02-2017	8,5560	9,1164
3	21-02-2017	9,5699	12,3307
4	01-03-2017	9,4116	10,3317
5	08-03-2017	8,9891	9,8149
6	13-03-2017	7,9376	9,1858
7	17-03-2017	8,9427	10,3093
8	21-03-2017	7,5561	10,3026

Tabela A.7 – Resultados das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Ni, pelas abordagens supra-analíticas.

Leitura	Dia de análise	Concentração (mg kg ⁻¹)											
		OSPAR						EPA					
		A	A _{II}	A _F	B	C	C _F	A	A _{II}	A _F	B	C	C _F
1	23-01-2017	8,9132	9,5852	53,3475	19,9898	7,7790	49,0308	12,4097	14,8957	55,5742	25,2192	15,1310	59,3017
2	10-02-2017	-	11,2128	56,9489	-	-	-	-	14,3833	60,8727	26,3409	16,8662	63,9830
3	20-02-2017	8,3941	8,3840	52,9788	-	-	-	11,1959	-	55,2977	22,4538	13,5897	-
4	24-02-2017	9,7603	9,4293	53,0472	19,7854	9,5074	51,9360	12,8538	13,0278	57,6370	-	14,5918	61,2633
5	07-03-2017	10,0232	9,3136	54,3329	18,2112	8,0971	51,7467	12,3697	12,7171	58,8825	24,6309	14,7833	61,8916
6	10-03-2017	8,9880	10,0987	54,1223	17,7863	8,1692	50,8162	12,7038	-	58,3898	23,9323	13,8457	61,0469
7	17-03-2017	10,4726	11,2862	55,2208	17,7136	-	54,0623	-	14,7312	-	28,6727	16,8277	-
8	21-03-2017	9,3266	9,3118	55,1331	18,3006	8,1550	53,3827	12,9979	12,6354	60,6637	24,6432	14,5387	63,1816
9	24-03-2017	-	11,2067	-	19,5173	9,8637	-	14,2794	14,4124	-	26,3970	16,5041	-
10	06-04-2017	8,6765	10,2613	54,1671	17,9705	-	-	11,5492	11,9824	-	24,4484	-	-

Tabela A.8 – Resultados das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Pb, pelas abordagens supra-analíticas.

Leitura	Dia de análise	Concentração (mg kg ⁻¹)									
		OSPAR					EPA				
		A	A _F	B	C	C _F	A	A _F	B	C	C _F
1	20-01-2017	10,5040	59,7994	48,5298	21,0587	66,6197	9,6803	59,3077	51,6820	27,8701	76,7721
2	10-02-2017	10,2502	57,8054	48,4372	21,5033	67,5594	10,8384	59,8139	53,5161	28,6513	74,0315
3	20-02-2017	9,4693	56,3577	45,4002	18,8733	63,1161	9,0023	53,9413	50,8614	23,9950	69,5714
4	24-02-2017	9,0154	55,7957	45,7599	20,3724	64,1766	9,3605	55,2745	55,6833	25,0106	71,5428
5	07-03-2017	9,8060	57,4144	45,6041	20,8287	64,3240	9,7865	57,2689	55,2078	26,4840	72,3008
6	10-03-2017	9,2886	62,2436	46,1547	19,5400	62,3099	9,8822	54,6248	52,5504	23,9112	69,5462
7	17-03-2017	8,2717	55,4314	47,7410	18,2979	63,8047	8,8980	58,3200	50,3306	24,4862	74,0932
8	21-03-2017	9,3220	55,5478	44,0661	20,8493	65,0838	10,7611	57,5318	50,9213	24,8923	71,9222
9	24-03-2017	9,9406	65,5222	46,2861	19,4068	70,1868	9,2725	60,1971	52,6081	25,6356	-
10	06-04-2017	8,5493	55,2812	42,6960	-	-	7,5739	54,7424	47,3719	-	-

Tabela A.9 – Resultados da análise do MRC para cada metal para testar a compatibilidade metrológica dos resultados estimados pelas abordagens supra-analíticas.

Metal	Leitura	Concentração (mg kg ⁻¹)	
		OSPAR	EPA
As	4	22,4051	19,2986
Cd	4	1,8998	1,9844
Ni	6	45,8157	52,4387
Pb	5	63,8252	70,2227

A.3 Dados para a estimativa da incerteza de medição pela abordagem diferencial

Tabela A.10 – Valor da concentração das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de As, pela abordagem diferencial, obtidos a partir do percentil 50 de 16000 simulações.

Leitura	Dia de análise	Concentração (mg kg ⁻¹)										
		OSPAR						EPA				
		A	A _{II}	A _F	B	C	C _F	A	A _{II}	A _F	B	C
1	08-02-2017	15,2341	15,0722	21,7488	15,5831	6,1480	-	16,1016	15,8256	22,4298	14,0157	5,6883
2	09-02-2017	16,3397	15,2304	23,5516	13,7279	6,2317	14,3271	15,4559	16,0206	23,7529	12,4075	4,7856
3	02-03-2017	15,3129	14,7125	21,3621	14,1007	6,1651	12,8761	15,0974	14,9109	20,8430	13,5844	4,8167
4	03-03-2017	16,4981	15,2335	22,0677	14,7201	6,5259	14,0570	15,9367	15,9026	22,5687	14,7369	5,3827
5	14-03-2017	15,4875	15,0584	21,7396	14,7776	6,1497	13,5813	15,8598	14,9932	22,5705	14,3767	4,8676
6	15-03-2017	15,2705	15,0042	23,1929	14,6906	6,6065	13,6276	15,5588	15,6131	22,2161	13,9470	4,9609
7	28-03-2017	15,9121	-	23,4026	16,0543	6,6937	13,7769	16,3563	16,2015	23,4389	15,1645	5,5411
8	29-03-2017	15,2809	15,3396	22,5522	13,9792	7,0631	13,0868	15,2370	15,6562	22,4062	13,5767	4,9703
9	05-04-2017	15,8783	15,7670	22,6971	14,8052	6,5637	14,5464	16,3138	15,6549	22,6016	14,7100	5,5679
10	06-04-2017	15,7132	15,9626	23,1560	13,5429	-	-	16,1863	16,5654	23,3210	13,5098	-

Tabela A.11 – Valor da incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de As, pela abordagem diferencial, obtidos a partir dos percentis 16 e 84 de 16000 simulações.

Leitura	Dia de análise	$u_{\text{simples}} \text{ (mg kg}^{-1}\text{)}$										
		OSPAR					EPA					
		A	A _{II}	A _F	B	C	C _F	A	A _{II}	A _F	B	C
1	08-02-2017	0,2417	0,2447	0,2827	0,2462	0,2139	-	0,2502	0,2486	0,2862	0,2394	0,2129
2	09-02-2017	0,1963	0,1913	0,2331	0,1839	0,1608	0,1864	0,1925	0,1946	0,2347	0,1786	0,1619
3	02-03-2017	0,3983	0,3924	0,4447	0,3888	0,3495	0,3788	0,3936	0,3945	0,4430	0,3899	0,3457
4	03-03-2017	0,2368	0,2285	0,2675	0,2240	0,1934	0,2221	0,2289	0,2296	0,2695	0,2245	0,1937
5	14-03-2017	0,4268	0,4222	0,4862	0,4186	0,3754	0,4149	0,4337	0,4266	0,4924	0,4232	0,3682
6	15-03-2017	0,3959	0,3970	0,4641	0,3941	0,3529	0,3872	0,4015	0,4078	0,4557	0,3866	0,3506
7	28-03-2017	0,3574	-	0,4149	0,3617	0,3147	0,3474	0,3623	0,3595	0,4128	0,3541	0,3129
8	29-03-2017	0,3875	0,3928	0,4454	0,3813	0,3442	0,3741	0,3890	0,3947	0,4404	0,3806	0,3425
9	05-04-2017	0,2200	0,2167	0,2570	0,2132	0,1972	0,2298	0,2214	0,2184	0,2565	0,2163	0,1857
10	06-04-2017	0,4458	0,4449	0,5047	0,4288	-	-	0,4488	0,4577	0,5081	0,4337	-

Tabela A.12 – Valor da concentração das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Cd, pela abordagem diferencial, obtidos a partir do percentil 50 de 16000 simulações.

Leitura	Dia de análise	Concentração (mg kg ⁻¹)	
		OSPAR	EPA
		C _F	C _F
1	23-01-2017	9,8656	10,2363
2	13-02-2017	8,5550	9,1143
3	21-02-2017	9,5659	12,3267
4	01-03-2017	9,4098	10,3296
5	08-03-2017	8,9785	9,8140
6	13-03-2017	7,9351	9,1857
7	17-03-2017	8,9377	10,3056
8	21-03-2017	7,5578	10,3035

Tabela A.13 – Valor da incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Cd, pela abordagem diferencial, obtidos a partir dos percentis 16 e 84 de 16000 simulações.

Leitura	Dia de análise	$u_{\text{simples}} \text{ (mg kg}^{-1}\text{)}$	
		OSPAR	EPA
		C _F	C _F
1	23-01-2017	0,5470	0,5537
2	13-02-2017	0,2418	0,2520
3	21-02-2017	0,4019	0,4475
4	01-03-2017	0,2642	0,2861
5	08-03-2017	0,3995	0,4122
6	13-03-2017	0,2957	0,3198
7	17-03-2017	0,2816	0,3154
8	21-03-2017	0,2384	0,2989

Tabela A.14 – Valor da concentração das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Ni, pela abordagem diferencial, obtidos a partir do percentil 50 de 16000 simulações.

Leitura	Dia de análise	Concentração (mg kg ⁻¹)											
		OSPAR						EPA					
		A	A _{II}	A _F	B	C	C _F	A	A _{II}	A _F	B	C	C _F
1	23-01-2017	8,9107	9,5805	53,3477	19,9958	7,7796	49,0349	12,4028	14,8900	55,5693	25,2182	15,1327	59,3064
2	10-02-2017	-	11,2174	56,9447	-	-	-	-	14,3898	60,8655	26,3432	16,8581	63,9715
3	20-02-2017	8,3935	8,3755	52,9823	-	-	-	11,1919	-	55,2949	22,4502	13,5850	-
4	24-02-2017	9,7748	9,4327	53,0412	19,7895	9,5102	51,9430	12,8577	13,0360	57,6447	-	14,5954	61,2878
5	07-03-2017	10,0137	9,3053	54,3372	18,2049	8,1132	51,7576	12,3688	12,7178	58,8762	24,6461	14,7887	61,8880
6	10-03-2017	8,9838	10,0988	54,1087	17,7797	8,1651	50,8136	12,7047	-	58,3869	23,9322	13,8467	61,0391
7	17-03-2017	10,4687	11,2849	55,2211	17,7132	-	54,0585	-	14,7303	-	28,6701	16,8303	-
8	21-03-2017	9,3238	9,3095	55,1373	18,3015	8,1553	53,3858	12,9989	12,6384	60,6704	24,6421	14,5343	63,1863
9	24-03-2017	-	11,2010	-	19,5159	9,8667	-	14,2764	14,4090	-	26,3973	16,4991	-
10	06-04-2017	8,6727	10,2678	54,1595	17,9864	-	-	11,5514	11,9856	60,1471	24,4474	-	-

Tabela A.15 – Valor da incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Ni, pela abordagem diferencial, obtidos a partir dos percentis 16 e 84 de 16000 simulações.

Leitura	Dia de análise	<i>u_{simples}</i> (mg kg ⁻¹)											
		OSPAR						EPA					
		A	A _{II}	A _F	B	C	C _F	A	A _{II}	A _F	B	C	C _F
1	23-01-2017	0,5263	0,5341	0,7405	0,5637	0,5281	0,7123	0,5378	0,5402	0,7557	0,5845	0,5480	0,7769
2	10-02-2017	-	0,6028	0,8552	-	-	-	-	0,6073	0,8957	0,6732	0,6174	0,9118
3	20-02-2017	0,6530	0,6412	0,8979	-	-	-	0,6674	-	0,9276	0,7103	0,6693	-
4	24-02-2017	0,9115	0,9086	1,2564	0,9562	0,9010	1,2466	0,9025	0,9290	1,2794	-	0,9369	1,3429
5	07-03-2017	1,2238	1,2170	1,7037	1,3028	1,2286	1,6617	1,2639	1,2561	1,7466	1,3558	1,2654	1,7992
6	10-03-2017	0,4114	0,4210	0,5770	0,4352	0,4136	0,5561	0,4220	-	0,5950	0,4576	0,4290	0,6047
7	17-03-2017	0,3314	0,3276	0,4664	0,3373	-	0,4570	-	0,3338	-	0,3677	0,3430	-
8	21-03-2017	0,3659	0,3714	0,5276	0,3933	0,3667	0,5239	0,3787	0,3801	0,5507	0,4104	0,3808	0,5605
9	24-03-2017	-	0,6103	-	0,6389	0,6455	-	0,6126	0,6152	-	0,6713	0,6304	-
10	06-04-2017	0,8602	0,8718	1,2238	0,9243	-	-	0,8735	0,8839	1,2647	0,9556	-	-

Tabela A.16 – Valor da concentração das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Pb, pela abordagem diferencial, obtidos a partir do percentil 50 de 16000 simulações.

Leitura	Dia de análise	Concentração (mg kg ⁻¹)									
		OSPAR					EPA				
		A	A _F	B	C	C _F	A	A _F	B	C	C _F
1	20-01-2017	10,5009	59,7947	48,5348	21,0567	66,6200	9,6770	59,3100	51,6758	27,8736	76,7626
2	10-02-2017	10,2623	57,8041	48,4323	21,5188	67,5416	10,8369	59,8190	53,5065	28,6338	74,0291
3	20-02-2017	9,4739	56,3500	45,3932	18,8687	63,1120	9,0019	53,9443	50,8671	23,9883	69,5763
4	24-02-2017	9,0182	55,7937	45,7617	20,3728	64,1690	9,3733	55,2797	55,7026	24,9994	71,5773
5	07-03-2017	9,8090	57,4146	45,6128	20,8371	64,3285	9,7865	57,2810	55,2077	26,4917	72,3035
6	10-03-2017	9,2942	62,2255	46,1673	19,5315	62,3140	9,8863	54,6324	52,5456	23,9153	69,5535
7	17-03-2017	8,2644	55,4248	47,7301	18,2969	63,8080	8,9017	58,3157	50,3270	24,4931	74,0945
8	21-03-2017	9,3251	55,5481	44,0699	20,8529	65,0871	10,7605	57,5296	50,9178	24,8904	71,9211
9	24-03-2017	9,9359	65,5313	46,2927	19,4006	70,1924	9,2760	60,2081	52,6083	25,6373	-
10	06-04-2017	8,5534	55,2821	42,6893	-	-	7,5730	54,7331	47,3596	-	-

Tabela A.17 – Valor da incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, das amostras utilizadas para estimar a incerteza de medição da determinação de Pb, pela abordagem diferencial, obtidos a partir dos percentis 16 e 84 de 16000 simulações.

Leitura	Dia de análise	<i>u_{simples}</i> (mg kg ⁻¹)									
		OSPAR					EPA				
		A	A _F	B	C	C _F	A	A _F	B	C	C _F
1	20-01-2017	0,5127	0,6455	0,5953	0,5258	0,6610	0,5153	0,6323	0,6060	0,5347	0,7024
2	10-02-2017	0,6068	0,7448	0,7172	0,6436	0,7864	0,6057	0,7695	0,7449	0,6461	0,8089
3	20-02-2017	0,5401	0,6690	0,6271	0,5599	0,6946	0,5350	0,6516	0,6498	0,5775	0,7137
4	24-02-2017	0,6968	0,8682	0,8135	0,7164	0,9124	0,7037	0,8637	0,8610	0,7477	0,9491
5	07-03-2017	0,8852	1,1146	1,0497	0,9268	1,1612	0,8761	1,1114	1,0995	0,9575	1,2103
6	10-03-2017	0,5747	0,7422	0,6735	0,5992	0,7353	0,5879	0,6925	0,6975	0,6111	0,7701
7	17-03-2017	0,4818	0,5878	0,5690	0,4958	0,6182	0,4820	0,5930	0,5771	0,5133	0,6504
8	21-03-2017	0,3042	0,3747	0,3537	0,3179	0,3982	0,3102	0,3800	0,3597	0,3236	0,4125
9	24-03-2017	0,5525	0,7024	0,6372	0,6097	0,7751	0,5512	0,6834	0,6610	0,5860	-
10	06-04-2017	0,4979	0,6083	0,5716	-	-	0,5068	0,6044	0,5859	-	-

Tabela A.18 – Valor da concentração e incerteza associada às etapas simples, sob a forma de desvio padrão, obtidos a partir do percentil 50, 16 e 84 de 16000 simulações, respetivamente, da análise do MRC para cada metal para testar a compatibilidade metrológica dos resultados estimados pela abordagem diferencial.

Metal	Leitura	OSPAR		EPA	
		Concentração (mg kg ⁻¹)	<i>u</i> _{simples}	Concentração (mg kg ⁻¹)	<i>u</i> _{simples}
As	4	22,4064	0,2691	19,2992	0,2451
Cd	4	1,8987	0,0602	1,9841	0,0616
Ni	6	45,8099	0,5424	52,4336	0,5651
Pb	5	63,8252	1,1611	70,2227	1,1980

Tabela A.19 – Valores de concentração das soluções padrão de controlo, obtidos a partir do percentil 50, para avaliar o desempenho do método das SMC na abordagem diferencial.

Metal	PC ₁	PC ₂
	(mg L ⁻¹ ou µg L ⁻¹)	
As	0,4567 [§]	2,8200 [§]
Cd	0,0057	0,0312
Ni	0,0806	0,4068
Pb	0,1040	0,50536