



NOVA

NOVA SCHOOL OF
SCIENCE & TECHNOLOGY

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

MARIANA INÊS VIEGAS PEREIRA

Licenciada em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

IMPLEMENTAÇÃO E VALIDAÇÃO DA ANÁLISE DE CLORETOS POR POTENCIOMETRIA INDIRETA

MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA E BIOQUÍMICA

Universidade NOVA de Lisboa
Novembro, 2021

IMPLEMENTAÇÃO E VALIDAÇÃO DA ANÁLISE DE CLORETOS POR POTENCIOMETRIA INDIRECTA

MARIANA INÊS VIEGAS PEREIRA

Licenciada em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Mário Fernando José Eusébio,
Professor Auxiliar,
Nova School of science & technology

Coorientador: Doutora Rosário Coelho,
Coordenadora de Laboratório,
Águas do Algarve S.A.

Júri:

Presidente: Rui Manuel Freitas Oliveira,
Professor Associado com Agregação,
Nova School of science & technology

Arguente: Maria Madalena Alves Campos de Sousa Dionísio
Andrade,
Professora Associada com Agregação,
Nova School of science & technology

Vogal: Mário Fernando José Eusébio,
Professor Auxiliar,
Nova School of science & technology

MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA E BIOQUÍMICA

Universidade NOVA de Lisboa
Novembro, 2021

Implementação e Validação da Análise de Cloretos por Potenciometria Indireta

Copyright © [Mariana Inês Viegas Pereira], Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar por agradecer à Raquel Freitas, pela ajuda e confiança nas minhas capacidades para a realização do estágio, assim como ao orientador, Mário Eusébio, que teve um papel fundamental, no decorrer deste trabalho.

À doutora Rosário Coelho, pela possibilidade de terminar o meu percurso académico no laboratório das Águas do Algarve, bem como a disponibilidade para apoiar e aconselhar.

Agradeço também, a todos os membros que integram a equipa do laboratório de qualidade, pela integração no quotidiano e pela partilha de experiências e conhecimentos. Em particular ao Gustavo, pela sua contribuição neste trabalho.

Às minhas amigas da faculdade, Ana, Joana e Laura, obrigada por todos os momentos alegres e tristes, ao longo deste percurso académico.

A ti Pedro, pelo apoio e por seres quem és.

Aos meus tios e primos, em especial à Ana e Jorge, por toda a ajuda.

E por último, mas não menos importante, um especial agradecimento aos meus pais, que sem vocês nada disto seria possível.

“Sábio é quem se contenta com o espetáculo do mundo”

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Este trabalho, decorreu na unidade laboratorial do sotavento das Águas do Algarve, e teve como objetivo a implementação e validação do método de potenciometria indireta, para a quantificação de cloretos em águas naturais subterrâneas, superficiais e residuais. O cloreto, quando presente em elevadas concentrações, conduz ao aumento da taxa de corrosão das tubagens e equipamentos de metal, confere à água de consumo sabor e pode inibir o crescimento de vegetação, quando utilizada para rega. Os cloretos, são interferentes no método de quantificação da carência química de oxigénio bem como noutros métodos analíticos.

Foi realizada o desenvolvimento dos parâmetros do método, nomeadamente a titulação dinâmica com a adição de incrementos de titulante, a resposta do elétrodo através da testagem do tempo mínimo e máximo de estabilização assim como, o critério de estabilidade após a adição do incremento, e a velocidade de agitação da amostra. Conclui-se, que as melhores condições de operação, seriam incrementos de 1mL antes de ser atingido do ponto de equivalência e 0,1mL na área do mesmo. O tempo mínimo e máximo de estabilização definidos foram de 5 e 20 segundos, respetivamente, e o critério de estabilidade implementado foi de 10mV/min. A velocidade de agitação, que melhor homogeneizava a amostra foi de 25%.

A linearidade foi comprovada através dos testes de *Mandel* e *Rikilt*, assim como com testes aos resíduos; e onde foi obtido um coeficiente de determinação superior a 0,9990. Os limites analíticos, obtidos foram 3,52 mg/L para o limite de deteção e 4,74mg/L para o limite de quantificação. Em relação, aos ensaios de precisão, foi testada a repetibilidade, onde o coeficiente de variação foi inferior a 0,4%, e a precisão intermédia, onde o coeficiente de variação foi inferior a 1%. Na exatidão, foram realizados ensaios de recuperação, com matrizes de águas residuais e naturais subterrâneas, e ensaios com um material de referência certificado, com matriz de água de consumo. Para estes, foram alcançadas recuperações médias entre 92% e 101,6%. Foi também avaliada a robustez do método, onde se concluiu que o método não é robusto para variações no volume de amostra.

O método em questão, foi comparado com a cromatografia iónica, um método de referência do laboratório, mostrando que os resultados não apresentam diferenças significativas, para um nível de confiança de 99%.

Em termos de incerteza, foram obtidos valores inferiores a 15% do valor paramétrico.

Palavras-chave: Cloretos; Água residual; Potenciometria Indireta; Validação; Incerteza.

ABSTRACT

This work took place in the laboratory unit of Águas do Algarve and the main goal was to implement and validate the method of indirect potentiometry, for the quantification of chlorides in natural underground water, surface water and wastewaters. Chloride, when present in high concentrations, leads to an increase in the corrosion rate of metal pipes and equipment, giving taste to drinking water and can inhibit the growth of vegetation when used for irrigation. Chlorides, interfere in the chemical oxygen demand quantification method, as well as in other analytical methods.

The development of the method was performed by testing several parameters. Particularly the dynamic titration with the addition of titrant increments, the electrode response through the minimum and maximum stabilization time testing, as well as the stability criterion after the addition of the increment, and the speed of agitation of the sample. In conclusion, the optimal operating conditions would be increments of 1mL before reaching the equivalence point and 0.1mL in its area. The defined minimum and maximum stabilization time were 5 and 20 seconds, respectively, and the stability criterion implemented was 10mV/min. The stirring speed, which best homogenized the sample, was 25%.

Linearity was proven through Mandel and Rikilt tests, as well as residual tests; where coefficients of determination greater than 0.9990 were obtained. The detection limits obtained were 3.52 mg/L and the quantification limits were 4,74 mg/L. Regarding precision tests, repeatability was tested, where the coefficient of variation was less than 0.4%, and intermediate precision, where the coefficient of variation was less than 1%. In terms of accuracy, recovery tests, were carried out, with matrices of wastewater and natural underground water, and tests with a certified reference material, with a matrix of drinking water. Average recoveries between 92% and 101.6% were achieved. The robustness of the method was also evaluated, where it was concluded that the method is not robust to variations in sample volume.

The method in question was compared with ion chromatography, a laboratory reference method, showing that the results do not reveal significant differences, at a confidence level of 99%.

In terms of uncertainty, values lower than 15% of the parametric value were obtained.

Keywords: Chlorides; Wastewater; Indirect Potentiometry; Validation; Uncertainty.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. ENQUADRAMENTO E MOTIVAÇÃO.....	1
1.2. ÁGUAS DO ALGARVE SA.....	3
2. CONTEÚDOS TEÓRICOS.....	4
2.1. CLORETOS.....	4
2.1.1. <i>Legislação</i>	5
2.1.2. <i>Métodos para a determinação de Cloretos</i>	5
2.2. POTENCIOMETRIA.....	7
2.2.1. <i>Eléttodos de Referência</i>	7
2.2.2. <i>Potencial de Junção Líquida</i>	10
2.2.3. <i>Eléttodos Indicadores</i>	12
2.2.4. <i>Titulação Potenciométrica (Potenciometria Indireta)</i>	14
2.2.4.1. <i>Deteção do Ponto Final</i>	15
2.2.4.2. <i>Titulação potenciométrica de cloretos</i>	16
2.3. CROMATOGRAFIA IÓNICA.....	17
2.3.1. <i>Fluxograma de instrumentação</i>	18
2.4. VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE TITULAÇÃO POTENCIOMETRICA.....	20
2.4.1. <i>Especificidade</i>	21
2.4.2. <i>Seletividade</i>	21
2.4.3. <i>Linearidade</i>	21
2.4.4. <i>Homocedasticidade da resposta instrumental</i>	23
2.4.5. <i>Limiares Analíticos</i>	23
2.4.5.1. <i>Limite de deteção</i>	23
2.4.5.2. <i>Limite de quantificação</i>	24
2.4.6. <i>Precisão</i>	25
2.4.6.1. <i>Repetibilidade</i>	26
2.4.6.2. <i>Precisão Intermédia</i>	27
2.4.6.3. <i>Reprodutibilidade</i>	27
2.4.7. <i>Exatidão</i>	27
2.4.7.1. <i>Materiais de Referência Certificados</i>	28
2.4.7.2. <i>Ensaio de Recuperação</i>	28
2.4.7.3. <i>Comparação de métodos</i>	29
2.4.8. <i>Robustez</i>	30
2.5. INCERTEZA NA MEDIÇÃO.....	30
2.5.1. <i>Abordagens para a estimativa da incerteza de medição</i>	31
2.5.2. QUANTIFICAÇÃO DA INCERTEZA.....	32
2.5.3. <i>Abordagem "passo-a-passo" baseada nos dados de validação</i>	33
2.5.3.1. <i>Incerteza associada à preparação de uma solução padrão</i>	34
2.5.3.2. <i>Incerteza associada à diluição de uma solução</i>	36
2.5.3.3. <i>Incerteza associada à precisão</i>	36
2.5.3.4. <i>Incerteza associada à exatidão</i>	37
2.5.4. <i>Incerteza padrão combinada</i>	38
2.5.5. <i>Incerteza expandida, U</i>	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
3.1. EQUIPAMENTO E MATERIAIS.....	39
3.2. REAGENTES.....	40
3.3. MATRIZES ESTUDADAS.....	41
3.4. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES.....	41
3.4.1. <i>Preparação das soluções padrão</i>	42
3.4.2. <i>Preparação da solução padrão de calibração de titulante</i>	43
3.5. PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE CLORETOS.....	43
3.6. METODOLOGIA PARA A OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO.....	45

3.6.1.	<i>Titulação dinâmica</i>	45
3.6.2.	<i>Velocidade de Agitação</i>	45
3.6.3.	<i>Comportamento da resposta do eletrodo</i>	45
3.7.	METODOLOGIA PARA A VALIDAÇÃO	46
3.7.1.	<i>Seletividade</i>	46
3.7.2.	<i>Linearidade</i>	46
3.7.3.	<i>Limites analíticos</i>	46
3.7.4.	<i>Precisão</i>	46
3.7.5.	<i>Exatidão</i>	47
3.7.6.	<i>Robustez</i>	48
3.7.7.	<i>Incertezas</i>	49
3.8.	CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	49
4.	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS	51
4.1.	DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO	51
4.1.1.	<i>Titulação dinâmica</i>	51
4.1.2.	<i>Velocidade de Agitação</i>	52
4.1.3.	<i>Comportamento da resposta do eletrodo</i>	53
4.2.	VALIDAÇÃO DO MÉTODO	56
4.2.1.	<i>Linearidade</i>	56
4.2.2.	<i>Limites Analíticos</i>	59
4.2.2.1.	Limite de detecção e Limite de quantificação	59
4.2.3.	<i>Precisão</i>	62
4.2.3.1.	Repetibilidade	62
4.2.3.2.	Precisão Intermédia.....	63
4.2.4.	<i>Exatidão/Seletividade</i>	65
4.2.4.1.	Material de Referência Certificado	65
4.2.4.2.	Ensaio de Recuperação	66
4.2.4.3.	Comparação de métodos.....	70
4.2.5.	<i>Robustez</i>	72
4.3.	INCERTEZA ASSOCIADA AO RESULTADO	74
4.3.1.	<i>Especificação da mensuranda</i>	74
4.3.2.	<i>Identificação das fontes de incerteza</i>	75
4.3.3.	<i>Quantificação da incerteza</i>	77
4.3.3.1.	Incerteza associada à concentração de AgNO ₃	77
4.3.4.	<i>Incerteza Combinada</i>	86
4.3.5.	<i>Incerteza expandida</i>	88
5.	CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS	89
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
	APÊNDICE A- TESTE DE MANDEL	96
	APÊNDICE B- TESTE DE RIKILT	97
	APÊNDICE C- TESTE DA HOMOGENEIDADE DE VARIÂNCIAS	98
	APÊNDICE D- TESTE T DAS AMOSTRAS EMPARELHADAS	99
	APÊNDICE E- TESTE DE GRUBBS	100
	APÊNDICE F- ANÁLISE AOS RESÍDUOS	101
	APÊNDICE G- TESTE À NORMALIDADE DOS RESULTADOS EXPERIMENTAIS DE REPETIBILIDADE	115
	ANEXO I- CERTIFICADO DO MRC	118

Índice de Tabelas

Tabela 2.1-Solubilidades de diferentes sais de cloretos ⁴⁻⁶	4
Tabela 2.2-Diretrizes para a concentração de cloretos permitida na água para consumo e residual	5
Tabela 2.3-Quadro comparativo de métodos analíticos ¹⁰	6
Tabela 2.4-Tipos de diafragmas	11
Tabela 2.5-Produtos de solubilidade de três haletos de prata ¹⁵	17
Tabela 2.6-Parâmetros considerados para a validação de um método consoante o guia de validação de cada organização	20
Tabela 2.7-Cálculo das incertezas padrão, a partir das funções de distribuição mais importantes (Fonte: Adaptado de ⁵⁰).....	33
Tabela 3.1-Equipamento utilizado para a determinação.....	39
Tabela 3.2-Materiais necessários para a determinação e validação do método potenciométrico-Parte1	39
Tabela 3.3-Materiais necessários para a determinação e validação do método potenciométrico-Parte 2	40
Tabela 3.4- Material integrante do cromatografo.....	40
Tabela 3.5-Reagentes utilizados e as suas respectivas propriedades - Parte 1	40
Tabela 3.6-Reagentes utilizados e as suas respectivas propriedades - Parte 2	41
Tabela 3.7-Concentrações dos padrões de trabalho e respetivo volume de preparação a partir do padrão de 1000mgCl/L	42
Tabela 3.8-Incrementos utilizados na otimização da titulação dinâmica	45
Tabela 3.9-Parâmetros para a medição de potencial.....	45
Tabela 3.10-Fatores escolhidos para a análise da robustez.....	48
Tabela 3.11-Planeamento das experiências de robustez.....	48
Tabela 3.12-Condições de operação definidas no titulador automático para a titulação de cloretos numa amostra	49
Tabela 3.13-Condições de operação definidas no titulador automático para a calibração do titulante.....	50
Tabela 4.1-Parâmetros da regressão linear obtidos nos 10 ensaios	56
Tabela 4.2-Média, Coeficientes de variação (%) e erro relativo (%) para a gama de concentração de 71 a 355 mg Cl /L.....	58
Tabela 4.3-Resultados do teste de linearidade de <i>Mandel</i> para as 10 curvas	58
Tabela 4.4-Resultados da aplicação do teste F, para as concentrações 71 e 355 mg Cl /L	59
Tabela 4.5-Limiars analíticos através do método dos padrões vestigiais e dos brancos	61
Tabela 4.6-Limiars analíticos através do desvio padrão residual da curva de trabalho.....	61
Tabela 4.7-Quadro resumo dos limiars analíticos	62
Tabela 4.8-Resultados dos ensaios de repetibilidade para os cinco padrões da curva.....	63
Tabela 4.9-Resultados obtidos para a precisão, em condições de precisão intermédia.....	64
Tabela 4.10-Resultados do teste de Grubbs.....	64
Tabela 4.11-Resultados obtidos para os ensaio com MRC, para matriz de água de consumo	65
Tabela 4.12-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de efluente tratado	166
Tabela 4.13-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de efluente tratado	267
Tabela 4.14-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de afluente bruto 1 ..	68
Tabela 4.15-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de afluente bruto 2 ..	69
Tabela 4.16-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de água de captação subterrânea.....	69
Tabela 4.17-Comparação entre o método potenciométrico e o método de cromatografia iónica	71

Tabela 4.18-Resultados dos ensaios de robustez para o método de titulação potenciométrica	72
Tabela 4.19-Resultados para o cálculo dos efeitos de cada fator	72
Tabela 4.20-Resultados para o teste de significância para avaliação da robustez	73
Tabela 4.21-Incerteza padrão relativa associada à pesagem.....	77
Tabela 4.22-Incerteza padrão relativa associada à pureza de NaCl	77
Tabela 4.23-Incertezas padrão associadas às massas moleculares dos elementos	78
Tabela 4.24-Incerteza padrão relativa associada à massa molar de NaCl	78
Tabela 4.25-Incerteza padrão relativa associada ao volume de P.C. preparado.....	78
Tabela 4.26-Incerteza padrão associada à concentração do padrão de calibração mãe.....	79
Tabela 4.27- Incerteza padrão relativa associada ao volume de padrão de calibração para a aferição do AgNO ₃	79
Tabela 4.28-Incerteza padrão relativa associada ao volume de titulante gasto na calibração.	80
Tabela 4.29-Incerteza padrão relativa associada à calibração de AgNO ₃	80
Tabela 4.30-Incerteza padrão relativa associada à solução mãe de AgNO ₃	80
Tabela 4.31-Incerteza padrão relativa associada ao volume pipetado de solução mãe de AgNO ₃	81
Tabela 4.32-Incerteza padrão relativa associada ao volume final preparado de AgNO ₃	81
Tabela 4.33-Incerteza padrão relativa associada à diluição da solução mãe de AgNO ₃	81
Tabela 4.34-Resumo das incertezas padrão relativas associadas à concentração de AgNO ₃ ..	81
Tabela 4.35-Incerteza padrão relativa associada ao volume de amostra	82
Tabela 4.36-Incerteza padrão relativa associada ao volume gasto de AgNO ₃ na titulação	82
Tabela 4.37-Incerteza padrão relativa associada à massa molar do Cl ⁻	82
Tabela 4.38-Resultados associados aos ensaios de nove amostras (n=5).....	83
Tabela 4.39-Incerteza padrão relativa associada à precisão, a partir de replicados de amostras	83
Tabela 4.40-Resultados obtidos para as concentrações 71, 213, 355 mg Cl ⁻ /L, obtidas em condições de precisão intermédia, e incertezas padrão relativas respetivas	84
Tabela 4.41-Incerteza padrão relativa associada a cada concentração	84
Tabela 4.42-Resultados para as recuperações com uma fortificação de 50mg Cl ⁻ /L.....	85
Tabela 4.43-Incerteza padrão relativa associada à exatidão	85
Tabela 4.44-Incertezas padrão relativas associadas ao método de potenciometria indireta para a deteção de cloretos.....	86
Tabela 4.45-Incertezas combinadas para os limiares e meio dos padrões de trabalho.....	87
Tabela 4.46-Incerteza expandida	88
Tabela F.1 Resultados dos ensaios para a curva 1, valores de Y previsto e resíduos	101
Tabela F.2-Resultados dos ensaios para a curva 2, valores de Y previsto e resíduos	102
Tabela F.3-Resultados dos ensaios para a curva 3, valores de Y previsto e resíduos	104
Tabela F.4-Resultados dos ensaios para a curva 4, valores de Y previsto e resíduos	105
Tabela F.5-Resultados dos ensaios para a curva 5, valores de Y previsto e resíduos	106
Tabela F.6-Resultados dos ensaios para a curva 6, valores de Y previsto e resíduos	108
Tabela F.7-Resultados dos ensaios para a curva 7, valores de Y previsto e resíduos	109
Tabela F.8-Resultados dos ensaios para a curva 8, valores de Y previsto e resíduos	111
Tabela F.9-Resultados dos ensaios para a curva 9, valores de Y previsto e resíduos	112
Tabela F.10-Resultados dos ensaios para a curva 10, valores de Y previsto e resíduos	113
Tabela G.1- Resultados para a concentração de 71 mg Cl ⁻ /L obtidos nos ensaios de repetibilidade.....	115
Tabela G.2- Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 71 mgCl ⁻ /L.....	115
Tabela G.3-Resultados para a concentração de 142 mg Cl ⁻ /L obtidos nos ensaios de repetibilidade.....	115
Tabela G.4-Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 142 mgCl ⁻ /L	116
Tabela G.5-Resultados para a concentração de 213 mg Cl ⁻ /L obtidos nos ensaios de repetibilidade.....	116
Tabela G.6-Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 213 mgCl ⁻ /L	116

Tabela G.7-Resultados para a concentração de 284 mg Cl ⁻ /L obtidos nos ensaios de repetibilidade.....	116
Tabela G.8-Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 284 mgCl ⁻ /L	116
Tabela G.9-Resultados para a concentração de 355 mg Cl ⁻ /L obtidos nos ensaios de repetibilidade.....	117
Tabela G.10-Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 355 mgCl ⁻ /L	117

Índice de Figuras

Figura 1.1- (a) Progresso do nível de cobertura do saneamento e tratamento de águas residuais em Portugal, nos anos de 2002 a 2013; Progresso do nível de cobertura do serviço de abastecimento de água potável em Portugal, nos anos de 2002 a 2013; Adaptado de 1	1
Figura 1.2-Evolução da proporção da água de abastecimento controlada e segura para consumo. Adaptado de 1	2
Figura 2.1-Circuito para a medição de diferença de potencial dos elétrodos;(a) Circuito incompleto; (b) Circuito completo.....	8
Figura 2. 2-Tipos de elétrodos de referência	8
Figura 2.3-Funcionamento de uma junção líquida num eléctrodo	10
Figura 2.4-Tipos de elétrodos indicadores	12
Figura 2.5- Métodos gráficos para a avaliação do ponto final de uma titulação. (a) Potencial vs Volume gasto de titulante; (b) Taxa de variação (primeira derivada) do potencial por unidade de titulante gasto vs Volume gasto de titulante; (c) Segunda derivada da curva de titulação.	15
Figura 2.6-Exemplo de uma curva de titulação potenciométrica de cloretos (Adaptado de: Chlorides in Water: Based on the standard ISO 9297:2000).....	16
Figura 2.7-Esquema de operação do método cromatográfico com supressão.....	18
Figura 2.8-Funcionamento de uma coluna de troca aniónica.....	19
Figura 2.9.Cromatograma para espécies aniónicas (Adaptado de ²³).....	20
Figura 2.10-Resumo do procedimento para a estimativa da incerteza de um método	31
Figura 3.1- Montagem do titulador automático conectado ao amostrador.....	43
Figura 3.2- Eléctrodo combinado de prata com pino poroso utilizado nas medições.....	44
Figura 3.3-Exemplo de um gráfico de titulação com a respetiva derivada	44
Figura 4.1-Resultados do desenvolvimento do método para diferentes incrementos	51
Figura 4.2-Resultados do desenvolvimento do método para diferentes incrementos	52
Figura 4.3-Resultados da influência da agitação na concentração obtida	53
Figura 4.4- Curva de titulação para uma velocidade de agitação de 40%	53
Figura 4.5- Resultados para os diferentes critérios de estabilização da medição.....	54
Figura 4.6-Exemplo de curva de titulação exata para 71 mgCl ⁻ /L	54
Figura 4.7-Exemplo de curva de titulação média para 71 mgCl ⁻ /L	55
Figura 4.8-Exemplo de curva de titulação rápida para 71 mgCl ⁻ /L.....	55
Figura 4.9-Exemplo de curva de titulação exata para 355 mgCl ⁻ /L	55
Figura 4.10-Exemplo de curva de titulação média para 355 mgCl ⁻ /L	55
Figura 4.11-Exemplo de curva de titulação rápida para 355 mgCl ⁻ /L.....	56
Figura 4.12-Curva de trabalho n ^o 1.....	57
Figura 4.13-Curva de trabalho n ^o 10.....	57
Figura 4.14-Representação gráfica dos resultados do teste de Rikilt para as 10 curvas.....	59
Figura 4.15-Ensaio de branco (n=45)	60
Figura 4.16-Concentração de padrões vestigiais em função do respetivo coeficiente de variação	60
Figura 4.17-Concentrações de padrões vestigiais em função do erro relativo.....	60
Figura 4. 18.Exemplo de curva de titulação de uma amostra com matriz de água residual bruta com interferente	70
Figura 4.19-Esquema do procedimento para a determinação de cloretos.....	75
Figura 4.20-Diagrama de causa efeito para o método de potenciometria indireta	76
Figura 4.21-Contribuições de cada incerteza padrão relativa para a incerteza do método	87
Figura F.1- Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 1	101

Figura F.2- Gráfico da probabilidade normal da curva 1.....	102
Figura F.3. Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 1	102
Figura F.4-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 2	103
Figura F.5-Gráfico da probabilidade normal da curva 2.....	103
Figura F.6-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 2	103
Figura F.7-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 3	104
Figura F.8-Gráfico da probabilidade normal da curva 3.....	104
Figura F.9-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 3	105
Figura F.10-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 4	105
Figura F.11-Gráfico da probabilidade normal da curva 4.....	106
Figura F.12-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 4	106
Figura F.13-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 5	107
Figura F.14-Gráfico da probabilidade normal da curva 5.....	107
Figura F.15-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 5	107
Figura F.16-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 6	108
Figura F.17-Gráfico da probabilidade normal da curva 6.....	108
Figura F.18-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 6	109
Figura F.19-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 7	110
Figura F.20-Gráfico da probabilidade normal da curva 7.....	110
Figura F.21-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 7	110
Figura F.22-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 8	111
Figura F.23-Gráfico da probabilidade normal da curva 8.....	111
Figura F.24-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 8	112
Figura F.25-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 9	112
Figura F.26-Gráfico da probabilidade normal da curva 9.....	113
Figura F.27-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 9	113
Figura F.28-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 10	114
Figura F.29-Gráfico da probabilidade normal da curva 10.....	114
Figura F.30-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 10	114
Figura I. 1 Certificado do MRC utilizado	118

Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

AdP	Águas de Portugal
AOAC	Associação oficial de químicos analistas
CI	Cromatografia iónica
CQO	Carência Química de oxigénio
DL	Decreto de lei
ERSAR	Entidade reguladora dos serviços de águas e resíduos
ETA	Estação de tratamento de águas
ETAR	Estação de tratamento de águas residuais
IPAC	Instituto Português de Acreditação
ISO	Organização Internacional de Normalização
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LD	Limite de deteção
LQ	Limite de quantificação
MRC	Material de Referência Certificado
NP	Norma portuguesa
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEAASAR	Plano estratégico de abastecimento de água e de saneamento de águas residuais
PTFE	Politetrafluoretileno
SHE	<i>Standard Hydrogen electrode</i>
VIM	Vocabulário internacional de metrologia
US EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

Simbologia

E_{cel}	Potencial da célula
E_{ind}	Potencial eletrodo indicador
E_{ref}	Potencial eletrodo de referênci
E_j	Potencial de junção líquida
E^0	Potencial Padrão do eletrodo
a	Atividade dos iões
γ_x	Coefficiente de atividade da espécie X
C_{Cl^-}	Concentração de cloretos
C_{AgNO_3}	Concentração de nitrato de prata
V_{AgNO_3}	Volume de nitrato de prata gasto
$V_{amostra}$	Volume de amostra
Sy/b	Desvio padrão residual da curva de trabalho
r	Coefficiente de correlação
r^2	Coefficiente de determinação
LD	Limite de deteção
LQ	Limite de quantificação
k	Fator de expansão
cv	Coefficiente de variação
Z	Z-score
U	Incerteza expandida

1. INTRODUÇÃO

1.1. Enquadramento e Motivação

A água, é um recurso natural, transversal a todas as formas de vida. Ao longo dos anos, a indústria da água em Portugal, tem-se reinventado no sentido de desenvolver técnicas que permitam o tratamento e controlo eficaz, das mais variadas matrizes, mais especificamente de águas de consumo humano e águas residuais.

Nas figuras 1.1 (a) e (b), está representada a evolução verificada em Portugal, nos anos de 2002 a 2013, tanto no tratamento de águas residuais como águas de consumo, tendo-se observado um crescimento bastante promissor, comparativamente ao objetivo definido pelo plano estratégico de abastecimento de água e de saneamento de águas residuais (PEAASAR).

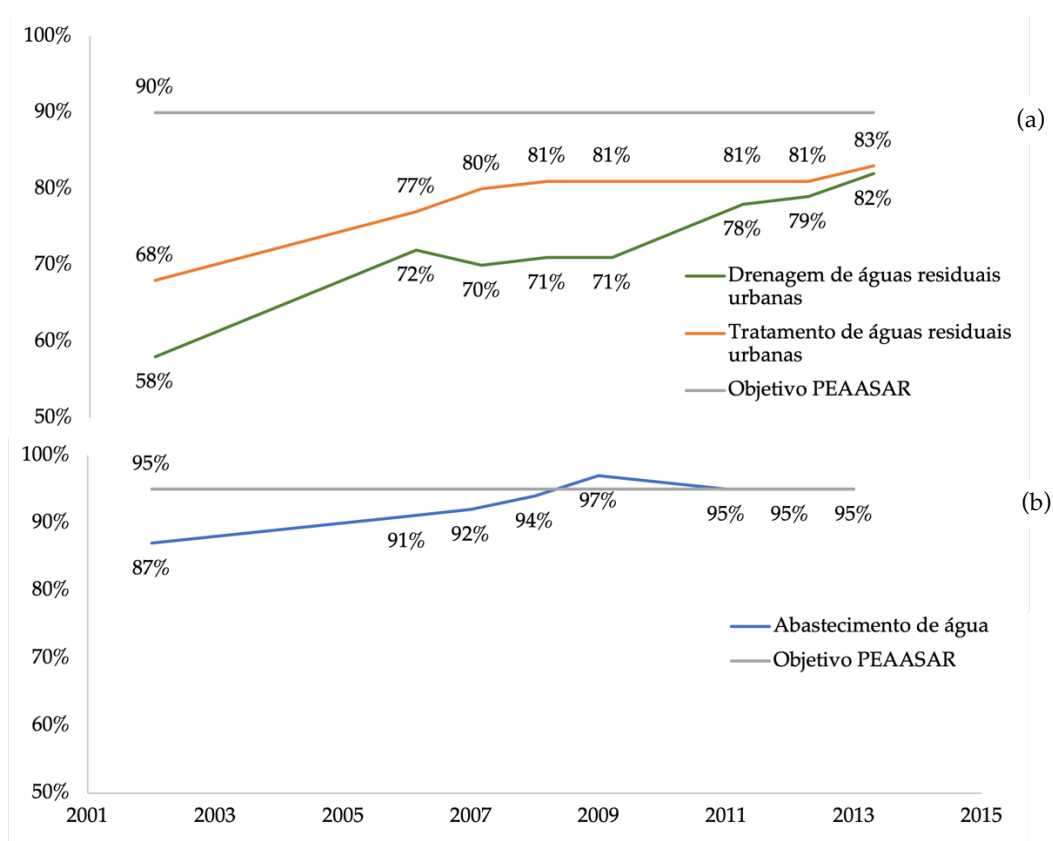


Figura 1.1- (a) Progresso do nível de cobertura do saneamento e tratamento de águas residuais em Portugal, nos anos de 2002 a 2013; (b) Progresso do nível de cobertura do serviço de abastecimento de água potável em Portugal, nos anos de 2002 a 2013; Adaptado de 1

Em Portugal, o principal órgão responsável pela regulamentação das infraestruturas ligadas às águas, é a entidade reguladora dos serviços de águas e resíduos, ERSAR. Esta, tem como principal objetivo a proteção dos interesses dos utilizadores através da fiscalização e normalização da qualidade do serviço, prestado pelas entidades gestoras. A ERSAR atua no controlo da fiabilidade dos resultados laboratoriais em articulação

com o Instituto português da acreditação (IPAC), e na fiscalização das entidades gestoras de modo a verificar se a legislação é cumprida².

Todo o rigor que se verifica neste setor, faz com que a qualidade da água seja excepcional, como se verifica na figura 1.2, pela evolução da água de abastecimento, cuja qualidade é controlada, atingindo em 2005 a marca dos 90% até aos dias de hoje.

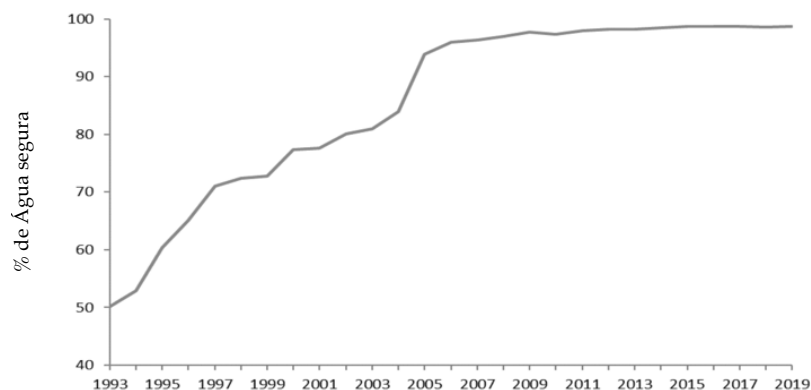


Figura 1.2-Evolução da água de abastecimento controlada e segura para consumo. Adaptado de ¹

Inúmeras decisões críticas, no processo de tratamento, são fundamentadas com base, em resultados de análises químicas quantitativas, efetuadas pelo laboratório de controlo de qualidade. Estas análises, são conjuntos de procedimentos escolhidos e implementados de forma a detetar, de uma forma seletiva, precisa e exata, um determinado analito, em matrizes de águas. Os resultados obtidos, não dependem apenas do método em si, mas também de vários fatores extrínsecos como a amostragem, medições por operações instrumentais, registo e tratamento de dados³.

Dito isto, é imposto por lei, DL 152/2017, a análise, por parte dos laboratórios, de certos parâmetros químicos e biológicos, para efeitos de verificação da conformidade da qualidade da água.

Um dos parâmetros, por estes analisado, são os cloretos. Este anião, está presente em águas, proveniente das atividades humanas, económicas através da indústria e atividade agrícola, e ainda por intrusão salina, que contribui para elevados níveis de cloretos.

O método para a deteção de cloretos implementado no laboratório de controlo de qualidade das Águas do Algarve, em Tavira, é a cromatografia iónica. No entanto, por ser um procedimento complexo e não proveitoso das totais capacidades do equipamento, dado que a gama de trabalho é ínfima (1,40 mgCl⁻/L a 7 mgCl⁻/L), o laboratório pretende alterar a análise de cloretos, em matrizes de águas residuais, para o método potenciométrico.

O presente trabalho, insere-se no âmbito da validação do método de potenciometria indireta, de modo, a avaliar se o método a implementar é seletivo, preciso, exato e robusto para a deteção de cloretos, em matrizes de águas residuais e naturais.

1.2. Águas do Algarve SA

A empresa Águas do Algarve SA, pertencente ao grupo AdP – Águas de Portugal, foi criada em Agosto de 2000, como resultado da união das empresas Águas do Barlavento Algarvio SA e Águas do Sotavento Algarvio SA. Ficando responsável, pela exploração dos sistemas multimunicipais de abastecimento de água e de saneamento do Algarve, abrangendo 16 concelhos da região, e prestando cerca de 450 mil habitantes na época baixa e perto de milhão e meio na época alta.

A empresa tem como objetivo principal assegurar tanto a distribuição de água potável como o seu tratamento, de acordo com as leis impostas, nomeadamente o decreto de lei nº 157/2017.

O sistema multimunicipal de abastecimento de água do Algarve é constituído por inúmeras infraestruturas, nomeadamente: (i) 24 captações de água subterrânea, localizadas em Vale da Vila e Benaciate, e 4 captações de água superficial, localizadas nas barragens de Odeleite, Bravura, Beliche e albufeira de Odelouca; (ii) 4 estações de tratamento de águas localizadas em Alcantarilha, Beliche, Fontainhas e Tavira, sendo a última o local de desenvolvimento do presente trabalho.

As estações de tratamento de águas de Alcantarilha e de Tavira possuem um laboratório de controlo de qualidade da água, onde são analisadas águas, provenientes de origem subterrânea, superficial, adução, residual e processadas nas ETAs.

Entre estas duas instalações, os laboratórios estão acreditados pela norma NP EN ISO/IEC 17025, para cerca de 187 determinações analíticas, tanto nas áreas técnicas da físico-química como microbiologia e biologia, assegurando, não só que todas as análises efetuadas cumprem os parâmetros impostos pela legislação em vigor, mas também que estão a ser empregues os tratamentos adequados para o seu cumprimento.

2. CONTEÚDOS TEÓRICOS

2.1. Cloretos

Com o estabelecimento de redes de abastecimento multimunicipais e de saneamento, tornou-se imprescindível, por uma questão de saúde pública, a avaliação da qualidade das águas que chegam ao consumidor e ao meio ambiente. Por esta razão, diariamente são efetuadas diversas análises para a detecção de compostos e aniões que de alguma maneira, coloquem em risco a qualidade da água distribuída.

Os cloretos, com a fórmula química de Cl^- , são um dos aniões estudados pelos laboratórios. Estes pertencem a um dos principais grupos de aniões inorgânicos, presentes na água e na água residual, encontrando-se, geralmente, distribuídos na natureza na forma de cloreto de sódio, potássio e cálcio.

O teor de cloretos, nas águas naturais é afetado por inúmeros fatores, tais como: (i) a natureza dos terrenos; (ii) a possível contaminação por efluentes industriais e urbanos; e (iii) a intrusão salina nos lençóis freáticos⁴.

É de grande importância, o controle deste nas águas, uma vez que em concentrações excessivas, dá-se um aumento da velocidade de corrosão dos materiais metálicos que compõem o sistema de abastecimento. Dependendo das características da água, nomeadamente a alcalinidade, o pH e a temperatura, esta degradação pode conduzir a um aumento de partículas metálicas na água distribuída⁴.

No âmbito da saúde, não existe nenhuma evidência que a ingestão de cloretos seja prejudicial para os seres humanos, excetuando doentes renais e cardiovasculares em que o consumo de cloreto de sódio, por exemplo, é restringido. Adicionalmente, concentrações acima de 250 mg/L de cloretos associados a catiões como sódio, cálcio e potássio, podem originar um sabor detetável na água³.

Na tabela 2.1, estão representadas as diferentes solubilidades para estes sais.

Tabela 2.1-Solubilidades de diferentes sais de cloretos⁴⁻⁶

Sal	Solubilidade (g/100g) (25 °C)
Cloreto de Cálcio	81,3
Cloreto de Potássio	35,5
Cloreto de Sódio	36,0

Para o laboratório, a presença de cloretos pode também afetar algumas análises por este efetuadas, nomeadamente, a carência química de oxigénio (CQO) e a determinação de nutrientes (amónia, nitratos, nitritos, fósforo e azoto). O CQO, ocorre na presença de um catalisador de sulfato de prata, que otimiza a oxidação de compostos alifáticos, e com o qual os cloretos reagem inibindo completamente a sua atividade e consequentemente, comprometendo os resultados do método^{7,8}.

A literatura, aponta interferências severas para concentrações superiores 2000 mg Cl^-/L ⁷.

2.1.1. Legislação

Em Portugal, de acordo, com o Decreto-Lei nº 157/2017 de 7 de Dezembro, o valor limite, permitido por lei, para o teor de cloretos nas águas destinadas a consumo humano é de 250 mg Cl⁻/L.

Por outro lado, a Organização Mundial da Saúde (OMS), na 4ª edição das diretrizes para a qualidade da água para consumo humano, não define nenhum valor guia para este anião, pelo facto de não representar risco para a saúde nos níveis encontrados na água potável. No entanto, refere a alteração detetável no sabor da água, a concentrações superiores a 250 mg Cl⁻/L.

Em relação, às águas residuais não é definido nenhum valor paramétrico para o seu controlo. No entanto, para águas utilizadas na rega agrícola, o valor limite imposto em Portugal é de 70 mg Cl⁻/L.

A tabela 2.2, compara as diretrizes e recomendações, aplicadas pelos decretos de lei em Portugal e pela organização mundial da saúde.

Tabela 2.2-Diretrizes para a concentração de cloretos permitida na água para consumo e residual

Anião	Matriz	Valor Guia (mg Cl ⁻ /L) OMS	Valor Paramétrico (mg Cl ⁻ /L) DL 157/2017
	Água para consumo humano	250	250
Cloretos	Água Residual	S/ Limite	S/ Limite
	Água de rega	S/Limite	70*

*Valor Paramétrico (mg Cl⁻/L) DL 236/1998

2.1.2. Métodos para a determinação de Cloretos

Existem vários métodos para a determinação de cloretos, dependendo das características da água, recursos disponíveis e grau de precisão desejada.

Das técnicas recomendadas, o **método argentométrico**, é tido como referência para a determinação da quantidade de cloretos, presentes numa amostra. Consiste numa titulação com nitrato de prata, em que o indicador do ponto final da titulação pode ser: (i) cromato de potássio (método de *Mohr*); ou (ii) Ferro (III) (método de *Volhard*), esta titulação é efetuada em meio ácido com uma solução padrão de tiocianato de amónio.

Em alternativa, também é possível realizar a titulação de cloretos com **nitrato de mercúrio**, em meio ácido, com um indicador difenilcarbazona, que assinala o ponto final da titulação, através da formação de um complexo roxo, com os iões em excesso de mercúrio⁷.

No **método de análise de injeção em fluxo**, a amostra de água contendo cloretos é injetada numa corrente de transporte, à qual serão adicionados tiocianato de mercúrio e nitrato de ferro. Os cloretos, causam a dissociação do tiocianato de mercúrio, libertando o anião tiocianato, que na presença do ião férrico forma o complexo aniónico, tiocianato

férrico, com uma cor vermelha-alaranjada intensa. Sendo a absorvância deste composto, a 480nm, proporcional à quantidade de cloretos presentes na amostra ⁷.

A **cromatografia iônica**, é um método largamente utilizado na determinação de iões em amostras de água de origem variada, visto que apresenta inúmeras vantagens, como alta seletividade e sensibilidade, robustez contra diferentes tipos de interferências na matriz e possibilidade de separar e determinar, simultaneamente, diferentes tipos de iões ⁷.

Os **métodos potenciométricos** são definidos como um conjunto de técnicas analíticas instrumentais, destinadas à determinação da concentração de espécies iônicas, através da medida da diferença de potencial de uma célula eletroquímica.

A medição da quantidade de uma espécie em solução pode ser efetuada de duas formas: (i) potenciometria direta, em que a concentração de um determinado ião, é determinada diretamente, a partir da diferença de potencial obtida com recurso a um eletrodo de membrana seletiva ao ião e a um eletrodo de referência; e (ii) potenciometria indireta ou titulação potenciométrica, em que o ponto final da titulação é localizado, com recurso à medição da variação de potencial entre dois eletrodos, como função do volume de titulante adicionado.

A tabela 2.3, compara três diferentes métodos analíticos, nomeadamente, métodos volumétricos (titulações com indicador), cromatografia iônica e potenciometria (direta e indireta).

Tabela 2.3-Quadro comparativo de métodos analíticos¹⁰

Caraterísticas	Volumetria	Cromatografia iônica	Potenciometria
Determinação simultânea de vários analítos	Não	Sim	Não
Seletividade	Pobre - Moderada	Boa	Boa
Tempo de análise	minutos	minutos-horas	segundos-minutos
Custo do equipamento	*	****	**
Destruição da amostra	Sim	Não	Não (Método Direto) Sim (Método Indireto)
Química Verde	Não	Sim	Sim (Método Direto) Não (Método Indireto)
Complexidade do método	Baixa	Elevada	Média

* Símbolo utilizado para representar o custo, quanto mais, maior é o custo.

2.2. Potenciometria

Quando uma técnica eletroanalítica não envolve a passagem de corrente elétrica ($i=0$), é denominada de potenciometria. Este método, consiste na determinação da concentração de um analito, através da diferença de potencial medida entre dois eletrodos, quando imersos numa solução⁸.

O equipamento que integra o potenciômetro é simples e financeiramente acessível, sendo composto, principalmente, pelo eletrodo de referência, eletrodo indicador e um sistema de medição de potencial.

O eletrodo de referência, tem um potencial conhecido, E_{ref} , e é independente da concentração do analito, tem a função de fornecer um potencial estável, de forma a possibilitar a sua comparação com o potencial do eletrodo indicador. Por outro lado, o eletrodo indicador, quando imerso na solução desenvolve um potencial, E_{ind} , que depende da atividade do analito⁸.

O potencial da célula, E_{cel} , é dado pela equação (2-1), que relaciona os potenciais acima mencionados, com o potencial líquido de junção, E_j .

$$E_{célula} = E_{ind} - E_{ref} + E_j \quad (2-1)$$

A junção destes eletrodos, possibilita a determinação de iões e da sua atividade, em solução. Isto deve-se à relação de dependência, entre o potencial eletroquímico, com os iões e a sua atividade em solução.

Esta relação, foi estudada por Nernst, que propôs uma equação, que correlaciona o potencial padrão do eletrodo, com a temperatura, o número de eletrões a participar na reação e a atividade dos iões em solução, através da equação (2-2). Tanto os eletrodos indicadores como os de referência, regem-se pela seguinte equação.

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln a \quad (2-2)$$

Em que:

E = Potencial do eletrodo, mV ou V;

E_0 = Potencial padrão do eletrodo, mV ou V);

R = Constante dos gases perfeitos (8,314 J/K.mol);

T =Temperatura, K;

F = Constante de Faraday (96485 C/mol);

n = Número de eletrões participantes na reação;

a = Atividade dos iões.

2.2.1. Eletrodos de Referência

Na maioria das medições eletroquímicas, para ser possível a medição de potencial, é indispensável a utilização de eletrodos de referência. Tal acontece, pois, para haver medição de potencial através de um instrumento de medição (como por exemplo, um voltímetro) são necessários dois pontos, pelos quais se medirá a diferença de potencial.

Como é possível observar pela figura 2.1 (b), um dos terminais do instrumento é ligado ao eletrodo indicador e o outro ao eletrodo de referência, cujo potencial é estável e reprodutível.

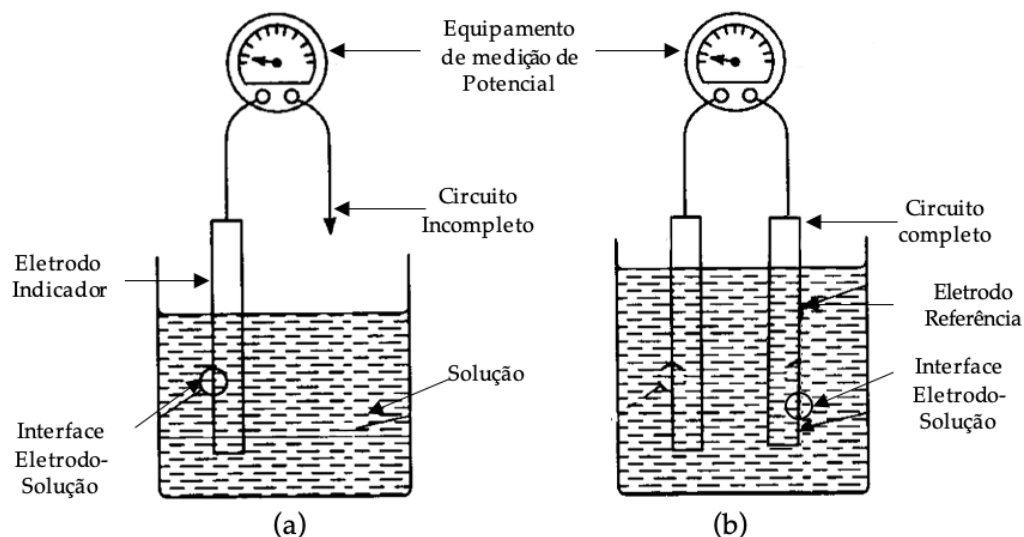


Figura 2.1-Circuito para a medição de diferença de potencial dos eléctodos;(a) Circuito incompleto; (b) Circuito completo (adaptado de ¹⁰)

Um eléctrodo de referência ideal deverá cumprir certos critérios para poder ser utilizado nas medições potenciométricas. Deverá ser (i) reversível química e electroquimicamente obedecendo à igualdade de Nernst; (ii) o seu potencial, não pode variar com o tempo, para que qualquer variação no potencial da célula, E_{cel} , seja atribuído ao efeito do analito, no potencial do eléctrodo indicador; (iii) quando submetido a pequenos fluxos de corrente deve retornar ao seu valor original; e (iv) deverá apresentar baixa histerese, no que toca a alterações térmicas ^{9,10}.

Normalmente, é comum a um eléctrodo de referência, estar associada uma solução eletrolítica, que funciona como condutor iónico. Esta, tem como função principal garantir ao eléctrodo de referência um potencial constante, e operar como ponte de ligação com a solução do analito.

Existem diversos tipos de eletrólitos para as pontes salinas, os principais são o nitrato de potássio (KNO_3) e o cloreto de potássio (KCl). A escolha do melhor eletrólito, para o eléctrodo de referência tem de cumprir alguns critérios, ser inerte, ou seja, não pode influenciar a medição, e é aconselhável que os iões tenham mobilidades semelhantes, para que o potencial líquido de junção, tenha o menor impacto na medição⁹.

Na figura 2.2, estão esquematizados os principais tipos de eléctodos de referência existentes no mercado.

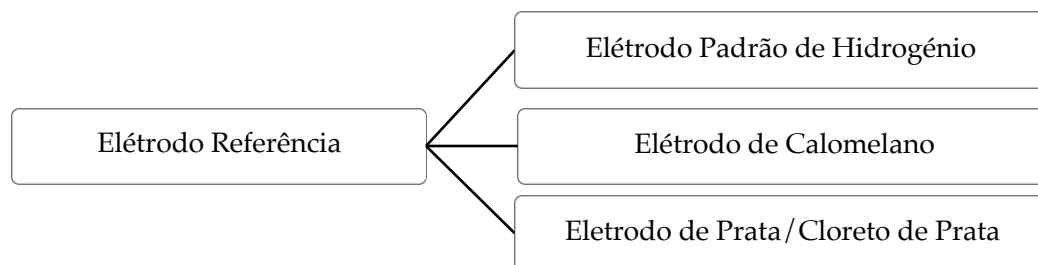


Figura 2.2-Tipos de eléctodos de referência

Eléctrodo Padrão de Hidrogénio

Em eletroquímica, o eléctrodo de hidrogénio ou SHE (*Standard hydrogen electrode*, em inglês), atua como uma referência universal na medição do potencial padrão, de todos os eléctrodos de referência. Convencionou-se, que o potencial deste eléctrodo é 0,000V, em qualquer temperatura.¹⁰

Este consiste, geralmente, num filamento ou placa de platina, revestida por platina preta, que tem como função catalisar a reacção (2-3). O eléctrodo, é imerso numa solução aquosa de carácter ácido, contendo iões hidrogénio. O fluxo de hidrogénio é garantido por um *by-pass*, de forma a assegurar que a solução se mantém saturada, em condições isobáricas.

O eléctrodo de hidrogénio desenvolve um potencial baseado na reacção (2-3).

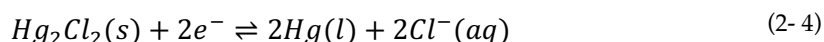


Não obstante, da importância deste eléctrodo de referência, pelo facto de demonstrar boa reprodutibilidade e exatidão nos resultados. Raramente é utilizado em medições analíticas de rotina, devido à dificuldade e riscos na sua preparação, manutenção e utilização.

Eléctrodo de Calomelano

O eléctrodo de cloreto de mercúrio/mercúrio (I), ou calomelano, é o eléctrodo de referência de mercúrio mais amplamente utilizado. Existem diversas variantes à construção deste eléctrodo, a mais utilizada em laboratório consiste no enchimento de um tubo de vidro com uma pasta de mercúrio/cloreto de mercúrio (I) e uma solução saturada de cloreto de potássio (eletrólito), em contacto com um filamento de platina.

O potencial formado, advém da interacção entre o cloreto de mercúrio(I), Hg_2Cl_2 , e o mercúrio sólido, representada pela reacção (2-4).



Por ser um eléctrodo do segundo tipo, o potencial do eléctrodo de calomelano, descrito pela equação (2-5), depende da atividade do ião Cl^- , em equilíbrio com Hg e Hg_2Cl_2 .

$$E = E_{Hg_2Cl_2/Hg}^\circ - \frac{0,05916}{2} \log(a_{Cl^-})^2 = +0,2682V - \frac{0,05916}{2} \log(a_{Cl^-})^2 \quad (2-5)$$

Este eléctrodo de referência, se preparado e manuseado adequadamente, poderá retornar medições bastante reprodutíveis.¹¹ No entanto, aliada às desvantagens ambientais e genéticas que um eléctrodo de mercúrio acarreta, também a solubilidade do cloreto de potássio é sensível às alterações de temperatura do meio, alterando assim o potencial do eléctrodo.⁹

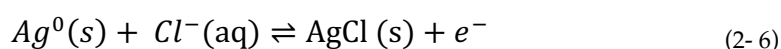
Tornou-se, então uma necessidade criar um eléctrodo que compilasse a parte da segurança com as propriedades fundamentais, que caracterizam um eléctrodo de referência, surge assim o eléctrodo de Ag/AgCl.

Eléctrodo de Prata/Cloreto de Prata

Na atualidade, dentro dos eléctrodos de referência referidos anteriormente, o eléctrodo de Ag/AgCl é o mais frequentemente utilizado em potenciometria. Este, possui uma preparação simples e fácil utilização, associado a uma boa reprodutibilidade do potencial e possibilidade de medição a altas temperaturas.

A sua construção consiste num filamento de prata revestido com um filme de cloreto de prata, este revestimento pode ser atingido por meio eletroquímico ou térmico.¹¹ Normalmente, o filamento é colocado em contacto com uma solução eletrolítica de cloreto de potássio, que pode ter diferentes concentrações consoante o objetivo do utilizador (maioritariamente 3,5M ou saturada).⁸

O potencial do eléctrodo gera-se através da reação global (2-6).



No subcapítulo 2.2.3 Eléctrodos Indicadores, aborda-se em pormenor o funcionamento deste eléctrodo.

2.2.2. Potencial de Junção Líquida

De forma, a assegurar condições estáveis para o eléctrodo de referência, deverá ser incorporado um sistema que separe a amostra da solução eletrolítica. Este atuará como uma válvula, que permitirá apenas a passagem de um caudal mínimo. A esta válvula, dá-se o nome de junção líquida ou diafragma.

A junção líquida, tem de ter a capacidade de conectar eletricamente o eléctrodo de referência e a solução a ser medida, como também evitar que haja contaminação do eletrólito com a amostra. Esta, perde a sua função quando impurezas obstruem o canal ou quando o tamanho do poro não é o adequado, conduzindo a limitações na exatidão da medição⁹.

Como referido acima, o diafragma separa duas soluções, como é visível na figura 2.3. Quando estas possuem concentrações diferentes, gera-se uma pressão osmótica, que resulta na difusão de iões pelo diafragma, criando uma diferença de potencial ao longo da interface, derivada da diferente velocidade das espécies presentes. Esta é designada de potencial de junção líquida (E_j)¹⁰.

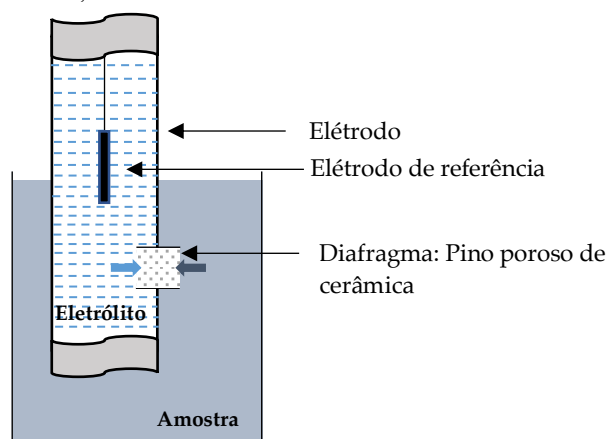


Figura 2.3-Funcionamento de uma junção líquida num eléctrodo

Este potencial, é minimizado utilizando uma solução eletrolítica, cuja mobilidade do ânion e catião seja aproximadamente igual, e na utilização de concentrações altas do sal utilizado na ponte salina. Por essa razão, o KCl é um dos sais mais importantes na eletroquímica, sendo frequentemente construídos elétrodos com soluções saturadas deste sal.

É sempre possível minimizar o potencial de junção líquida, contudo a sua eliminação total nunca é alcançada.

Existem vários tipos de materiais e *designs* possíveis para a construção do diafragma, os principais estão descritos na tabela 2.4, com os respectivos caudais de saída e vantagens.

Tabela 2.4-Tipos de diafragmas

Tipo	Caraterísticas	Vantagens	Desvantagens
<i>Open Ring</i>	- Grande área de contacto entre a solução e o eletrólito de referência; -Eletrólito de referência é um gel pouco viscoso ou um polímero sólido;	- Resposta rápida e exata; -Não colmata; -Baixa manutenção;	-Não é possível a utilização de eletrólitos líquidos; -Contaminações muito frequentes;
<i>Porous pin</i>	-Diafragma de cerâmica, quimicamente inerte; -Fluxo de saída de eletrólito: $\approx 3-30 \mu\text{L/h}$; ¹⁰ -Diâmetro do diafragma: $\approx 1\text{mm}$; -Diâmetro de poro: $\approx 1\mu\text{m}$ ^{12,}	-Ótima resposta para medições em soluções aquosas; -Longo tempo de vida, se utilizado corretamente; -Utilizado em condições desfavoráveis (temperaturas elevadas, soluções de caráter básico e ácido forte)	-Pequenas partículas podem obstruir, pelo que limpeza frequente é necessária;
<i>Sleeve Diaphragm</i>	-Fluxo de saída de eletrólito; $\approx 100-500 \mu\text{L/h}$; ¹⁰	-Grande fluxo de saída de eletrólito; -Fácil manutenção; -Quase impossível a obstrução; -Ideal para amostras de baixa condutividade e alta viscosidade;	-Custo elevado -Necessário enchimento constante de eletrólito;
<i>Ring Diaphragm</i>	-Anel de PTFE ou vidro poroso na parte inferior do eletrodo; -Fluxo contínuo de eletrólito para a amostra; -Fluxo de saída de eletrólito: $\approx 10 - 100 \mu\text{L/h}$ ¹² ;	-Adequado para altas temperaturas e solventes orgânicos;	-

2.2.3. Eléttodos Indicadores

Na potenciometria, os eléttodos indicadores têm de apresentar determinadas propriedades, sendo as principais: (i) sensibilidade para a concentração de um dos reagentes ou produtos da reação, e (ii) resposta rápida e reprodutível.

Estes podem ser divididos em duas classes, representadas pela figura 2.4.

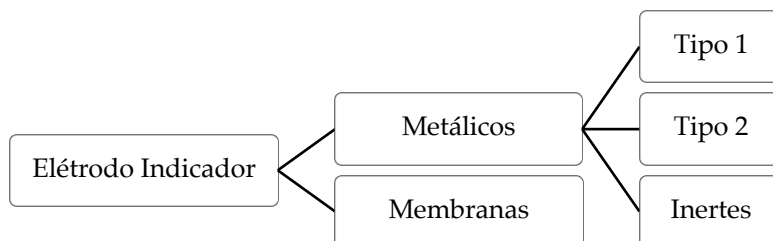


Figura 2.4-Tipos de eléttodos indicadores

De seguida, os eléttodos indicadores metálicos serão abordados em mais detalhe, visto que, o tipo de eléttodo indicador que será utilizado nas análises será metálico do tipo 1.

Na primeira classe, encontram-se os eléttodos indicadores metálicos, que se subdividem em tipo 1, tipo 2 ou inertes/redox.

Eléttodos Indicadores Metálicos: Tipo 1

O eléttodo indicador do tipo 1, consiste num metal que quando imerso numa solução contendo os próprios iões metálicos, retorna uma resposta direta aos mesmos, através de uma transferência de eletrões na superfície do metal, dada pela reação (2-7).



A reação na superfície do metal gera um potencial elétrico, que é relacionado com a atividade do ião metálico através da equação de *Nernst*. O potencial do eléttodo indicador do tipo 1, E_{ind} , é dado pela equação (2-8).

$$E_{ind} = E^{\theta}_{X^+/X^0} - \frac{R T}{n F} \ln \frac{1}{a_{X^+}} = E^{\theta}_{X^+/X^0} + \frac{R T}{n F} 2,303 \log a_{X^+} \quad (2-8)$$

Onde:

$E^{\theta}_{X^+/X^0}$ = Potencial padrão do par redox X^+/X^0 , este potencial é característico para cada semirreação;

Ln = Logaritmo Natural = 2,303 log;

a_{X^+} = Atividade da espécie X;

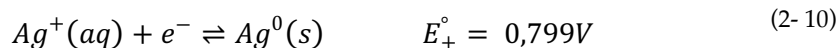
O parâmetro da atividade da espécie, a_{X^+} , está proporcionalmente relacionado com a concentração molar de X, [X], através da equação (2-9).

$$a_X = \gamma_X [X] \quad (2-9)$$

Em que γ_X é o coeficiente de atividade da espécie X, que depende da força iónica da solução. No caso, em que a solução seja muito diluída, as interações do ião com a

vizinhança são desprezáveis, podendo-se considerar que a solução tem um comportamento ideal e é possível a aproximação $a_x \approx [X]^8$.

Tomando como exemplo, o eléctrodo indicador de prata Ag/Ag^+ , onde ocorre a semirreação redox, (2 - 10):



Substituindo na equação (2-8), cada parâmetro característico ao eléctrodo de Ag/Ag^+ , obtém-se o seu potencial, equação (2-11).

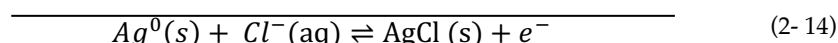
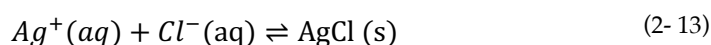
$$E_{Ag/Ag^+} = 0,799 + \frac{0,0592}{1} \log a_{Ag^+} \quad (2-11)$$

Em que, como a estequiometria da reação (2-10) é 1, então $n=1$. Considera-se também, uma temperatura de 25 °C na medição.

Eléttodos Indicadores Metálicos: Tipo 2

No caso, do grupo de eléctrodos indicadores metálicos tipo 2, o metal é revestido com uma camada de um sal pouco solúvel. No qual, a resposta é dirigida aos aniões que formam precipitados pouco solúveis ou complexos estáveis com os catiões do metal⁸.

O eléctrodo $Ag/AgCl$, é um dos exemplos mais comuns deste tipo de eléctrodos, onde na sua superfície ocorre a reação de transferência de iões (2-12) e a precipitação de cloreto de prata (2-13). Sendo o eléctrodo $Ag/AgCl$, representado pela reação global (2-14).



A atividade dos iões metálicos em solução, é dada como função do produto de solubilidade, K_{ps} . Tomando como referência, o eléctrodo $Ag/AgCl$ descrito anteriormente, a atividade do ião de prata é dada pela equação (2-15).

$$a_{Ag^+} = \frac{K_{ps,AgCl}}{a_{Cl^-}} \quad (2-15)$$

Como resultado, a equação de Nernst para o eléctrodo de segundo tipo (equação 2-16), é dada pela substituição na equação (2-8), do termo a_{Ag^+} , pela equação (2-15).

$$E_{Ag/AgCl} = E_{Ag/Ag^+}^\theta + 0,0592 \log \frac{K_{ps,AgCl}}{a_{Cl^-}} = E_{Ag/AgCl}^{\theta'} - 0,0592 \log a_{Cl^-} \quad (2-16)$$

Em que, a constante $E_{Ag/AgCl}^{\theta'}$ contém o potencial padrão do par redox Ag^+/Ag e o produto de solubilidade de $AgCl$.

Normalmente, este tipo de eléctrodo é utilizado como eléctrodo de referência, pelo facto de possuir as propriedades ideais, já descritas acima.

Eléttodos Indicadores Metálicos: Inertes

De entre a panóplia de materiais disponíveis para a eletroquímica, existem os metais inertes que respondem a sistemas redox. Ou seja, o eléttrodo funciona como doador ou recetor de eletrões, não participando nas reações redox. O potencial gerado é assim, função da atividade das duas espécies que compõem o par redox em solução.

Vários materiais podem ser empregues para monitorizar estes sistemas, tais como platina, ouro, carbono ou paládio. Por exemplo, o potencial de um eléttrodo de platina gerado, quando imerso numa solução de cério (III) e cério (IV) é dado pela equação (2-17).

$$E_{Ce^{4+}/Ce^{3+}} = E_{Ce^{4+}/Ce^{3+}}^{\theta} - 0,0592 \log \frac{a_{Ce^{3+}}}{a_{Ce^{4+}}} \quad (2-17)$$

2.2.4. Titulação Potenciométrica (Potenciometria Indireta)

A titulação, sendo uma técnica bem consolidada, detém grande percentagem nas metodologias mais utilizadas para a medição de quantidades de um analito, através da relação estequiométrica de uma reação química.

Existem, atualmente, inúmeras formas para a deteção do ponto de equivalência de uma titulação. Uma delas, é a utilização da eletroquímica, nomeadamente a potenciometria.

Uma titulação potenciométrica, consiste na medição do potencial gerado pelo eléttrodo, em função do volume de titulante adicionado. O principal objetivo desta monitorização, é a localização do volume, para o qual existe uma variação abrupta no potencial medido.

Como este é o único interesse do método, o potencial absoluto, E_{cell} , medido não apresenta grande relevância. Esta característica, torna as titulações, relativamente, independentes de incertezas do potencial líquido de junção, pois irá manter-se constante ao longo da titulação ^{8,13}. No entanto, é sempre importante ter uma noção dos limites onde se irá situar o ponto de equivalência, de forma a detetar possíveis anomalias no eléttrodo.

É preferível o uso da potenciometria, quando comparado com indicadores colorimétricos, uma vez que os pontos de equivalência são detetados com mais facilidade e exatidão. São, inclusive, indicados para soluções turvas ou com coloração e na deteção de espécies indesejadas.

Adicionalmente, esta técnica exhibe vantagens relativamente à potenciometria direta. Principalmente no que toca, a problemas de deposição de partículas no eléttrodo e a respostas não-Nernstianas, na titulação não representam tanta relevância. Como pontos negativos as titulações, são métodos relativamente morosos, onde existe o gasto de reagente e como tal, produção de mais resíduos.

Esta técnica eletroquímica pode ser utilizada em titulações de ácido/base, de complexação, de precipitação e de oxidação/redução.

2.2.4.1. Detecção do Ponto Final

Na titulação potenciométrica, o ponto final refere-se ao volume gasto de titulante estimado experimentalmente, para o qual a quantidade de analito e titulante é igual. Enquanto o ponto de equivalência corresponde ao volume gasto estimado teoricamente⁸.

Geralmente, o ponto final é avaliado apenas visualmente, com uma representação gráfica do potencial em função do volume gasto, demonstrado pela figura 2.5-(a).

No entanto, pretende-se que a diferença, ou seja, o erro entre o volume teórico e o experimental seja o menor possível. Para o minimizar, poderão ser utilizadas ferramentas de análise matemática. Nomeadamente, o traçado da curva da variação de potencial por unidade de volume ($\frac{\Delta E}{\Delta V}$), ou por outras palavras, a primeira derivada da curva de titulação. Através da figura 2.5-(b), observa-se, com mais clareza, que o ponto máximo da curva corresponde ao ponto final.

A outra alternativa, baseia-se no ponto em que a segunda derivada ($\frac{\Delta^2 E}{\Delta V^2}$) é nula, figura 2.5-(c), correspondendo à região onde se verifica o maior ponto de inflexão e consequentemente ao fim da reação.

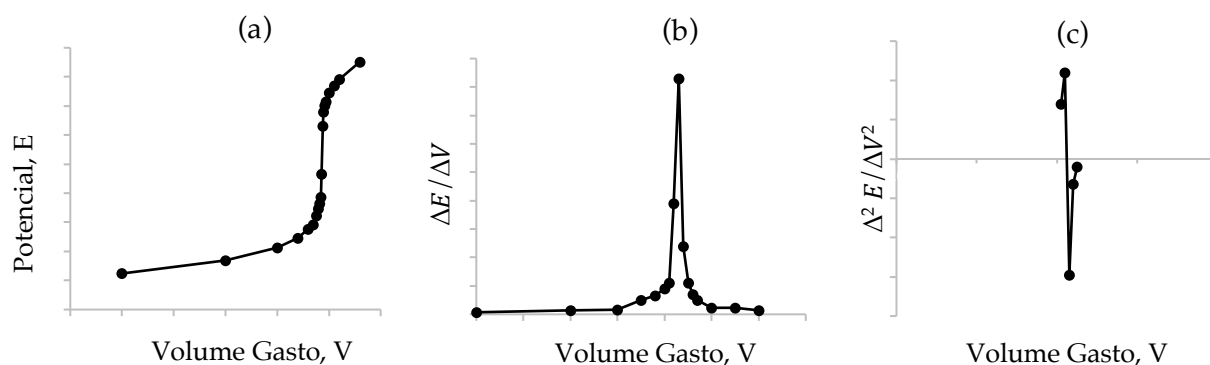
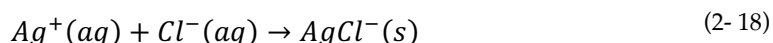


Figura 2.5- Métodos gráficos para a avaliação do ponto final de uma titulação. (a) Potencial vs Volume gasto de titulante; (b) Taxa de variação (primeira derivada) do potencial por unidade de titulante gasto vs Volume gasto de titulante; (c) Segunda derivada da curva de titulação.

Colocando em perspetiva ambos os métodos, constata-se que a segunda derivada permite uma determinação do ponto final, sem a subjetividade da interpretação de gráficos, estando menos sujeito a erros humanos. No entanto, tanto este último método como o da primeira derivada, possuem a limitação de simetria da curva de titulação. Se a curva não for simétrica, a deteção do ponto final compreende um pequeno erro.^{8,14}

2.2.4.2. Titulação potenciométrica de cloretos

A titulação potenciométrica tem diversas aplicações, mas certamente a mais utilizada é na titulação de haletos, nomeadamente cloretos. O titulante mais comumente utilizado é o nitrato de prata que reage com os cloretos em solução respeitando a reação (2-18).



Quando se adiciona o nitrato de prata, este dissocia-se em iões de prata que interagem com o anião cloreto, formando uma ligação iónica, que resulta na precipitação de cloreto de prata, AgCl, um sal de coloração branca, insolúvel em água. A esta reação dá-se o nome de metátese.

À medida, que o titulante é adicionado na amostra, a concentração de cloretos diminui, e a de precipitado AgCl aumenta. Na titulação potenciométrica de precipitação, monitoriza-se a reação através do potencial, de forma a localizar o ponto de equivalência onde a quantidade adicionada de prata, em mol, é igual à quantidade de moles de cloretos calculados estequiometricamente, pela reação.

Para esta reação, são normalmente utilizados um eletrodo indicador de prata e um eletrodo de referência de Ag/AgCl. No início da titulação, este eletrodo inicia a medição em valores negativos de potencial, pelo facto do fluxo de eletrões ser do eletrodo indicador para o eletrodo de referência.

Este potencial, ao longo do tempo de titulação torna-se progressivamente mais positivo, devido à mudança no fluxo de eletrões, como se observa na figura 2.6.

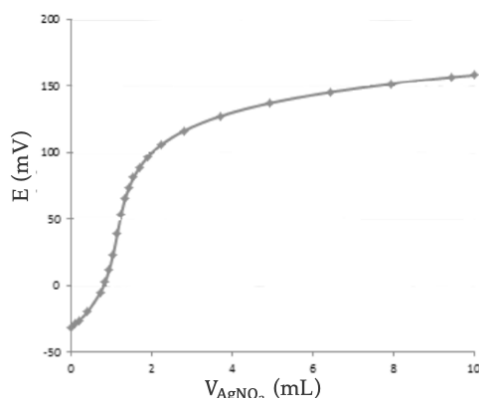


Figura 2.6-Exemplo de uma curva de titulação potenciométrica de cloretos (Adaptado de: *Chlorides in Water: Based on the standard ISO 9297:2000*)

O potencial do eletrodo indicador de prata, quando mergulhado na solução contendo Ag^+ , assume o potencial elétrico em função da atividade do catião de prata, de acordo com a equação (2-8).

Sabendo o volume de titulante adicionado (V_{AgNO_3}), a sua concentração (C_{AgNO_3}) e a estequiometria entre o nitrato de prata e os cloretos (1:1), é possível a determinação da quantidade de cloretos existentes num determinado volume de amostra, com a expressão (2-19).

$$C_{Cl^-} = \frac{C_{AgNO_3} V_{AgNO_3} \times 35,453 \times 1000}{V_{amostra}} \quad (2-19)$$

Em que o resultado tem as unidades de mg Cl⁻/L, e os 35,453 é a massa molar do anião cloreto, em g/mol.

Interferências no método

A titulação é efetuada em caráter ácido, com a adição de ácido nítrico. Isto, deve-se à interação que se verifica entre a prata e iões carbonato (CO₃⁻²), iões sulfureto (S⁻²) e cianeto (CN⁻). Se estes compostos, estiverem presentes nas amostras e não forem eliminados através da adição de ácido, irão reagir com a prata originando resultados erróneos.⁷

Outros halogéneos, como brometo e iodeto são titulados, estequiometricamente da mesma forma que os cloretos. A tabela 2.5, mostra que quanto menor for o produto de solubilidade, mais rápido o sal precipita. Neste caso, o iodeto de prata precipita primeiro, enquanto o cloreto de prata precipita por último.

Tabela 2.5-Produtos de solubilidade de três haletos de prata¹⁵

Sal	Produto de solubilidade, k_{sp}
AgI	$8,3 \times 10^{-17}$
AgBr	$5,0 \times 10^{-13}$
AgCl	$1,8 \times 10^{-10}$

Como o produto de solubilidade entre AgBr e AgCl é tao próximo, surge o problema da coprecipitação, fazendo com que o cloreto de prata inicie a precipitação, antes da precipitação completa do brometo de prata. Existem alguns compostos, que promovem a diminuição de erros na coprecipitação como agentes floculantes ou acetato de bário^{16,17}.

No entanto, em vários documentos, é descrito a impossibilidade da eliminação total destes interferentes das amostras, aconselhando-se a determinação por um método alternativo, como a cromatografia iónica^{7,18}.

Também o ião férrico, Fe³⁺, se estiver presente em quantidades substancialmente mais elevadas que a concentração de cloretos. Os compostos cromatos e dicromatos interferem, tendo de ser reduzidos ao estado de crómio⁷.

2.3.Cromatografia Iónica

A cromatografia iónica tem vindo a tornar-se um dos métodos mais usados para análise de amostras ambientais. Pelo facto, de apresentar resultados com alto rigor e de confiança, considera-se um método de referência na determinação de catiões e aniões inorgânicos, em águas naturais e residuais¹⁹.

Este método, de um modo geral, inclui todas as separações de iões de cromatografia de alta eficiência, em colunas acopladas em linha com um detetor de fluxo, onde se dá a deteção e quantificação²⁰.

Dentro da cromatografia iónica, existem dois parâmetros que a caracterizam, o tipo de separação e o tipo de deteção. Atualmente, existem três principais tipos de separação, nomeadamente, a permuta iónica, a exclusão iónica e cromatografia de pares iónicos. Os últimos dois, são usados para aplicações mais específicas de análise.

Diferentes métodos são utilizados para a deteção de substâncias em cromatografia. Todos têm de obedecer a alguns critérios para poderem ser aplicados, designadamente: (i) alta sensibilidade na medição e curtos tempos de resposta; (ii) sinal medido

proporcional à concentração de analito e (iii) baixo ruído de base. Os métodos que cumprem os parâmetros mencionados, são os eletroquímicos que se subdividem em detecção por condutividade, amperometria ou potenciometria; e os espectrométricos, que se subdividem em detecção fotométrica, fluorescência, refratometria ou acoplamento com um método independente. Neste trabalho, irá ser abordado em mais detalhe o método eletroquímico de detecção por condutividade.

2.3.1. Fluxograma de instrumentação

O sistema de cromatografia iônica, CI, é constituído, essencialmente, por vários componentes, demonstrados pela figura 2.7.

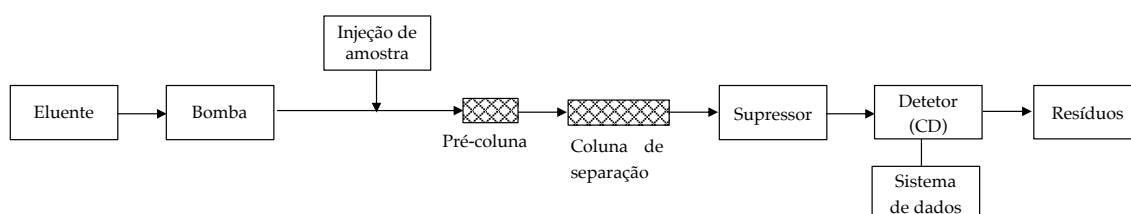


Figura 2.7-Esquema de operação do método cromatográfico com supressão

O eluente, a chamada fase móvel, tem como função o transporte da amostra pelo sistema e contribui para a seletividade da separação. Este tem de possuir certas características como miscibilidade, baixa viscosidade e compatibilidade com a amostra, coluna e detetor⁸.

O tipo mais comum de eluição, denomina-se de eluição isocrática, onde a concentração e a composição do eluente é mantida constante, ao longo da corrida. O outro tipo, é a eluição por gradiente, onde a composição do eluente é alterada no decorrer da separação.

A bomba isocrática, impulsiona uma corrente de eluente para a pré-coluna.

Após o pré-tratamento das amostras, para remover, se necessário, interferentes, um volume de amostra é injetado, para o cromatógrafo por meio de uma válvula de injeção. Esta válvula, tem duas posições, a posição *load* que serve para carregar e limpar, com a amostra o circuito, e a posição *inject*, que injeta a amostra na corrente de eluente, descrita anteriormente, que segue para a pré-coluna⁸.

A pré-coluna é muito utilizada em análises de rotina, pois protege a coluna analítica, ao reter de contaminantes presentes na fase móvel. Tendo assim, a vantagem de aumentar o tempo de vida útil da coluna.

Concluída a fase da pré-coluna, a fase móvel dirige-se para a coluna analítica, ou fase estacionária. Uma gama variada de materiais orgânicos e inorgânicos podem ser utilizados na construção das fases estacionárias, mas todos têm de ter em comum a capacidade de albergar na sua superfície grupos funcionais, nos quais se dá a troca de iões.

Na cromatografia de permuta iônica, são muito utilizadas colunas com o suporte de resinas poliméricas, nomeadamente etilvinilbenzeno/divinilbenzeno, com o grupo funcional $R_3N^+X^-$, chamado de sal quaternário de amónio. Na figura 2.8, descreve-se o esquema de troca iónica neste tipo de colunas.

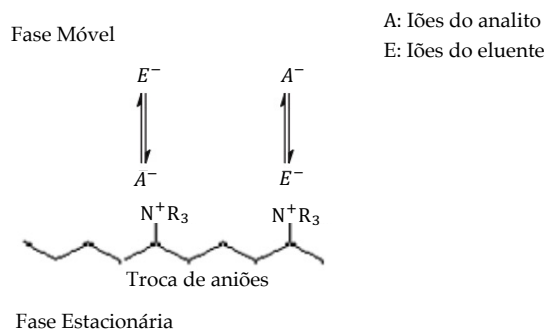
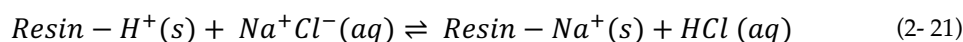


Figura 2.8-Funcionamento de uma coluna de troca aniônica

A fase seguinte do processo cromatográfico é o supressor, onde ambos o eluente e os analitos, são modificados. Esta componente, representa grande importância no que respeita, à fase seguinte, a detecção por condutividade.

O supressor, tem como objetivo a redução da condutividade inerente ao eluente pois, a sua condutividade tem tendência a se sobrepor aos íons alvo, reduzindo assim a sensibilidade do detetor. E adicionalmente, melhora a condutividade do analito, otimizando a sua detecção.

O princípio da supressão química, é demonstrado pela reação (2-20), que demonstra a reação do eluente com a coluna supressora e a reação (2-21), a reação entre o analito (Cl^-) e a coluna supressora, para o caso da cromatografia aniônica.



O eluente utilizado é o bicarbonato de sódio, que é transformado na sua forma ácida pouco dissociada, que não contribui significativamente para a condutividade. Por outro lado, a condutividade do analito, é melhorada através da substituição do íão de sódio ($50,1 \text{ S}\cdot\text{cm}^2/\text{mol}$) pelo hidróxido ($349,8 \text{ S}\cdot\text{cm}^2/\text{mol}$)²¹.

Como referido anteriormente, o método de detecção mais comum em cromatografia iônica é a condutometria. Neste método, a corrente vinda do supressor, passa por uma célula com dois elétrodos, onde é aplicada uma corrente alternada. Esta corrente, aumenta a capacidade da solução de conduzir eletrões. E consequentemente, o aumento da corrente, é proporcional ao aumento da condutividade, que por sua vez é função linear da concentração de íões.

A condutividade, κ , dada em $\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, é uma propriedade intrínseca da solução e pode ser calculada, pela equação (2-22), que relaciona a condutância, G , dada em S , e a constante da célula, K , cm^{-1} . Assim, quando um analito atravessa o detetor, a condutividade aumenta e um pico, correspondente a cada íão, é obtido no cromatograma, como mostra a figura 2.9²². A área de cada pico, é posteriormente calculada e relacionada com a concentração, respetiva, através de uma reta de calibração.

$$\kappa = K \cdot G \quad (2-22)$$

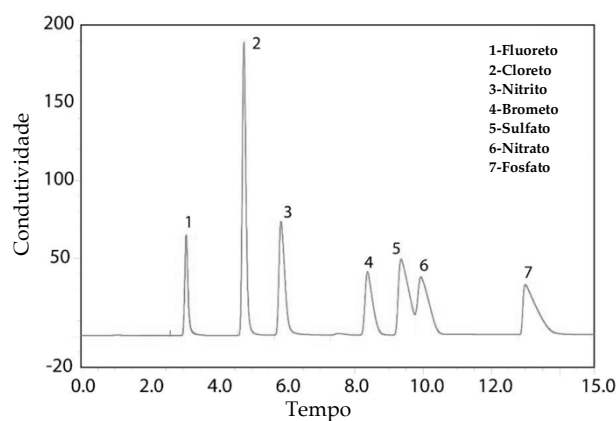


Figura 2.9.Cromatograma para espécies aniónicas (Adaptado de ²³)

2.4. Validação do Método de Titulação Potenciométrica

Inúmeros métodos são utilizados no dia-a-dia dos laboratórios, em todo o mundo. Para que estes possam ser aplicados no quotidiano de análises, é imprescindível que estes sejam sujeitos a testes de validação.

Terá de se proceder ao estudo de validação de um método sempre que: (i) método não seja normalizado; (ii) haja uma alteração no método, fora do seu campo de aplicação; (iii) métodos desenvolvidos pelo laboratório; e (iv) inserção de novas técnicas ou equipamentos.²⁴

O processo de validação, irá avaliar uma série de parâmetros, em condições pré-definidas, consoante o que for adequado para a técnica em questão. Com o propósito, de demonstrar que o método é robusto e cumpridor do que lhe é proposto, na gama de concentrações e matrizes estudadas.

Não existindo um guia universal para a validação, na tabela 2.6, encontram-se representados os parâmetros mais comuns, registados nos guias, de quatro organizações mundiais, relacionadas com a química e/ou ambiente.

Adicionalmente aos parâmetros referidos na tabela 2.6, deverá ser estimada a incerteza associada aos resultados obtidos pelo método, para um determinado grau de confiança.

Tabela 2.6-Parâmetros considerados para a validação de um método consoante o guia de validação de cada organização

Parâmetros de Validação	IUPAC ²⁵	US EPA ²⁶	EURACHEM ²⁷	AOAC ²⁸
Seletividade	X	X	X	X
Sensitividade	X		X	X
Limite de deteção	X	X	X	X
Limite de quantificação		X	X	X
Linearidade	X	X	X	X
Gama de trabalho	X	X	X	
Precisão:				
repetibilidade	X	X	X	X
precisão intermédia	X		X	
reprodutibilidade		X	X	X
Exatidão	X	X	X	X
Robustez	X	X	X	X

2.4.1. Especificidade

A especificidade, é definida como sendo a capacidade de um método, de forma indubitável, de detetar o analito alvo, na eventual presença de outros componentes. A separação dos mesmos não é exigida, pelo que é comum referir-se à especificidade como sendo a análise de um só componente, isto é, a resposta é unicamente referente ao analito.

É comum confundir-se o termo especificidade, com seletividade, no entanto, são tecnicamente diferentes²⁹.

É um parâmetro qualitativo, pelo que a sua avaliação é dada por, pouco ou muito específico.

2.4.2. Seletividade

Este termo é o mais recomendado, para a caracterização de múltiplos componentes de uma amostra. A seletividade, define o grau para qual um método consegue determinar analitos, em matrizes ou misturas, independentemente da interferência de outros componentes, com o mesmo comportamento²⁷.

Para a análise deste parâmetro de validação, é fundamental que se conheça os interferentes do método e quais poderão integrar a matriz da amostra a analisar.

Ao contrário do parâmetro anterior, a análise da seletividade, pode ser avaliada quantitativamente, através da equação (2-23), com a adição de interferentes em padrões e/ou a realização de ensaios de recuperação em amostras de matrizes reais. Este procedimento, irá revelar se os contaminantes, interferem de alguma forma com a determinação da espécie alvo ou se as matrizes analisadas pelo laboratório possuem, algum tipo de interferência com o método.

$$\% \text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração real} - \text{Concentração obtida}}{\text{Concentração adicionada}} \quad (2-23)$$

Normalmente, o critério de aceitação utilizado, depende de cada laboratório.

A seletividade, depende da concentração do analito, portanto esta deverá ser avaliada no menor padrão da curva.

2.4.3. Linearidade

No intervalo de concentrações de trabalho, um dos parâmetros fundamentais de análise é a capacidade de um método retornar respostas diretamente proporcionais à quantidade de analito na amostra. A este parâmetro, é dado o nome de linearidade.

A linearidade, poderá ser avaliada através da construção de uma reta, com pelo menos 5 pontos de concentração equidistante e/ou da aplicação de testes estatísticos aos padrões da reta de trabalho³⁰.

Para um melhor ajuste dos pontos obtidos, é comum ser utilizado o método dos mínimos quadrados. Onde, se constrói um gráfico de dispersão, representando nas abcissas (x) as concentrações do analito e nas ordenadas (y), o sinal devolvido pelo equipamento³¹.

A forma algébrica, para a caracterização da reta obtida na construção do gráfico, é dada pela equação (2-24).

$$y = m \cdot x + b \quad (2-24)$$

Em que, m representa o declive da reta e b a ordenada na origem.

O método dos mínimos quadrados, para a regressão linear pressupõe uma distribuição normal e independente dos resíduos, bem como variância constante (homocedasticidade). Se tal não se verificar, este modelo não poderá ser utilizado.³¹

Desta forma, os coeficientes do declive e da ordenada na origem, são calculas através das equações (2-25) e (2-26), respetivamente.

$$m = \frac{\sum_{i=1}^N [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (2-25)$$

$$b = \bar{y} - m \cdot \bar{x} \quad (2-26)$$

Onde

b = ordenada na origem;

m= declive;

x_i = concentrações individuais (concentração de cloretos, mg/L);

\bar{x} = média das concentrações;

y_i = resposta individual do sistema (volume gasto de titulante, mL);

\bar{y} = média das respostas individuais do sistema;

N= Número de padrões

O desvio padrão residual da curva, é calculada pela equação (2-27).

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N [y_i - (b + m \cdot x_i)]^2}{N - 2}} \quad (2-27)$$

Numa primeira análise da reta, é avaliado tanto a força e a direção com que as variáveis x e y se relacionam, através do coeficiente de correlação (r), aplicando a equação (2-28). Como também, a percentagem da variabilidade de y que pode ser explicada pela variável x, com o coeficiente de determinação (r^2).

$$r = \frac{\sum_{i=1}^N \{(x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2] \cdot [\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2]}} \quad (2-28)$$

Onde:

x_i = concentrações individuais (concentração de cloretos, mg/L);

\bar{x} = média das concentrações;

y_i = resposta individual do sistema (volume gasto de titulante, mL);

\bar{y} = média das respostas individuais do sistema;

Como critério de aceitação, é definido que o coeficiente de correlação e o coeficiente de determinação deverão retornar valores igual ou acima de 0,995⁷.

Não obstante, da larga utilização do r e r^2 para a análise do grau de ajustamento dos valores, é importante referir que não deve ser tomado como um método credível na

indicação de linearidade. Sendo, portanto, necessário complementar com outros testes estatísticos, nomeadamente o teste de *Mandel* (Apêndice A) e *Rikilt* (Apêndice B).

O teste de *Mandel* compara os desvios padrões residuais do modelo linear com o modelo não linear e o teste de *Rikilt*, consiste no cálculo do fator de resposta para cada padrão da curva.

A linearidade, na titulação potenciométrica com elétrodos metálicos, não é um parâmetro de validação crucial. Pelo facto, destes elétrodos não apresentarem flutuações no potencial, não sendo necessário a sua calibração³². No entanto, a título académico e de forma a avaliar erros sistemáticos, alguns artigos e guias definem a gama de trabalho que irão trabalhar e analisam este parâmetro³³.

Normalmente, o método utilizado para avaliar este critério, segundo diversos artigos passa pelo procedimento gráfico, com o método dos mínimos quadrados através da regressão linear e pelo coeficiente de determinação ($r^2 \geq 0,99$)³⁴⁻³⁷.

Por outro lado, o teste de *Mandel* também é um método estatístico utilizado para a verificação da linearidade na potenciometria³⁸.

2.4.4. Homocedasticidade da resposta instrumental

Após, tomada a decisão da gama de trabalho mais adequada para a análise de um determinado analito, através da escolha de padrões, de pelo menos cinco concentrações equidistantes e do estudo da linearidade, outro parâmetro importante avaliar na regressão linear é a homogeneidade das variâncias.

Este parâmetro é avaliado através do teste da homogeneidade de variâncias, com a aplicação do teste de *Fisher*. Este, compara as variâncias do primeiro e último padrão da curva, analisados de forma independente, em dez replicados. No Apêndice C, encontra-se explicitada esta metodologia, segundo a ISO 8466-1³⁹.

2.4.5. Limiares Analíticos

Quando são efetuadas medições a concentrações baixas, torna-se necessário estabelecer limites, a partir dos quais os resultados obtidos podem ser aceites com um certo nível de confiança. A estes limites, são chamados limiares de um método, e podem-se definir dois conceitos chave: o limite de deteção e o limite de quantificação.

2.4.5.1. Limite de Deteção

O limite de deteção (LD), caracteriza-se pela menor concentração de analito que pode ser, distinguido de zero, com um grau de confiança estatística razoável, normalmente 99%.⁴⁰

Se porventura, num ensaio a quantidade de analito obtida, for menor que o limite de deteção, não é indício que este não está presente, mas sim que o resultado não apresenta um fundamento estatístico confiável para este valor ser aceite.

Existem diversas formas para a determinação do limite de deteção. E a escolha do mais adequado depende, principalmente do tipo de método em questão. Os guias de validação abordam, normalmente, três maneiras de cálculo.

Neste trabalho irão ser abordadas duas formas, que serão as aplicadas. Sendo que a terceira é baseada no sinal/ruído, no entanto é só aplicável a métodos que apresentem ruído na linha de base, nomeadamente, a cromatografia.

A primeira metodologia, incide sobre da relação entre o limite de deteção com desvio padrão do branco ou padrões vestigiais, através da expressão (2-29).

$$LD_B = \bar{X}_B + k \cdot \sigma_B \quad (2-29)$$

Em que:

LD_B = limite de detecção do branco ou padrões vestígio;

\bar{X}_B = média aritmética da concentração obtida nos ensaios realizados, pelo menos 10, de forma independente e ao longo de vários dias;

k = fator de expansão, que é escolhido de acordo com o grau de confiança pretendido. Na literatura, aconselha-se o uso de k=3 para um grau de confiança de 99,86%⁴¹;

σ_B = desvio padrão relativo à população de concentrações, \bar{X}_B . Como nos ensaios de validação é obtido um número finito de resultados (normalmente $n \geq 20$), o símbolo s_B costuma ser utilizado em substituição a σ_B .

Importante referir que para utilizar esta expressão, os dados têm de seguir uma distribuição normal.

A segunda forma de determinação do limiar de detecção, é aplicada a métodos que utilizem curvas de calibração, através da equação (2-30).

$$LD = \frac{3 \cdot S_{y/x}}{m} \quad (2-30)$$

Onde:

$S_{y/x}$ = desvio padrão residual da curva de calibração, calculada pela equação (2-27);

m = declive da reta de calibração;

Abordando, mais especificamente o método da titulação potenciométrica, a forma mais comum de estimar este limite, é através do desvio padrão dos brancos. No entanto, em vários artigos bibliográficos o termo da média das concentrações, \bar{X}_B , presente na equação (2-29), não está presente pelo facto da média dos brancos não ser diferente de zero⁴².

Segundo, o DL 152/2017, o limite de detecção de um método, para os cloretos em águas de consumo humano, terá de ser 10% do valor paramétrico de 250mgCl⁻/L, ou seja, 25mgCl⁻/L.

2.4.5.2. Limite de Quantificação

O limite de quantificação (LQ) consiste na concentração, a partir da qual o analito consegue ser quantificado, com um certo nível de aceitação de precisão e exatidão.

De igual forma a anteriormente, existem diversas metodologias para a determinação deste limite. Um critério consensual na bibliografia, é a definição de um limite máximo para o coeficiente de variação (cv) de 10%, para os padrões utilizados.²⁵

À semelhança do LD, este limite também pode ser determinado através da sua relação com o desvio padrão, com a expressão (2-31).

$$LQ_B = \bar{X}_B + k \cdot \sigma_B \quad (2-31)$$

Em que:

LQ_B = limite de quantificação do branco ou padrões de baixa concentração;

k = fator de expansão, neste caso é comum $k=10$, relativo a um coeficiente de variação de 10%³¹;

Adicionalmente, neste caso também será possível o cálculo do LQ, com recurso a parâmetros da curva de calibração, com a equação (2-32).

$$LQ = \frac{10 \cdot S_{y/x}}{m} \quad (2-32)$$

Posteriormente, aos cálculos recorrendo às expressões anteriormente descritas será sempre necessário testar o limite, de forma a averiguar se a exatidão e precisão obtidas são adequadas. O teste, será realizado em condições de precisão intermédia com padrões de concentração próxima ou igual ao LQ calculado.

Outra forma, de determinar este parâmetro consiste na titulação de séries de padrões, com uma concentração continuamente menor de analito. O limite de quantificação, será a menor quantidade de substância que consegue ser titulada com uma boa precisão, ou seja, coeficiente de variação menor que 0,3%.^{30,33}

O DL 152/2017, define um mínimo para o limite de quantificação de um método, para os cloretos em águas de consumo humano, terá de ser 30% do valor paramétrico de 250mgCl⁻/L, ou seja, 75mgCl⁻/L.

2.4.6. Precisão

A precisão de um método analítico, indica o grau de dispersão dos resultados que são obtidos em ensaios independentes e sob determinadas condições, em relação a uma amostra, amostras semelhantes ou padrões.

Com o grau de dispersão, é avaliada paralelamente a magnitude do erro aleatório que está associado ao método em questão.

Nos principais guias internacionais, encontram-se três termos principais para a avaliação da precisão. A repetibilidade e reprodutibilidade, são duas medidas extremas. Enquanto, que o último termo, a precisão intermédia é uma situação central, que funde certas características dos dois indicadores anteriores²⁷.

A precisão, é geralmente expressa através do coeficiente de variação (cv) de uma série de medições (equação 2-33). Para amostras de água residual ou de consumo, a precisão depende maioritariamente da sua matriz, do equipamento e do método em questão. Podendo variar entre 2 e 20%⁴³.

$$cv(\%) = \frac{S_i}{\bar{x}_i} \times 100 \quad (2-33)$$

Onde:

S_i = desvio padrão do nível de concentração i (equação (2-34));

\bar{x}_i = média dos valores obtidos no nível de concentração i (equação (2-35));

$$S_i = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (2-34)$$

$$\bar{x}_i = \frac{\sum_{j=1}^n x_j}{n} \quad (2-35)$$

Em que n é o número total de valores para uma dada concentração i ; x_j , representa cada valor individual, no qual $1, \dots, n$.

2.4.6.1. Repetibilidade

A repetibilidade, refere-se ao grau de concordância que os resultados apresentam, quando as condições operatórias são mantidas o mais estáveis possível. Nomeadamente, o mesmo laboratório, o mesmo analista, os mesmos reagentes, o mesmo material de medição e também curtos períodos de tempo.

As recomendações para a caracterização deste indicador, referem o teste de três concentrações a baixa, média e a alta da gama de trabalho, cada uma com pelo menos 5 repetições³⁰.

Em termos quantitativos, a repetibilidade é avaliada através do limite de repetibilidade, r (equação 2-36). Abaixo do qual, têm de estar as diferenças absolutas entre dois resultados consecutivos, com um grau de confiança, normalmente de 95%, representado matematicamente através da equação (2-37)^{27,31}.

$$r = t_{(n_i-1;\alpha)} \cdot \sqrt{2} \cdot S_{r_i} \quad (2-36)$$

$$|X_i - X_{i-1}| \leq r \quad (2-37)$$

A repetibilidade para ensaios de padrões, onde o analito seja a única substância presente, espera-se que o coeficiente de variação seja inferior a 1,3%⁴³.

Mais concretamente, para titulações potenciométricas, o método mais comum para avaliar a repetibilidade é com o coeficiente de variação. No entanto, o critério de avaliação deste parâmetro é variável, sendo o mais comum $cv \leq 5\%$ ^{33,35,42,44}.

2.4.6.2. Precisão Intermédia

A precisão intermédia, como referido anteriormente é uma medida da precisão, que envolve a deliberação dos parâmetros que se deseja alterar. Podendo ser efetuadas, análises com diferentes analistas, equipamentos, dias e também com ou sem a verificação da calibração.

O objetivo deste teste é a verificação da capacidade do método para retornar os mesmos resultados, no mesmo laboratório, aquando do término da validação.

A precisão intermédia pode ser estimada através de diversas maneiras, nomeadamente, através da determinação do desvio padrão de $n \geq 15$ medições, em condições de precisão intermédia, para uma mesma amostra ou amostras idênticas. Neste caso, a precisão intermédia, é dada pela equação (2-38).

$$S_i = \sqrt{\frac{1}{(n-1)} \sum_{k=1}^n (y_k - \bar{y})^2} \quad (2-38)$$

Onde:

S_i = Desvio padrão da precisão intermédia;

n = número de ensaios efetuados;

y_k = Resultado individual k ;

\bar{y} = média aritmética dos resultados individuais k ;

Deverá ser empregue o teste de Grubbs aos resultados, de modo a detetar algum valor aberrante, este teste encontra-se descrito no Apêndice E.

Como critério de aceitação, o DL 152/2017, define um limite de 10% para o coeficiente de variação, obtido para cada padrão.

Também deve ser cumprido a seguinte desigualdade, $S_{\text{repetibilidade}} \leq S_{\text{precisão intermédia}}^{45}$.

2.4.6.3. Reprodutibilidade

Quando se pretende, a comparação de resultados com diferentes laboratórios a reprodutibilidade é um parâmetro de importante validação. Pelo facto, de em cada laboratório, haver analistas com diferentes experiências e sensibilidades, diferentes condições ambientais (nomeadamente humidade, temperatura, luz), diferentes consumíveis e equipamentos.

Através da variação dos parâmetros referidos anteriormente, determina-se estatisticamente o grau de dispersão dos resultados, quando a metodologia é aplicada interlaboratorialmente.

2.4.7. Exatidão

A exatidão de um procedimento, avalia a concordância dos resultados obtidos em relação ao valor aceite, como de referência. Como é um critério qualitativo, a ela associa-se o termo de bias.

O *bias*, quantifica a diferença entre uma série de medições realizadas sobre uma mesma amostra com o seu valor verdadeiro. Referindo-se, aos erros sistemáticos associados à utilização do método analítico, em questão.

Este parâmetro, pode ser estimado com recurso a: (i) Materiais, com composição exatamente conhecida, nomeadamente Materiais de Referência Certificados (MCR's); (ii) comparação de resultados com um método alternativo de referência; e/ou (iii) Ensaios de fortificação.

2.4.7.1. Materiais de Referência Certificados

Os materiais de referência certificados, são uma ferramenta bastante aconselhada para avaliar a exatidão e sempre que possível, deverão ser aplicados no processo de validação.³¹

Estes materiais, possuem uma concentração conhecida, à qual está associada uma determinada incerteza. A sua análise deve ser efetuada em replicado, mínimo de cinco vezes e posteriormente com os dados devidamente tratados, comparada estatisticamente, aos valores de referência, com recurso a critérios de decisão. Entre os quais tem-se o erro relativo e índice z ('z-score'), que serão os utilizados.

O erro relativo, é expresso pela equação (2-39), em percentagem, e traduz a componente dos erros sistemáticos. O critério de aceitação, para o método de titulação potenciométrica para cloretos é de 5%⁷.

$$E_{\text{relativo}}(\%) = \frac{X_{\text{lab}} - X_{\text{ref}}}{X_{\text{ref}}} \times 100 \quad (2-39)$$

Onde X_{lab} é o valor ou a média aritmética de valores obtidos experimentalmente e X_{ref} , é o valor de referência do MCR.

A segunda forma de avaliação, é o z-score, que pretende avaliar o desempenho do laboratório, através da equação (2-40).

$$Z = \frac{X_{\text{lab}} - X_{\text{ref}}}{S} \quad (2-40)$$

Onde o S, é a unidade de desvio que pode ser a incerteza do MCR ou outra unidade de desvio interna.

O critério para avaliar o resultado, de acordo com a ISO SO/IEC 17043 é feito com a seguinte escala:

$$\begin{aligned} |Z| \leq 2: & \text{ Satisfatório} \\ 2 < |Z| \leq 3: & \text{ Questionável} \\ |Z| > 3: & \text{ Incorreto} \end{aligned}$$

Se o valor obtido, não se inserir nas regiões de aceitação acima descritas, deve-se proceder à identificação e eliminação das causas para esse desvio.

Os materiais de referência, apesar de serem uma ferramenta útil na avaliação da exatidão, têm limitações. Nomeadamente, o *bias* do método estimado com a matriz do MCR pode não corresponder, ao valor obtido para uma matriz de amostra real.²⁶

2.4.7.2. Ensaios de Recuperação

Quando não é possível a aplicação de MCR's, a alternativa passa pela fortificação de amostras ou de brancos, com uma concentração conhecida de analito. Recomenda-se que, as amostras sejam fortificadas em pelo menos três níveis de concentração, que

cubram a gama de trabalho. Para cada nível, deverão ser efetuados, no mínimo, três replicados.^{43,46}

A recuperação, obtida nos ensaios pode ser calculada, através da equação (2-41).

$$\text{Recuperação(\%)} = \frac{C_f - C_r}{C_a} \times 100 \quad (2-41)$$

Em que:

C_f = Concentração da amostra fortificada;

C_r = Concentração da amostra sem fortificação;

C_a = Concentração adicionada à amostra, com fortificação;

Os ensaios de recuperação, têm uma vantagem adicional, para além da verificação da exatidão do método, nomeadamente no efeito de matriz. Através destes testes é possível verificar se existe algum componente na matriz, que interfira com o analito de interesse e assim dar resultados incoerentes.

Por outro lado, apresenta a limitação de que ao adicionar o analito livre à amostra, este pode não estar na mesma forma da que a presente na amostra. Facilitando a análise, e resultando em recuperações otimistas.

As recuperações na titulação potenciométrica, são muito utilizadas na validação da exatidão. Estas tendem a ser na ordem dos 95-105%, dependendo da matriz a ser analisada. Mais especificamente, um artigo relativo à deteção de cloretos em cerveja, através método de potenciometria indireta, apresenta uma recuperação favorável, na faixa dos 98-103% de recuperação.^{18,47}

2.4.7.3. Comparação de métodos

Um dos métodos mais comumente utilizados pelos laboratórios, para avaliar a exatidão de um novo método, assenta na comparação deste com um método de referência já validado.

Existem duas formas de realizar este estudo. A primeira, consiste na análise de uma única amostra, pelos dois métodos, um determinado número de vezes (mínimo de seis) e posteriormente a comparação das médias através de um teste t. A vantagem desta opção, é não ser exigido o mesmo número de replicados para ambos os métodos.

No entanto, muitas das vezes não é possível a aplicação do método acima explicitado, pois ou não existe amostra suficiente ou exige longos períodos de análise. Para tal, existe uma segunda forma, o teste das amostras emparelhadas.

Este teste, cobre um determinado número de matrizes e amostras, que tem de ser igual para cada método. Neste caso, o teste t compara a média aritmética das diferenças de cada análise, e se $t_{exp} \leq t_{tab}$, então estatisticamente os resultados de ambos os métodos não apresentam desvios significativos.^{31,48}

No Apêndice E, descreve-se em pormenor o teste das amostras emparelhadas, que será o utilizado neste trabalho.

2.4.8. Robustez

A robustez, define-se como a capacidade do método de retornar os mesmos resultados para uma única amostra, quando sujeito a pequenas variações deliberadas, de um conjunto de condições experimentais, suscetíveis de ocorrerem no quotidiano de análises.

Diz-se, portanto, que um método é robusto, quando o resultado da concentração estimada é independente do valor imposto, para determinada condição experimental.

Através da variação de certos fatores, permite não só a avaliação da robustez, como também identificar que fatores terão o efeito mais significativo nos resultados, e desde modo assegurar que são controlados aquando da aplicação do método.

Um dos testes mais utilizados para determinar a robustez, é o teste de Youden. Este aplica um desenho fatorial fracionado, onde é possível estudar um elevado número de fatores, com o mínimo de experiências.

Na prática, são escolhidos os fatores, mais propícios de influenciarem o resultado, no máximo sete, e são realizadas um determinado número de experiências sobre uma amostra, normalmente até oito. Cada experiência, deverá ser realizada com replicados.

A determinação do efeito de cada fator i , efetua-se através da equação (2-42). Que relaciona os resultados obtidos pelo método, em cada ensaio⁴⁹.

$$Efeito_i = \frac{\sum \overline{Re}(+) - \sum \overline{Re}(-)}{Z} \quad (2-42)$$

Em que, i representa os efeitos, A, B, C, \dots ; $\sum \overline{Re}(+)$ e $\sum \overline{Re}(-)$, são as somas das respostas dos ensaios, em que o fator i , está no seu valor nominal (+) e no seu valor alternativo (-); e Z , corresponde a metade do número de ensaios.

Os resultados obtidos nos ensaios da robustez, podem ser avaliados por um teste F , de forma a verificar a existência de diferenças significativas da variância, os detalhes deste teste estão explicitados no Apêndice C.

2.5. Incerteza na Medição

Segundo a NP EN ISO/IEC 17025:2018, para um laboratório ser acreditado, deverá proceder à identificação e avaliação das fontes de incerteza, associada aos resultados dos métodos. Esta avaliação, tem como objetivo, evidenciar a qualidade da medição de forma, a que os resultados sejam comparáveis entre si ou a valores de referência.

A definição de incerteza, segundo o vocabulário internacional de metrologia (VIM), caracteriza-se como sendo, um parâmetro não negativo, da medição da dispersão dos resultados quantitativos, de uma determinada mensuranda.⁵⁰

Mais concretamente, a incerteza é definida por um intervalo, em torno da mensuranda, e quando menor for mais completa é a informação que se tem da medição, com um determinado grau de confiança.

Dado o seu caráter estocástico, os erros, são uma parcela inevitável do processo de medição. E, como muitas das vezes é desconhecido o seu valor, a sua consequência é criar incerteza no valor obtido que se pretende medir.

Na determinação da incerteza, deve ser considerado todo o tipo de erros que estão associados à medição. Nomeadamente os erros sistemáticos e aleatórios.

O erro aleatório, decorre das flutuações aleatórias que são observadas em diferentes ensaios, resultando na diminuição de precisão. Podem ser originados, pela falta de sensibilidade tanto do equipamento como do observador, leituras ocasionalmente incorretas ou por ruído.

Normalmente, a componente aleatória é reduzida através do aumento de observações.

Por outro lado, o erro sistemático, conduz a valores constantemente desviados, seja para valores superiores ou inferiores, do valor da grandeza a medir, contribuindo para uma menor exatidão. São resultantes do uso negligente de instrumentos e equipamentos, de métodos não adequados e leituras sistematicamente incorretas.

Ao contrário do aleatório, este erro, é independente do número de medições e, portanto, não pode ser reduzido através do aumento de ensaios, mas sim através da correta escolha do equipamento de trabalho e da regular calibração e manutenção dos mesmos.^{51,52}

2.5.1. Abordagens para a estimativa da incerteza de medição

As metodologias, mais comumente utilizadas para a determinação de incertezas na medição são: (i) abordagem “passo-a-passo”; (ii) abordagem com base em informação interlaboratorial; (iii) abordagem baseada em dados de validação ou controlo de qualidade, obtidos intralaboratorialmente; e (iv) combinação entre estas abordagens.

A estimativa da incerteza da medição, compreende certas etapas paralelas a cada abordagem, disponível na bibliografia. A figura 2.10, descreve, resumidamente, cada passo necessário para a avaliação da incerteza.

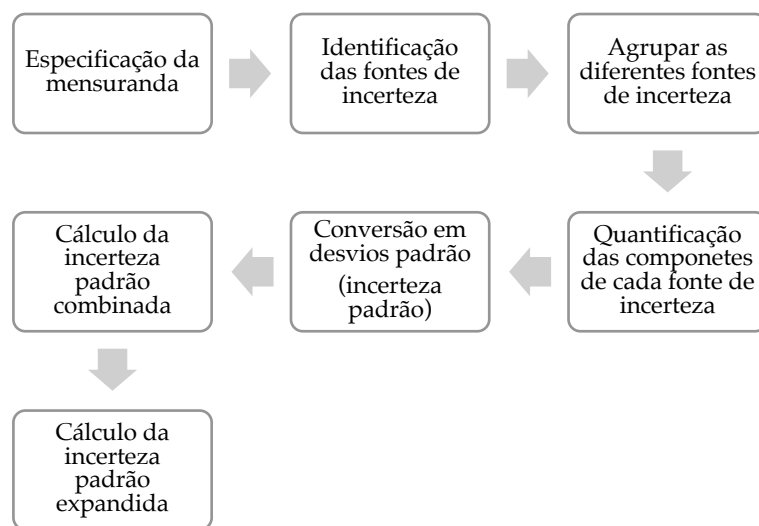


Figura 2.10-Resumo do procedimento para a estimativa da incerteza de um método

Primeiramente, deverá ser explicitado claramente o que está a ser medido, e a expressão matemática que é utilizada para o seu cálculo, relacionando a mensuranda, ou seja, o que se pretende medir, com outros parâmetros de que é dependente, nomeadamente constantes, volumes utilizados ou concentrações de reagentes.

Como, na maioria das medições, a mensuranda Y , não é calculada diretamente sendo relacionada com as N grandezas de entrada, X_1, X_2, \dots, X_N através de uma função f , representada pela equação (2-43).⁵³

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N) \quad (2-43)$$

Com a especificação da mensuranda e das grandezas de entrada que contribuem significativamente para a incerteza da medição, a próxima etapa é a identificação de todas as fontes de incerteza, que não estão representadas pela equação, que calcula o valor da mensuranda, mas que afetam os resultados de medição. Todas estas diferentes fontes deverão ser incluídas.

Uma das formas, mais convenientes e utilizadas para a representação de todas as fontes de incerteza associadas a uma medição, é o diagrama de *Ishikawa*, também chamado de diagrama de causa/efeito. Onde na ramificação principal, são representados os parâmetros presentes na expressão de cálculo da mensuranda bem como determinados parâmetros de validação do método, nomeadamente a repetibilidade e a exatidão do método e do laboratório. E nas ramificações secundárias, evidencia-se as incertezas associadas a cada ramificação principal.

Apesar da relevância dada, à representação de todas as fontes de incerteza, não deixa de ser importante o reconhecimento que nem todos os componentes incluídos terão uma contribuição significativa na incerteza combinada. Deverá ser feita uma avaliação preliminar e os que não forem significativos, poderão ser eliminados.

Após a identificação de todas as fontes de incerteza, o passo seguinte será a sua quantificação. A sua quantificação dependerá, evidentemente, dos dados disponíveis no que toca, ao desempenho do método quando sujeito a diversos cenários.

2.5.2. Quantificação da Incerteza

Existem vários cenários possíveis, de onde se podem retirar dados para a estimativa das incertezas sendo os principais: (i) ensaios a materiais de referência certificados; (ii) dados de colaborações interlaboratoriais; e (iii) dados obtidos do desenvolvimento e validação do método⁵².

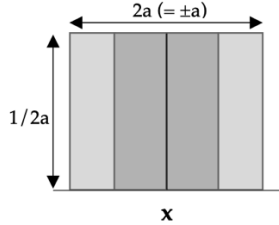
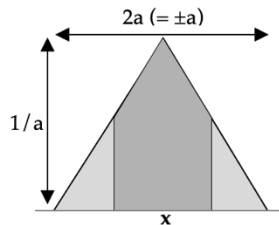
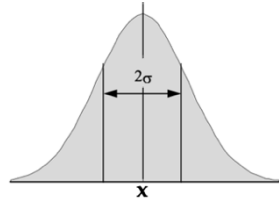
A incerteza de uma medição consiste, como já foi referido, em vários componentes e estes podem ser agrupados em dois grupos, dependendo da sua forma de cálculo.

Tem-se a incerteza do tipo A, que consiste na avaliação da incerteza, por métodos estatísticos, de n séries repetições realizadas. Os componentes desta categoria, são determinados por meio de médias aritméticas (2-35) e desvios padrões (2-36). A avaliação desta incerteza é aplicada para erros sistemáticos e aleatórios.⁵⁴

Por outro lado, a incerteza do tipo B, avalia a incerteza através de métodos não estatísticos. As incertezas padrão nesta categoria, são determinados a partir de funções de densidade de probabilidade, com base em informações específicas disponíveis, nomeadamente certificados de medição e calibração, especificação dos reagentes, materiais e equipamentos, e/ou então dados retirados da bibliografia.

Na tabela 2.7, distinguem-se as principais funções de densidade na avaliação das incertezas do tipo B.

Tabela 2.7-Cálculo das incertezas padrão, a partir das funções de distribuição mais importantes
(Fonte: Adaptado de ⁵⁰)

Tipo de função de densidade de probabilidade	pro-	Incerteza	Utiliza-se quando:
Retangular		$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$	<ul style="list-style-type: none"> - A estimativa se baseia na forma de um intervalo ($\pm a$), onde é desconhecido o tipo de distribuição. - Certificados ou outras especificações, onde são dados os limites sem um intervalo de confiança. (100mL \pm 0,5mL)
Triangular		$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$	<ul style="list-style-type: none"> -A informação relativa a x é menos limitada que na distribuição retangular. Na medida, em que é mais provável a obtenção de valores mais próximos de x, que das extremidades. -Exemplo: Balão volumétrico (100mL \pm 0,5mL), para o qual existe uma tendência central.
Normal		$u(x) = s$ $u(x) = x \cdot \left(\frac{s}{\bar{x}}\right)$ $u(x) = x \cdot \frac{\%CV}{100}$ $u(x) = c/2$ (com c a 95%)	<ul style="list-style-type: none"> - Uma estimativa é feita através de repetições de medições. -A incerteza é dada sob a forma de desvio padrão s, desvio padrão relativo, s/\bar{x} ou percentagem do coeficiente de variação (%) cv. -A incerteza é dada na forma de um intervalo de confiança $x \pm c$, sem especificação da distribuição.

2.5.3. Abordagem “passo-a-passo” baseada nos dados de validação

O agrupamento das fontes de incerteza pode ser efetuado usando a abordagem “passo-a-passo” e a abordagem baseada em dados da validação e/ou controlo da qualidade do método analítico, recolhidos em ambiente intralaboratorial.

Esta abordagem, consiste na avaliação de cada incerteza associada às componentes que fazem parte integrante, da equação para a determinação da mensuranda, combinando também, dados da validação intralaboratorial, de forma a avaliar o desempenho do método em termos de precisão e exatidão⁵¹.

Normalmente, as componentes que apresentam a maior influência, na incerteza do método, são a precisão e exatidão.

De seguida, irá ser descrito o procedimento para a estimativa das incertezas tanto individuais, como as relativas aos dados de validação (precisão e exatidão).

2.5.3.1. Incerteza associada à preparação de uma solução padrão

A preparação de uma solução padrão, contempla a combinação de várias fontes de incerteza através da equação (2-44), descritas de seguida:

- (a) Incerteza associada à pesagem $u(m)$;
- (b) Incerteza associada à pureza $u(pur)$;
- (c) Incerteza associada ao volume $u(V)$;
- (d) Incerteza associada à massa molecular $u(MM)$;

$$u(C_{padr\tilde{a}o}) = C_{padr\tilde{a}o} \times \sqrt{\left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(pur)}{pur}\right)^2 + \left(\frac{u(V)}{V}\right)^2 + \left(\frac{u(MM)}{MM}\right)^2} \quad (2-44)$$

A quantificação destas incertezas, dá-se de acordo, com a abordagem “passo-a-passo”.

(a) Incerteza associada à pesagem

A incerteza associada a uma pesagem, resulta da combinação da incerteza de duas componentes. A incerteza relativa à calibração da balança e à repetibilidade da pesagem.

A incerteza da calibração, pode ser estimada por excesso, recorrendo ao erro máximo admissível (EMA) da pesagem, com a equação (2-45). Considera-se, como critério de aceitação, que a soma do módulo do erro de medição da balança com a incerteza expandida associada à calibração da mesma tem de ser menor ou igual que o valor absoluto do EMA³¹.

Como a pesagem é feita com tara, a incerteza da pesagem está associada à diferença entre a medição da massa bruta e da massa com tara. Ambas as medições são independentes em termos de repetibilidade e linearidade da resposta, por esta razão as componentes referidas anteriormente são contabilizadas duas vezes.

Normalmente, o termo da incerteza da repetibilidade é calculado posteriormente, em conjunto com outras componentes responsáveis pela precisão da medição, simplificando a equação (2-45)³¹.

$$u(massa) = \sqrt{2\left(\frac{EMA}{\sqrt{3}}\right)^2 + 2(u_{rep})^2} = \sqrt{2\left(\frac{EMA}{\sqrt{3}}\right)^2} \quad (2-45)$$

(b) Incerteza associada à pureza

A incerteza relativamente à pureza, pode ser estimada assumindo que os resultados seguem uma distribuição retangular, através da equação (2-46).

$$u(pureza) = \frac{Toler\hat{a}ncia}{\sqrt{3}} \quad (2-46)$$

Se no certificado do fornecedor do reagente, for dada a incerteza da pureza na forma expandida, aplica-se a equação (2-47). De forma, a transformá-la em incerteza padrão, através do quociente entre a incerteza expandida e o fator de expansão (k) utilizado.

$$u(\text{pureza}) = \frac{\text{Incerteza expandida (pureza)}}{k} \quad (2-47)$$

Esta equação, poderá ser utilizada para a estimativa da incerteza de qualquer equipamento, desde que no certificado estejam explicitados, os parâmetros necessários.

(c) Incerteza associada ao volume

A medição do volume, por materiais volumétricos, compreende três principais componentes, que combinados através da equação (2-48), resultam na incerteza do volume medido.

$$u(\text{volume}) = \sqrt{(u_v^{\text{calib}})^2 + (u_v^{\text{rep}})^2 + (u_v^{\text{Temp}})^2} \quad (2-48)$$

A primeira componente corresponde à incerteza associada com a calibração/EMA/ tolerância do material volumétrico. Geralmente, esta incerteza é quantificada através da tolerância do material assumindo uma distribuição retangular, com a equação (2-49).

$$u_v^{\text{calib}} = \frac{\text{Tolerância}}{\sqrt{3}} \quad (2-49)$$

A componente associada à incerteza da variação da temperatura no laboratório, calcula-se através da equação (2-50). Esta componente, não é considerada quando o laboratório opera num ambiente climatizado, e cuja oscilação em torno da temperatura de referência (normalmente 20 °C), não excede os ± 3 °C.

$$u_v^{\text{Temp}} = \frac{V \times \Delta T \times \gamma}{\sqrt{3}} \quad (2-50)$$

Novamente, a componente relativamente à repetibilidade de medição volumétrica é quantificada conjuntamente com as outras componentes responsáveis pela precisão.

(d) Incerteza associada à massa molecular

Para a quantificação da incerteza, relativa à massa molecular, foi utilizada a tabela disponibilizada, pela IUPAC, que retrata a incerteza para a massa molecular dos elementos da tabela periódica⁵⁵. Assume-se, que a incerteza da massa molar, segue a função de distribuição retangular, e o seu cálculo é dado pela equação (2-51).

$$u_{MM_i} = \sqrt{\sum \left(\frac{\text{Incerteza}_{MM_i}}{\sqrt{3}} \right)^2} \quad (2-51)$$

2.5.3.2. Incerteza associada à diluição de uma solução

Quando se realiza, uma diluição, a esta existe uma incerteza associada. As componentes que contribuem para o seu aparecimento são a concentração da solução mãe, $C_{sol.mãe}$, o volume de solução mãe necessário, $V_{sol.mãe}$, e o volume final da solução diluída, V_{final} . A combinação destas incertezas resulta na equação (2-52), que pode ser utilizada para a estimativa da incerteza associada à concentração de uma solução diluída.

$$u_{C_{dil}} = C_{dil} \times \sqrt{\left(\frac{u_{C_{sol.mãe}}}{C_{sol.mãe}}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{sol.mãe}}}{V_{sol.mãe}}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{final}}}{V_{final}}\right)^2} \quad (2-52)$$

2.5.3.3. Incerteza associada à precisão

Quando um procedimento de cálculo, é associado a um método analítico, a incerteza combinada terá uma outra componente associada à precisão. Normalmente, é esperado que esta componente tenha um grande peso na incerteza global do método, pelo que, é de grande importância o seu devido cálculo, em todo o âmbito de aplicação do método em causa.

Por esta razão, esta incerteza deverá ser avaliada em condições de precisão intermédia ou de repetibilidade, sendo a primeira mais aconselhada pois representa melhor eventuais variações do desempenho quer do laboratório quer do método, face a possíveis alterações dos parâmetros experimentais.

Para o seu cálculo, poderão ser utilizadas diversas ferramentas, nomeadamente dados obtidos de controlo de qualidade, nos quais se destacam a replicação de amostras, e/ou dados associados ao uso de padrões de controlo.

Como muitas das vezes, os padrões de controlo, não são totalmente representativos da real matriz das amostras, no que toca à dispersão de resultados, sempre que possível deverá ser associada a incerteza obtida de amostras reais³¹. Esta associação é feita através da equação (2-53).

$$u_{precisão} = \sqrt{(u'_{prec,amostra})^2 + (u'_{prec,PC})^2} \quad (2-53)$$

Em que a incerteza padrão associada à precisão da repetição de amostras é calculada pela equação (2-54) e a incerteza padrão relativa associada à precisão, a partir de padrões de controlo / materiais de referência, pela equação (2-55).

$$u_{prec,amostra} = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n (y_{jk} - \bar{y}_j)^2}{t(n-1)}} \quad (2-54)$$

Em que:

t= número de amostras analisadas n vezes;

n=número de repetições;

y_{jk} =resultado individual do replicado k da amostra j;

\bar{y}_j =Média aritmética dos resultados dos n ensaios sobre a amostra j;

Esta incerteza pode ser dada na forma de incerteza padrão relativa, pela divisão pelo valor médio da mensuranda considerada.

A equação (2-55), representa a incerteza padrão relativa associada ao coeficiente de variação da medição dos padrões, em relação a um valor médio y .

$$u'_{\text{preci,PC}} = \frac{S_{\text{precisão}}}{y} \quad (2-55)$$

Esta forma de estimação da incerteza relativa à precisão, sobrestima os valores, no entanto, caracteriza de forma apropriada a real dispersão envolvida em torno da precisão do método.

2.5.3.4. Incerteza associada à exatidão

A norma ISO 11352, sugere formas de avaliação da incerteza da exatidão do método e do laboratório, com base na estimativa dos erros sistemáticos. Uma das técnicas mais utilizadas pelo laboratório, para avaliar a incerteza da exatidão, em termos de erros sistemáticos, são através de dados de ensaios de recuperação.

Esta, pode ser avaliada através da combinação das seguintes componentes: (i) Amplitude entre os valores observados e os valores de referência usados nos ensaios de recuperação, b_{RMS} ; e, (ii) Incerteza padrão da concentração de analito adicionado, u'_{ad} . Esta associação resulta na equação (2-56).

$$u'_{\text{exatidão}} = \sqrt{b_{RMS}^2 + u'_{ad}{}^2} \quad (2-56)$$

Para esta metodologia, devem ser analisadas pelo menos 6 amostras diferentes, pois a confiança no valor da incerteza cresce com o número de ensaios³¹.

O valor médio quadrático das diferenças relativas, b_{RMS} , foi calculado pela equação (2-57).

$$b_{RMS} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_{\eta}} (b'_i)^2}{n_{\eta}}} \quad (2-57)$$

Em que:

b'_i = desvio da recuperação calculada, obtida pela equação (2-58);

n_{η} = número de recuperações consideradas;

$$b'_i = \frac{\eta_i - \eta_{\text{médio}}}{\eta_{\text{médio}}} \quad (2-58)$$

Em que:

η_i = valor da recuperação individual;

$\eta_{\text{médio}}$ = valor da recuperação média;

A componente de incerteza da concentração, pode ser calculada pela combinação da incerteza padrão relativa, associada ao volume de fortificação adicionado, u'_v , com a incerteza padrão relativa da concentração da solução de fortificação, u'_{conc} , através da equação (2-59). Esta última, pode ser obtida através do certificado caso seja MRC ou pelo

método descrito no subcapítulo 2.5.3.1 Incerteza associada à preparação de uma solução padrão.

$$u'_{ad} = \sqrt{u'_V{}^2 + u'_{conc}{}^2} \quad (2-59)$$

2.5.4. Incerteza padrão combinada

A avaliação da incerteza padrão combinada, dá-se através da Lei de Propagação de Incertezas⁵¹. As componentes das incertezas quando aplicadas a vários níveis de concentração, devem ser contabilizadas, na forma de incertezas padrão relativas.

Quando expressão de cálculo da mensuranda, envolve multiplicações e/ou divisões das grandezas de entrada, a equação utilizada para o cálculo da incerteza combinada, é dada pela (2-60), através da raiz quadrada da soma dos quadrados de todas as incertezas da medição.

$$u(y) = y \sqrt{\left(\frac{u_X}{X}\right)_i^2 + \dots + \left(\frac{u_X}{X}\right)_n^2 + (u'_k)_j^2 + \dots + (u'_k)_t^2} \quad (2-60)$$

2.5.5. Incerteza expandida

De modo, a satisfazer as necessidades de algumas aplicações industriais e comerciais, pode ser necessário aumentar o nível de confiança no resultado da medição. Isto é feito, através da incerteza expandida U , obtida através da equação (2-61), com a multiplicação da incerteza combinada por uma constante, chamada de fator expansão, k .

$$U(y) = k \cdot u(y) \quad (2-61)$$

A escolha do fator de expansão envolver duas componentes, a escolha do nível de confiança desejado e conhecimento subjacente das distribuições de probabilidades.

Normalmente, é utilizado o valor de $k=2$, que corresponde a um nível de confiança de 95%, no entanto pode não ser suficiente quando os graus de liberdade são insuficientes ($n < 6$). Sendo que, valor do fator de expansão depende dos graus de liberdade.

O DL 152/2017, refere um valor mínimo, igual ou inferior a 15% do valor paramétrico, para a incerteza expandida, de um método de deteção de cloretos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo, irão ser abordados os equipamentos, materiais e reagentes a utilizar para a determinação da concentração de cloretos, em várias matrizes de água. Bem como, a metodologia experimental e respetiva otimização.

3.1. Equipamento e Materiais

O método para a análise de cloretos através de potenciometria indireta, reúne vários equipamentos importantes para a sua realização, estes estão descritos na tabela 3.1.

Tabela 3.1-Equipamento utilizado para a determinação

Função	Equipamento
Titulador Automático	Titralab AT1000 Series
Eléctrodo	Eléctrodo combinado de prata Intellical MTC306
Amostrador automático	Alternador de amostras Titralab AS1000 Series, 12 Posições
Balança analítica	Mettler -Toledo (Modelo: MS204TS/00)
Estufa eléctrica	Firlabo (Modelo: Air concept)

A par dos equipamentos, para a execução do método são necessários diversos materiais e instrumentos de medição, descritos nas tabelas 3.2 e 3.3.

O método cromatográfico, é composto por diversos equipamentos sendo os mais importantes descritos na tabela 3.4.

Tabela 3.2-Materiais necessários para a determinação e validação do método potenciométrico- Parte1

Materiais	Volume	Dimensões	Incerteza
Copos Volumétricos de polipropileno	150mL	-	-
Agitadores magnéticos teflon	-	20 x 6 mm	-
Bureta	10mL	-	±0,05mL
Bomba Peristáltica	-	-	-
Balões Volumétricos	100mL	-	±0,1mL
	1000mL	-	±0,4mL
Pipetas Volumétricas	5mL	-	±0,015mL
	20mL	-	±0,03mL
	25mL	-	±0,03mL
	50mL	-	±0,05mL
	100mL	-	±0,08mL

Tabela 3.3-Materiais necessários para a determinação e validação do método potenciométrico- Parte 2

Materiais	Volume	Dimensões	Incerteza
Micropipetas Calibradas	100-1000 μ L 500- 5000 μ L	-	Calibração:
			100 \pm 0,61 μ L
			500 \pm 0,64 μ L
			1000 \pm 0,84 μ L
			500 \pm 3,1 μ L
2500 \pm 3,2 μ L			
5000 \pm 3,2 μ L			
Pontas Para Micropipeta: 1ml e 5ml	1mL 5mL	-	-
Proveta Calibrada: 100ml	100mL	-	\pm 0,5mL
Tubagem para sucção e dispensação de titulante	-	-	-
Tubagem para sucção e dispensação de ácido	-	-	-
Frasco De Vidro Âmbar: 1000ml	1000mL	-	-
Exsicador de vidro	-	-	-

Tabela 3.4- Material integrante do cromatografo

Equipamento	Modelo	Marca	Dimensões
Pré-coluna	AG14	Dionex	4 x 50 mm
Coluna de separação	AS14	Dionex	4x250 mm
Cromatografo iônico	DX-120	Dionex	-

3.2.Reagentes

Em relação, aos reagentes essenciais à medição, a tabela 3.5 e 3.6, explicita todos os reagentes utilizados ao longo do estudo. Como titulante foram utilizadas duas concentrações mãe 0,1 e 1mol/L para a preparação da solução objetivo. Antes da titulação é adicionado um volume de pré reagente, acido nítrico 65%. Para a preparação de padrões de cloreto, é utilizado cloreto de sódio em sal.

Tabela 3.5-Reagentes utilizados e as suas respectivas propriedades - Parte 1

Reagentes	Solubilidade		
	em água (g/L) 20°C	Pureza	Incerteza
Solução AgNO ₃	-	-	\pm 0,05%
	-	-	\pm 0,2%
KNO ₃	-	-	-
HNO ₃	-	-	-
NaCl	358	99-100,5%	-
H ₂ O desmineralizada	-	-	-

Tabela 3.6-Reagentes utilizados e as suas respectivas propriedades - Parte 2

Reagentes	Concentração	Volume (mL) /Peso(g)	Marca	Densidade (g/cm ³) 20°C	Massa molar (g/mol)	CAS
Solução AgNO ₃	1 mol/L	1000mL	Supelco	4,35	169,87	7761-
	0,1 mol/L	1000mL	VMR	1,27	169,87	88-8
KNO ₃	1 mol/L	59mL	Hach	-	101,10	-
HNO ₃	65%	1000mL	Sigald	1,4	63,01	7697-37-2
NaCl	-	500g	Merck	2,17	58,44	7647-14-5
H ₂ O desmineralizada	-	-	Mili-Q IX7010	-	-	-

3.3. Matrizes estudadas

As matrizes de água que serão analisadas neste trabalho serão águas residuais tratadas e brutas, águas naturais de meios recetores, água natural doce subterrânea (furos) e água de consumo humano.

A água residual que é encaminhada para uma ETAR denomina-se de afluente bruto. Este caracteriza-se, por ser uma matriz bastante complexa química e biologicamente, exibindo geralmente, uma elevada carga de matéria sólida.

Após todo o tratamento que é submetida na ETAR, para que possa ser descarregada com segurança, passa a denominar-se de efluente tratado. Esta matriz, dependendo do tratamento, possui baixo teor de conteúdo sólido.

Quando, o efluente tratado é descarregado no ambiente, análises periódicas ao meio recetor são efetuadas, para verificar se é necessário atuar, caso algum composto que possa prejudicar a fauna e flora, esteja em excesso.

Outra matriz analisada, será água natural subterrânea, ou seja, de furos. Esta não é submetida a nenhum tratamento, apenas é analisada para que se verifiquem os parâmetros necessários, para a sua utilização em segurança.

3.4. Preparação dos reagentes

Na validação do método de titulação potenciométrica, foi utilizado nitrato de prata 0,02M como titulante, e como pré-reagente, para eliminar alguns interferentes foi utilizado ácido nítrico 1M. Nos pontos (1) e (2), descreve-se a sua preparação.

- (1) **0,02M AgNO₃**: A solução de nitrato de prata de 0,02M, foi preparada através da diluição da solução mãe de 1M ou 0,1M. Num balão volumétrico de 1000mL, foi pipetado através de uma pipeta volumétrica 20mL ou 200mL de solução mãe, dependente da sua concentração e foi perfeito com água desionizada.

Para a titulação, é transferido para um recipiente escuro, pois quando exposto à luz ocorre a sua hidrólise, sendo, portanto, importante ser armazenado em frascos âmbar.

- (2) **1M HNO₃**: Numa hote, a preparação da solução de 1mol/L, consiste na medição de 78mL de ácido nítrico (65%), com uma proveta de 100mL, para 800mL de água desionizada, num balão volumétrico de 1000mL e ajustar o volume com água desionizada.

Esta reação é altamente exotérmica, por esta razão o ácido é sempre adicionado à água, e não o contrário, pois poderá libertar vapores ou salpicar.

3.4.1. Preparação das soluções padrão

Para as cinco soluções da reta de trabalho, foi preparada a solução mãe de cloretos com uma concentração de 1000 mg Cl⁻/L.

Antes de ser pesada a massa necessária, o cloreto de sódio em sal, foi colocado na estufa a 105°C, durante duas horas para remover qualquer molécula de água presente ou impurezas e colocado posteriormente, no exsiccador até arrefecer à temperatura ambiente.

Para a solução de 1000 mg/L de cloretos, foram pesadas 1,6485g de NaCl e dissolvidas em 1000L de água desionizada, usando um balão volumétrico.

As soluções de trabalho, foram preparadas em balões volumétricos de 100mL. Na tabela 3.7, é explicitado o volume de solução mãe necessário, para atingir a diluição desejada. Para as concentrações 71 e 142mg/L, é utilizada uma micropipeta de 0,5-5mL e para as restantes concentrações, são utilizadas pipetas volumétricas de 20 e 25, juntamente com a micropipeta de 0,5-5mL.

Tabela 3.7-Concentrações dos padrões de trabalho e respetivo volume de preparação a partir do padrão de 1000mgCl/L

Concentração de Padrão de trabalho(mg/L)	Concentração do Padrão mãe (mg/L)	Volume necessário do padrão mãe para 100mL (mL)
71	1000	7,1
142		14,2
213		21,3
285		28,5
355		35,5

As concentrações dos padrões de trabalho, foram escolhidos tendo em atenção o volume do copo volumétrico. Visto que este tem 150 mL, as concentrações têm de ser escolhidas tendo em conta o volume de titulante que terá de ser gasto para a determinação do ponto de equivalência, sem que haja transbordo.

3.4.2. Preparação da solução padrão de calibração de titulante

Numa titulação, a calibração do titulante é de extrema importância para que titulações com resultados exatos e fidedignos sejam obtidos. Esta calibração, tem como objetivo a determinação do valor exato de concentração do titulante e deverá ser realizada sempre que nova solução seja preparada ou dependendo da frequência de análises.

Para a calibração da solução 0,02M de nitrato de prata, com o sal de cloreto de sódio previamente desidratado, pesa-se 1,1688g e dissolve-se num balão volumétrico de 1000mL com água desionizada.

3.5. Procedimento analítico para a determinação de cloretos

A metodologia, considerada para a determinação de cloretos é uma conjugação de vários procedimentos elaborados para este fim.

O volume de amostra ou padrão a ser pipetado, com uma pipeta volumétrica é de 100mL, para um copo volumétrico de 150mL. Este foi o volume eleito, pois com os copos volumétricos disponíveis, com um volume menor, nomeadamente 50mL, não seria possível mergulhar o eletrodo na totalidade (a junção tem de estar emersa), podendo gerar medições incorretas.

São colocadas as amostras preparadas no amostrador de 12 posições, juntamente com agitadores magnéticos e dois copos volumétricos de lavagem nas posições 11 e 12, a disposição do amostrador conectado com o titulador, é demonstrada pela figura 3.1.



Figura 3.1- Montagem do titulador automático conectado ao amostrador

(Fonte: <https://www.hach.com/titration-systems/automatic-titrators-application-specific-systems/family?productCategoryId=35547627766>)

O eletrodo que irá medir o potencial da titulação, representado pela figura 3.2, é colocado no módulo do amostrador, juntamente com a tubagem que transporta o titulante e o pré-reagente, para a amostra.



Figura 3.2- Eléctrodo combinado de prata com pino poroso utilizado nas medições

(Fonte: <https://www.hach.com/intellical-mtc306-combined-silver-metal-electrode-for-at1000-argentometry-titrations/product?id=26305549671&callback=qs>)

A titulação é programada num computador, com recurso a um software, que possibilita a planificação da quantidade de amostras a titular, bem como dar início ou fim à análise.

A titulação é iniciada com a dupla lavagem do eléctrodo, após este passo o amostrador automático, posiciona-se no lugar programado para a amostra e adiciona 2mL de ácido nítrico 1M à amostra, para que esta fique com um pH de 1 a 3.^{7,56}

Automaticamente, o agitador magnético inicia durante 10 segundos, antes da adição de titulante, para homogeneizar a amostra.

A titulação, realiza-se em modo dinâmico, com uma bureta de 10mL, onde o primeiro 1mL é adicionado de 0,1 em 0,1mL e se não for verificada variação rápida de potencial, o titulador inicia o modo rápido, em que adiciona incrementos de 1mL até se verificar a variação de potencial acentuada, altura em que diminui novamente o volume adicionado para 0,1mL, para que o ponto final seja determinado com exatidão.

O software utilizado, mostra o traçado da curva de titulação, como demonstra a figura 3.3. Na figura, é representado o volume em função do potencial e o volume em função da primeira derivada.

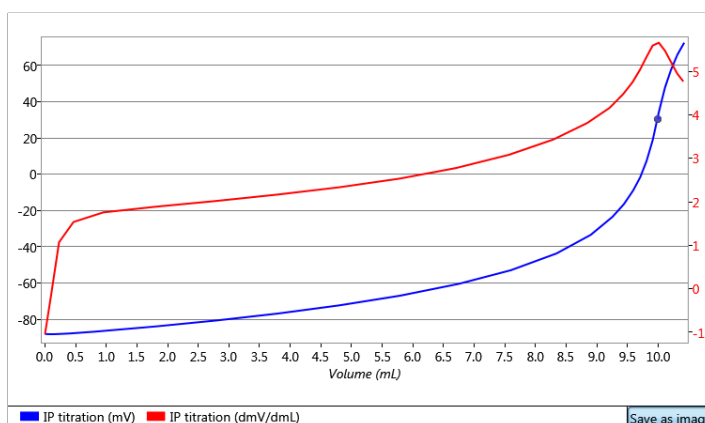


Figura 3.3-Exemplo de um gráfico de titulação com a respetiva derivada

Os resíduos da titulação, ou seja, o cloreto de prata formado é colocado em recipientes apropriados e enviado para tratamento de resíduos, pelo facto de ser prejudicial para o ambiente.

3.6. Metodologia para a otimização do Método

A titulação apesar de ser um método relativamente simples, possui determinados parâmetros que afetam a qualidade da determinação do ponto de equivalência e consequentemente a quantificação da concentração de cloretos.

A otimização, baseou-se na avaliação dos dados recolhidos da bibliografia, relacionada com o método em questão. Como tal, os parâmetros analisados foram: (i) adição de diferentes incrementos de titulante, na titulação dinâmica; (ii) velocidade de agitação da amostra; e (iii) comportamento da resposta do eletrodo.

3.6.1. Titulação dinâmica

Na titulação dinâmica, foram testados dois incrementos para a área da titulação antes do ponto de equivalência e outros dois nas proximidades do ponto de equivalência. Os incrementos escolhidos estão descritos na tabela 3.8.

Tabela 3.8-Incrementos utilizados na otimização da titulação dinâmica

Antes do PE	Durante o PE
2mL	0,2mL
1mL	0,1mL

Experimentalmente, foram realizados cinco ensaios para cada concentração da gama de trabalho. E analisada tanto a dispersão que os dos valores obtidos em relação à concentração real, como o formato da própria curva.

3.6.2. Velocidade de Agitação

A agitação da amostra, é de grande importância em métodos titulométricos. Neste trabalho, foram testadas três velocidades de agitação 10%, 25% e 40%.

As cinco concentrações da gama de trabalho, foram analisadas oito vezes cada, para as três velocidades de agitação definidas. A avaliação dos resultados, foi efetuada, novamente, através da dispersão de resultados em relação ao valor real de cloretos.

3.6.3. Comportamento da resposta do eletrodo

Na seguinte tabela 3.9, estão representados os critérios escolhidos para a avaliação do comportamento do eletrodo, durante a medição. De forma, a que fosse escolhido os parâmetros, que melhores resultados apresentassem.

Tabela 3.9-Parâmetros para a medição de potencial

Duração da titulação	Tempo mínimo de estabilização (s)	Tempo máximo de estabilização (s)	Critério de estabilidade (mV/min)
Rápida	1	5	50
Média	2	15	20
Exata	5	20	10

Para este parâmetro de otimização, apenas se analisou os limites da gama de trabalho, 71 e 355 mg Cl⁻/L. Para cada conjunto de critérios, que resultam numa titulação rápida, média ou exata, repetiu-se cinco vezes cada concentração.

A avaliação dos resultados, efetuou-se através do erro relativo calculado para cada conjunto.

3.7. Metodologia para a validação

Nos tópicos subsequentes, será descrito o procedimento para cada parâmetro da validação do método.

3.7.1. Seletividade

No caso da titulação potenciométrica de cloretos, a seletividade foi determinada, em conjunto, com os ensaios de recuperação, no parâmetro da exatidão, no subcapítulo 3.7.5 Exatidão.

3.7.2. Linearidade

Para o estudo da linearidade da gama de trabalho escolhida, adotou-se o seguinte procedimento:

- Preparação de dez repetições, para as cinco concentrações padrão: 71, 142, 213, 284 e 355 mg Cl⁻/L, o modo de preparação está descrito no capítulo 3.4.1 Preparação das soluções padrão;
- A análise de cada padrão foi efetuada nas mesmas condições;

Para a avaliação da linearidade, foram representados graficamente os resultados da concentração de cloretos, em função do volume de titulante gasto. Para cada curva de trabalho, foi aplicado o método dos mínimos quadrados e calculado o coeficiente de correlação e determinação.

A linearidade propriamente dita, foi avaliada através do método de *Rikilt e Mandel*.

Neste capítulo, foi avaliada também a gama de trabalho escolhida, através do teste de homogeneidade de variâncias.

3.7.3. Limiares analíticos

Os limiares do método foram avaliados através da análise de brancos, padrões vestigiais e pelo desvio padrão residual da curva de trabalho.

Foram preparados 45 brancos, ao longo de vários dias de trabalho, a preparação envolveu unicamente a medição de 100mL de água desmineralizada. A análise dos brancos, foi efetuada sempre nas mesmas condições.

A preparação dos padrões vestigiais, envolveu a testagem de várias concentrações decrescentes a partir do padrão de 1 000 mg Cl⁻/L, nomeadamente: 1, 2, 3, 4, 5, 19 e 20mg Cl⁻/L, o modo de preparação está descrito no capítulo 3.4.1 Preparação das soluções padrão. A sua análise, foi efetuada nas mesmas condições.

Os desvios padrão residuais das curvas de trabalho, foram obtidas através do método dos mínimos quadrados, para as 10 curvas determinadas.

Os resultados de cada metodologia, foram comparados com os critérios enumerados no capítulo 2.4.5 Limiares Analíticos.

3.7.4. Precisão

A precisão foi avaliada através da repetibilidade e da precisão intermédia.

Repetibilidade

A repetibilidade, foi avaliada em todas as cinco concentrações da gama de trabalho com dez repetições para cada padrão, o modo de preparação está descrito no capítulo 3.4.1 Preparação das soluções padrão. Utilizou-se o limite de repetibilidade, de forma a

concluir se a precisão, em condições estáveis, ou seja, mesmo laboratório, equipamento, reagentes e operador, era verificada.

Precisão Intermédia

A precisão intermédia, por outro lado, foi analisada nos limiares da gama de trabalho, 71 e 355 mg Cl⁻/L. O procedimento, foi realizado em seis dias, fazendo variar o operador e a bureta utilizada. Cada análise foi efetuada em duplicado. A precisão intermédia, foi avaliada através do coeficiente de variação.

3.7.5. Exatidão

Para avaliar a exatidão, recorreu-se a três metodologias: materiais de referência certificados, ensaios de recuperação e comparação de métodos.

Materiais de Referência Certificados

A exatidão foi testada através de um MRC de matriz de águas de consumo. Foram pipetados 50mL de MRC, para um balão volumétrico de 100mL. A análise foi efetuada em triplicado.

Para avaliar, a performance do método aplicou-se o erro relativo e o fator de desempenho Z, de acordo com as equações explicitadas, no capítulo 2.4.7.1 Materiais de Referência Certificados.

Ensaio de Recuperação

As matrizes que foram sujeitas a testes de recuperação, foram duas amostras de águas residuais tratadas e brutas, e uma natural subterrânea.

As amostras foram fortificadas com três níveis de concentração de cloretos, preparadas a partir do padrão de 1000mg Cl⁻/L. Os níveis escolhidos foram 10%, 25% e 50% da concentração de cloretos da amostra sem fortificação. Para que, para amostras com concentrações mais elevadas o volume de titulante + volume da amostra, não transpõem o copo volumétrico. Cada amostra fortificada, foi analisada cinco vezes.

Para as matrizes de águas residuais brutas, foram realizadas diluições de 1:2, em balões de 100mL. Foi utilizada uma proveta de 50mL, pelo facto destas amostras apresentarem partículas solidas em suspensão. Nas restantes matrizes, foi pipetado um volume de 100mL.

Importante referir, que antes de ser retirado qualquer volume das amostras, estas têm de ser agitadas vigorosamente.

A percentagem de recuperação em cada nível, foi calculada a partir da equação (2-41).

Foi também avaliada, a seletividade do método para estas matrizes.

No caso em questão, considerou-se um intervalo de $100 \pm 15\%$, para os ensaios de recuperação em amostras.

Comparação de métodos

Para a comparação dos resultados do método potenciométrico com os da cromatografia iónica, foi empregue o teste t das diferenças (amostras emparelhadas). Todos os resultados obtidos no método cromatográfico, foram fornecidos pelo laboratório.

A matriz de água que foi sujeita a este teste, foi a água residual ET e AB.

3.7.6. Robustez

Na validação da robustez foram avaliados sete parâmetros, nomeadamente a marca e a concentração do titulante, o volume de amostra, a velocidade de agitação, a lavagem dos copos volumétricos onde ocorre a titulação com ácido, a utilização de frasco âmbar para armazenar o nitrato de prata, a temperatura das amostras analisadas e a forma do ácido ser adicionado.

Estes fatores, foram escolhidos com base, no que é a rotina de análises de um laboratório e em particularidades do próprio método.

A matriz sujeita ao teste de robustez, foi de água natural subterrânea de um furo. Foram realizadas oito experiências, em que se realizou seis réplicas de cada uma.

Na tabela 3.10, estão descritos os parâmetros avaliados e o seu respetivo valor normal e a variação que foi efetuada. O planeamento das oito experiências, está explicitado na tabela 3.11.

Tabela 3.10-Fatores escolhidos para a análise da robustez

Fatores		Normal (Maiúscula)	Varição (Minúscula)
A/a	Solução de AgNO ₃	Solução 1M Merck	Solução 0,1 VWR
B/b	Volume de amostra	100mL	98mL
C/c	Velocidade de agitação	25%	20%
D/d	Lavagem dos copos com Ácido	Sim	Não
E/e	Utilizar recipiente escuro para AgNO ₃	Sim	Não
F/f	Temperatura das amostras	<25°C	25°C
G/g	Adicionar ácido	Bomba	Micropipeta

Tabela 3.11-Planeamento das experiências de robustez

Ensaio	1	2	3	4	5	6	7	8
Fator								
A/a	Solução 1M Merck	Solução 1M Merck	Solução 1M Merck	Solução 1M Merck	Solução 0,1M VWR	Solução 0,1M VWR	Solução 0,1M VWR	Solução 0,1M VWR
B/b	100mL	100mL	98mL	98mL	100mL	100mL	98mL	98mL
C/c	25%	20%	25%	20%	25%	20%	25%	20%
D/d	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim
E/e	Sim	Não	Sim	Não	Não	Sim	Não	Sim
F/f	<25	25°C	25°C	<25	<25	25°C	25°C	<25
G/g	Bomba	Micropi- peta	Micropi- peta	Bomba	Micropi- peta	Bomba	Bomba	Micropi- peta

A avaliação dos resultados, teve com base o método de Youden. Onde para determinar a influência de cada variação nos resultados, procede-se ao cálculo dos efeitos, através da equação (2-42). Adicionalmente, foram comparadas as variâncias de cada ensaio com o ensaio 1, de forma a avaliar se existem diferenças significativas.

3.7.7. Incertezas

Os métodos de determinação das incertezas foram descritos no capítulo 2.5 Incerteza na Medição. Neste trabalho, foram calculadas as incertezas pela abordagem “passo-a-passo” combinada com dados da validação.

3.8. Condições Experimentais

Na tabela 3.12, apresentam-se as condições de operação, definidas no titulador automático para a titulação de amostras de cloretos.

Tabela 3.12-Condições de operação definidas no titulador automático para a titulação de cloretos numa amostra

Volume de amostra	100mL
Velocidade de agitação	25%
Tempo de ativação da bomba	2s
Tempo de agitação após adição de pré-reagente	10s
Modo de adição de titulante	Dinâmico
Atraso após adição da pré-dose de titulante	0s
Tipo de pré-dose de titulante	Volume
Volume da pré-dose de titulante	0mL
Ordenada mín.	-150mV
Ordenada max.	150mV
Coordenar potencial de paragem de operação	1000mV
Paragem no último ponto de equivalência	Sim
Coordenar volume max. de paragem de operação	55mL
Tempo mínimo de estabilidade	5s
Tempo máximo de estabilidade	20s
Critério de estabilidade	10mV / min
Tamanho mín. de incremento	0,1mL
Tamanho máx. de incremento	1mL

As condições para a calibração do titulante, são ligeiramente diferentes e estão descritas na tabela 3.13.

Tabela 3.13-Condições de operação definidas no titulador automático para a calibração do titulante

Velocidade de agitação	25%
Tempo de ativação da bomba	2s
Tempo de agitação após adição de pré-reagente	10s
Modo de adição de titulante	Dinâmico
Atraso após adição da pré-dose de titulante	10s
Tipo de pré-dose de titulante	Volume
Volume da pré-dose de titulante	3mL
Ordenada mín.	-150mV
Ordenada max.	150mV
Coordenar potencial de paragem de operação	1000mV
Paragem no último ponto de equivalência	Sim
Coordenar volume max. de paragem de operação	20mL
Tempo mínimo de estabilidade	5s
Tempo máximo de estabilidade	20s
Critério de estabilidade	10mV/s
Tamanho mín. de incremento	0,1mL
Tamanho máx. de incremento	1mL

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS

Neste capítulo, irão ser explicitados e discutidos, todos os resultados obtidos tanto na etapa de otimização e validação do método, como na determinação da incerteza do mesmo.

4.1. Desenvolvimento do método

4.1.1. Titulação dinâmica

Na titulação automática existem dois modos de titulação, a linear e a dinâmica. A titulação linear adiciona incrementos iguais de titulante. Enquanto, a dinâmica o incremento é calculado, como função do declive da curva de titulação, ou seja, na parte com menor declive são adicionados incrementos grandes, e na de maior os incrementos são menores.

Neste trabalho, foi considerada apenas a titulação dinâmica, como modo de titulação, pois é a forma preferível de adição para titulações potenciométricas e a mais indicada para determinações de cloretos. Adicionalmente, tem a vantagem de retornar resultados com alta exatidão, com um tempo de operação mais reduzido e com o número de pontos necessário para traçar a curva⁴⁴.

No estudo, de qual seria o melhor incremento para antes e na região do ponto de equivalência (PE), foram testadas combinações de dois incrementos, respectivamente, representados na Tabela 3.8. Os valores foram escolhidos, com base na metodologia de vários guias e artigos^{34,47}.

Os resultados, estão representados pelas figuras 4.1 e 4.2.

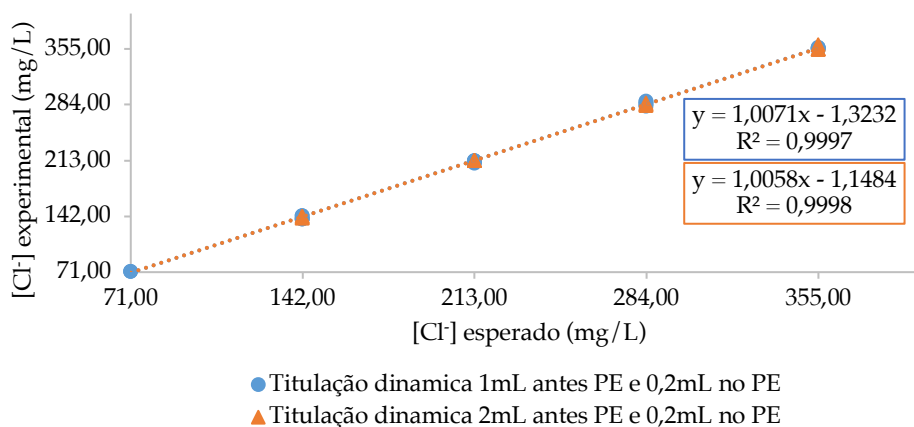


Figura 4.1-Resultados do desenvolvimento do método para diferentes incrementos

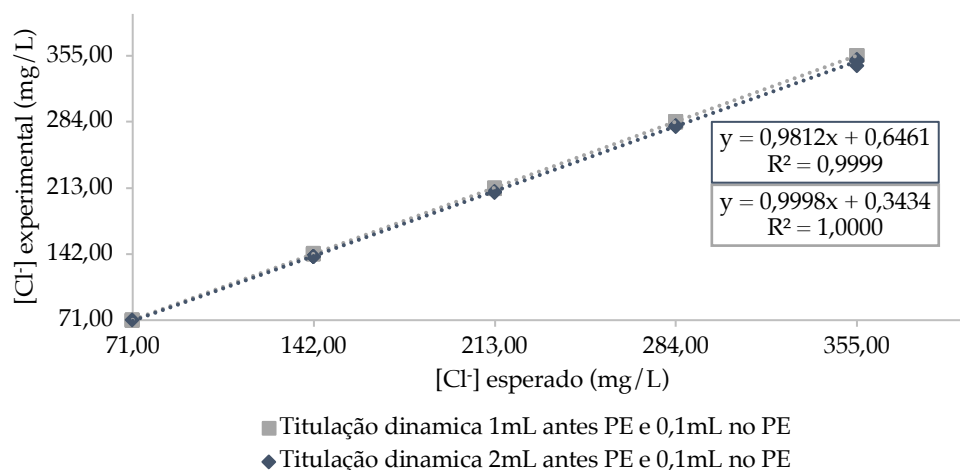


Figura 4.2-Resultados do desenvolvimento do método para diferentes incrementos

Tanto as retas presentes na figura 4.1 como na 4.2, não apresentam uma dispersão acentuada nos valores, apresentando uma correlação bastante satisfatória entre os valores obtidos experimentalmente e os esperados.

No entanto, era de esperar valores mais dispersos, quando os incrementos são maiores. Ao comparar ambas as figuras, depreende-se que quando menor for o incremento perto do ponto de equivalência, mais os valores de concentração se assemelham aos esperados.

Assim, conclui-se que o melhor incremento, quando o declive da curva de titulação é acentuado, é de 0,1mL.

Em relação, aos incrementos antes do ponto de equivalência, não é notória, uma grande diferença, sendo 1mL ou 2mL, na detecção do ponto final, porém os melhores resultados obtidos em combinação com o incremento na área do PE, foram com 1mL.

4.1.2. Velocidade de Agitação

A agitação é um parâmetro de grande importância, numa titulação. Quando o titulante é adicionado à amostra, tem de ser garantida uma homogeneização eficaz, de forma que as concentrações sejam equilibradas, acelerando o processo de reação. Para além de que, a reação dos cloretos com o nitrato de prata, é uma reação de precipitação, se não houver a agitação adequada, o cloreto de prata deposita-se na superfície do eletrodo, interferindo na medição do potencial da reação.

Foram testadas três velocidades de agitação, 10%, 25% e 40%, ao longo da gama de trabalho escolhida. Na figura 4.3, observa-se os resultados.

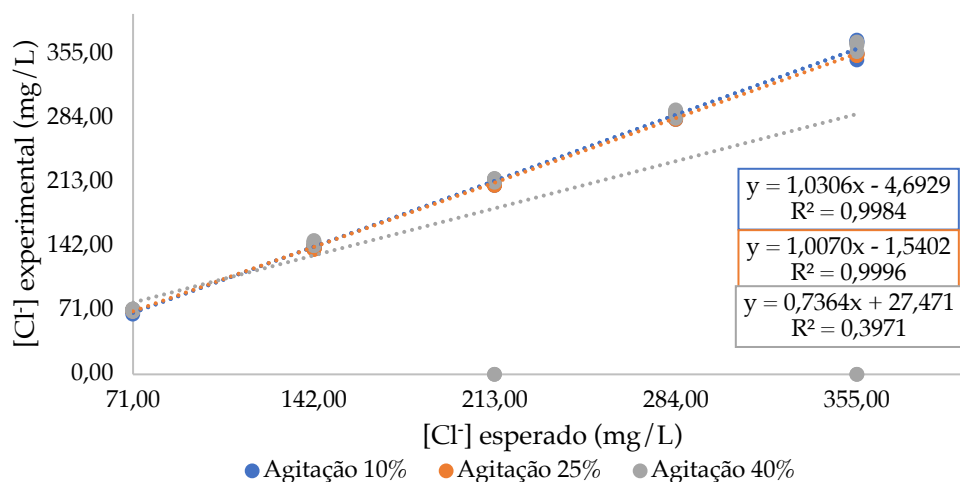


Figura 4.3-Resultados da influência da agitação na concentração obtida

A uma velocidade de agitação de 40%, verificou-se uma dispersão bastante grande, dado que a barra de agitação, por vezes saía do campo magnético rotativo, devido à velocidade excessiva. Consequentemente, a amostra não era homogeneizada de uma forma constante, e a curva de titulação gerada mostra inúmeras variações de potencial, como demonstra a figura 4.4.

Na figura 4.3, inclusive, mostra dois pontos onde a concentração experimental obtida foi de 0 mg/L, pelo facto de, não se verificar com clareza uma variação de potencial acentuada que marque o ponto de equivalência.

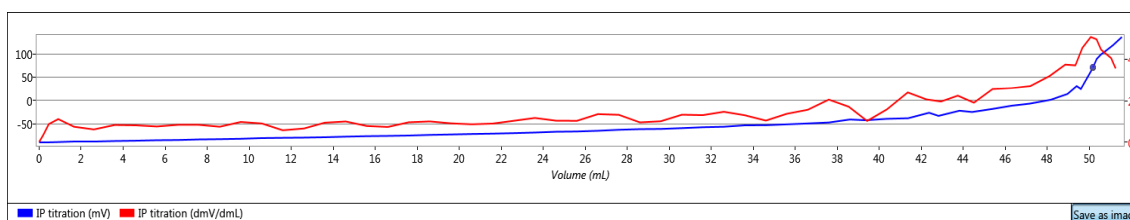


Figura 4.4- Curva de titulação para uma velocidade de agitação de 40%

No caso, de 10% mostra um bom ajuste entre a concentração de cloretos obtida e a esperada. No entanto, experimentalmente a pouca velocidade permitia a formação de coágulos de cloreto de prata, podendo estes afetar a medição de potencial.

Constata-se, que a melhor velocidade de agitação obtida foi de 25%, onde se observa uma baixa dispersão de resultados entre o valor esperado e o experimental, e baixa formação de coágulos de cloreto de prata.

4.1.3. Comportamento da resposta do eléctrodo

O ajuste, unicamente, dos incrementos numa titulação não permite um controlo eficiente da curva de titulação. Para tal, deve ser assegurado que o eléctrodo efetue a medição de potencial, num intervalo estável. A medição de potencial, pode ser aceite através do controlo do tempo de estabilização e do controlo da variação de potencial com o tempo (*drift*) após incremento.

Os parâmetros que podem ser avaliados são o tempo mínimo e máximo de estabilização e o critério de estabilidade, representados pela Tabela 3.9. Estes valores, foram adaptados de um guia para a titulação automática⁴⁴.

Vários artigos, utilizam o critério de estabilidade de 50mV/min, onde não é tão valorizada a exatidão na medição do potencial, mas sim a rapidez de medição.³⁴

O tempo mínimo de estabilização, terá de ser sempre cumprido mesmo que o critério de estabilidade se verifique. Na figura 4.5, estão representados os resultados obtidos de concentração (mg/L) e o seu respetivo erro relativo (%).

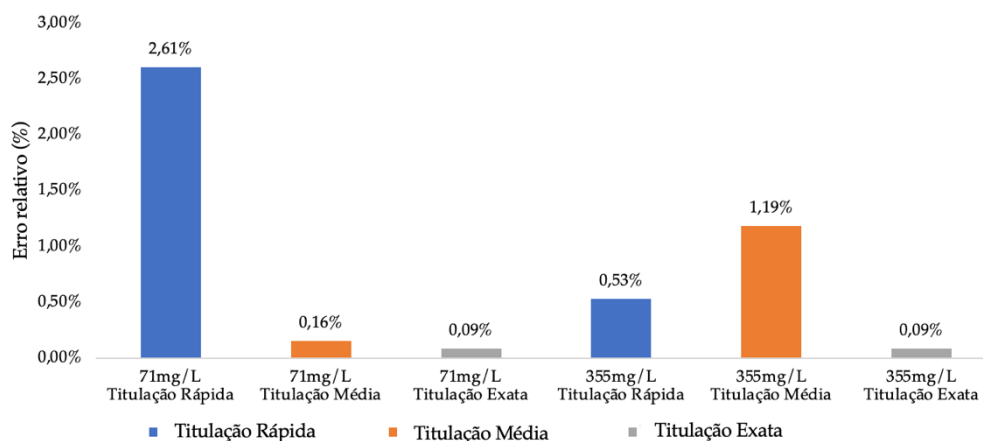


Figura 4.5- Resultados para os diferentes critérios de estabilização da medição

A titulação exata, apesar de ser ligeiramente mais morosa, obtiveram-se melhores resultados, com um desvio relativo inferior a 0,1%, dos limiares da gama de trabalho. Isto deve-se, a um maior tempo de estabilização após a adição do incremento de titulante e ao facto do *drift* da curva, ser controlado com um maior rigor.

Os exemplos das curvas de titulação, para cada um dos critérios de estabilização, são representados pelas figuras 4.6, 4.7 e 4.8 para a concentração de 71 mgCl⁻/L e 4.9, 4.10 e 4.11 para a concentração de 355 mgCl⁻/L. Onde se observa que, a titulação exata por apresentar uma medição estável e rigorosa, apresenta a derivada (dmV/dmL) no ponto de equivalência mais acentuada, o que permite uma melhor deteção do mesmo.

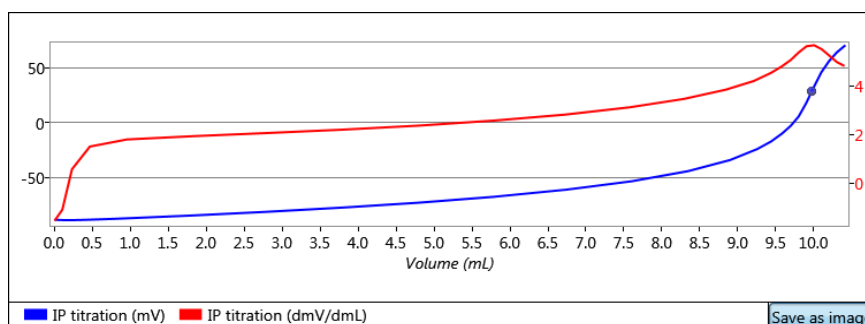


Figura 4.6-Exemplo de curva de titulação exata para 71 mgCl⁻/L

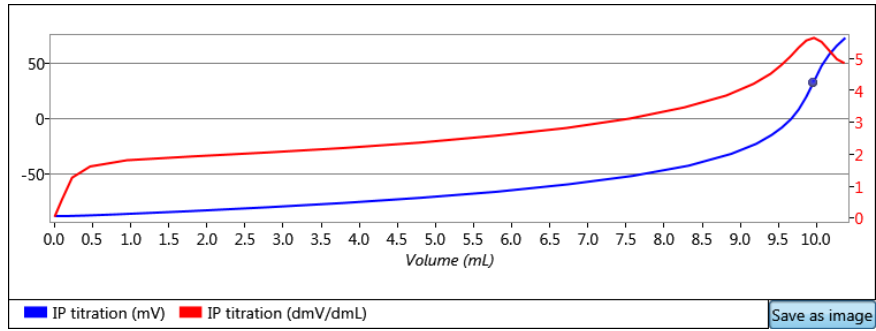


Figura 4.7-Exemplo de curva de titulação média para 71 mgCl⁻/L

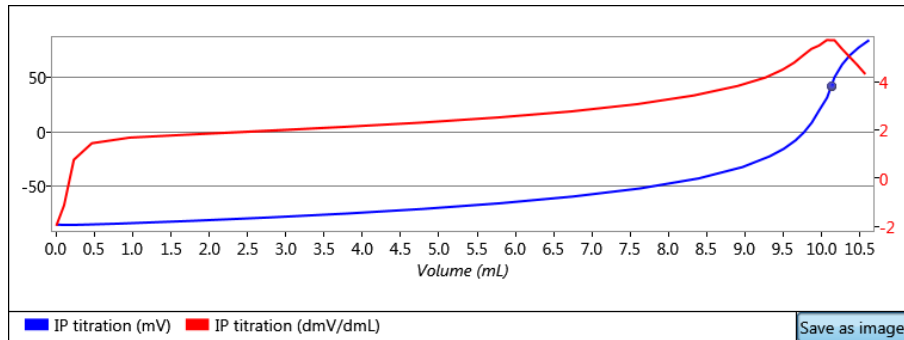


Figura 4.8-Exemplo de curva de titulação rápida para 71 mgCl⁻/L

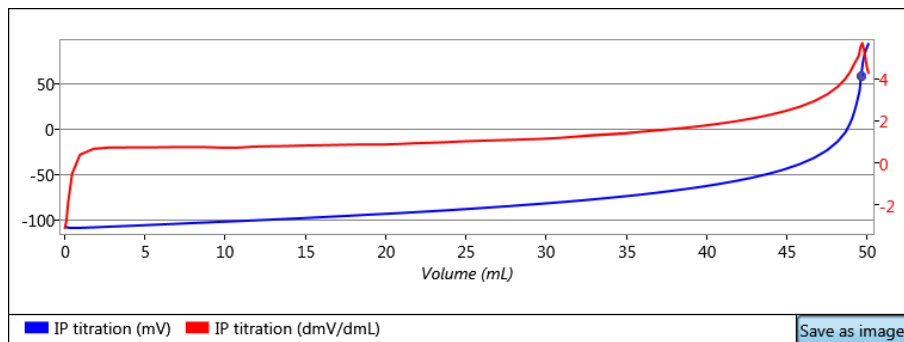


Figura 4.9-Exemplo de curva de titulação exata para 355 mgCl⁻/L

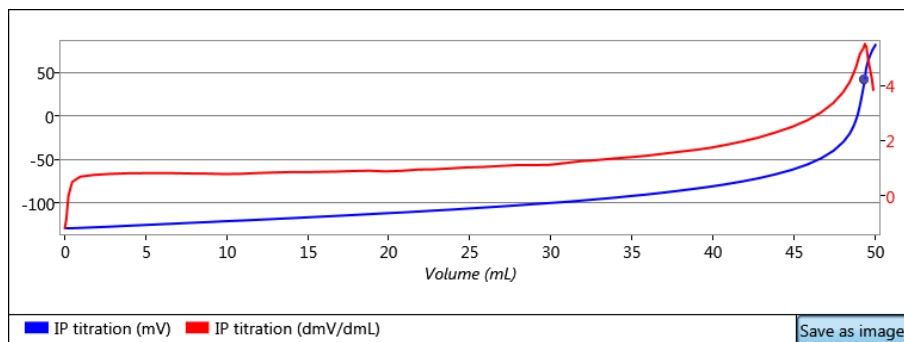


Figura 4.10-Exemplo de curva de titulação média para 355 mgCl⁻/L

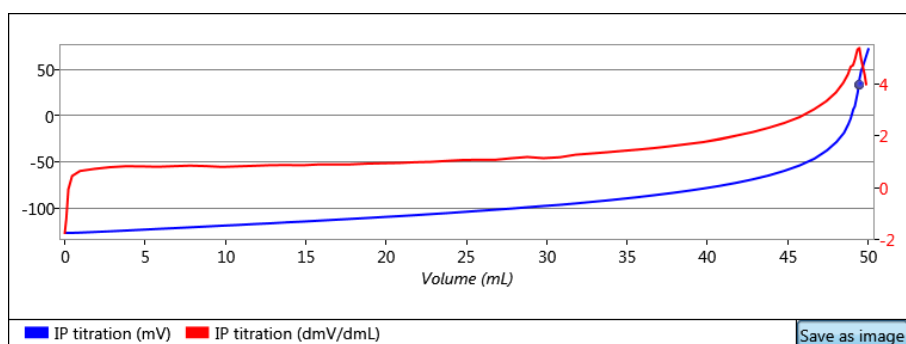


Figura 4.11-Exemplo de curva de titulação rápida para 355 mgCl⁻/L

4.2. Validação do Método

Os parâmetros validados foram os limiares analíticos, linearidade, gama de trabalho, precisão, exatidão, seletividade e robustez.

4.2.1. Linearidade

A titulação potenciométrica, é um método independente de curvas de calibração. Logo, este parâmetro de validação poderia não ter sido estudado, no entanto, em vários artigos com o mesmo método é estudada a relação entre o volume gasto de titulante e a concentração obtida. Desta forma, neste trabalho, optou-se por avaliar também este parâmetro, com um objetivo puramente acadêmico.

O estudo da linearidade, foi efetuado com recurso a 5 soluções padrão, de diferentes concentrações (71, 142, 213, 284 e 355 mg/L). Foram efetuados dez ensaios para cada concentração e construído para cada ensaio uma representação gráfica, das concentrações de cloretos em padrões, em função do volume de AgNO₃ gasto.

Aplicou-se, o método dos mínimos quadrados para cada curva, obtendo-se os valores de declive e ordenada na origem, bem como os coeficientes de correlação e determinação. Estes resultados estão expostos na tabela 4.1.

Importante referir, que antes de ser aplicado o método dos mínimos quadrados, foram avaliados pressupostos do mesmo, garantindo que os resíduos são normais, independentes e homocedásticos.

A linearidade foi determinada, com recurso ao teste de *Mandel* e ao de *Rikilt*.

Tabela 4.1-Parâmetros da regressão linear obtidos nos 10 ensaios

Equação da Regressão Linear				
#	Declive (m)	Ordenada na Origem (b)	r	r ²
1	0,1371	0,4350	0,9997	0,9994
2	0,1366	0,5644	0,9998	0,9996
3	0,1378	0,3862	0,9999	0,9997
4	0,1386	0,2627	0,9999	0,9998
5	0,1380	0,2043	0,9999	0,9997
6	0,1368	0,4517	0,9999	0,9998
7	0,1367	0,5576	0,9998	0,9995
8	0,1362	0,5932	0,9998	0,9996
9	0,1373	0,2696	0,9999	0,9998
10	0,1389	0,0178	0,9999	0,9999

No Apêndice F, encontra-se a análise à linearidade, normalidade, independência e igual variabilidade dos resíduos. Tendo-se concluído, que estes parâmetros são aceites para todas as curvas.

Observa-se pela tabela 4.1, que o declive obtido para cada curva é pequeno. Este, sugere que uma grande variação na concentração, não irá variar significativamente o volume gasto de titulante, sendo, portanto, um método pouco sensível. Idealmente, deveria ser próxima de 1, o que indicaria que um aumento de concentração retornava um valor de volume gasto, de igual proporção.

A análise do valor da ordenada na origem, neste caso não tem muito valor, pois para uma concentração de cloretos de 0mg/L, não se tem um volume gasto de titulante tão elevado quanto o obtido nas curvas de 1 a 9. A curva 10, foi a que melhor ajustou os dados, tendo sido obtido uma ordenada na origem muito próxima de zero, o que corresponde mais à realidade.

Em relação, ao coeficiente de correlação R, foram alcançados valores superiores a 0,995, obtendo-se uma média de 0,9999 para este coeficiente. Significando, que as variáveis têm uma relação positiva forte, ou seja, quando a concentração de cloretos aumenta, o volume de nitrato de prata gasto também.

Por outro lado, para o coeficiente de determinação, foram obtidos valores superiores a 0,999. Este coeficiente, demonstra a capacidade do modelo de explicar a variável de consumo de AgNO_3 através da concentração de Cl^- , presente nas amostras. Assim, como o R^2 médio, foi de 0,9997, o modelo dos mínimos quadrados explica 99,97% da variância máxima, o que é um valor ótimo, os restantes 0,03% são explicados pelos resíduos.

A título de exemplo, as figuras 4.12 e 4.13, representam as curvas de trabalho, para o pior e melhor ajuste, respetivamente.

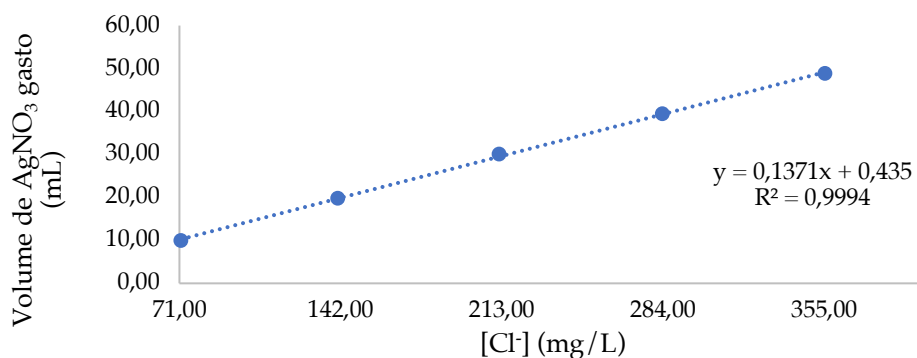


Figura 4.12-Curva de trabalho nº1

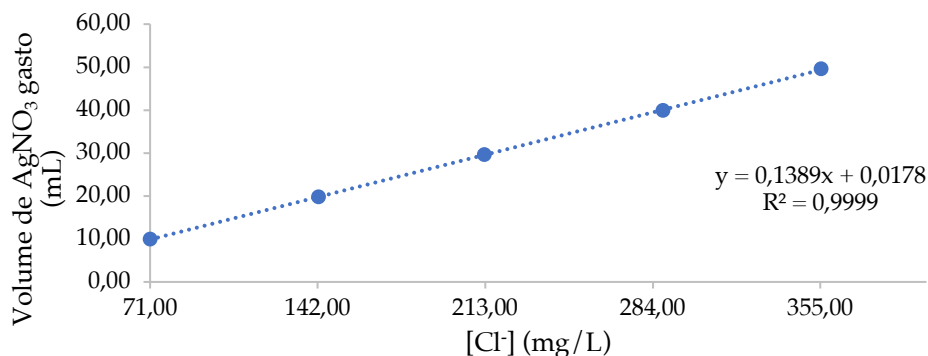


Figura 4.13-Curva de trabalho nº10

A tabela 4.2, resume os resultados obtidos para os testes nas curvas de trabalho. Onde, foram alcançados resultados bastante satisfatórios para os cinco padrões, com um coeficiente de variação inferior a 10% e erros relativos menores que 1%.

Tabela 4.2-Média, Coeficientes de variação (%) e erro relativo (%) para a gama de concentração de 71 a 355 mg Cl⁻/L

Padrões (mg/L)	71,00	142,00	213,00	284,00	355,00
n	10	10	10	10	10
Média	71,00	142,33	212,05	285,18	355,98
CV (%)	0,56	0,40	0,57	0,61	0,24
Erro Relativo (%)	0,00	0,23	0,45	0,42	0,22

Para verificar, o parâmetro da linearidade, foram aplicados dois testes. O teste de *Mandel* e o de *Rikilt*.

Os resultados obtidos no teste de *Mandel*, estão representados na tabela 4.3. Através da aplicação deste teste, comparou-se o valor da estatística teste, com o valor crítico, F (1; 2; 95%).

Concluiu-se que, como os valores de PG foram muito inferiores ao valor crítico, a hipótese nula foi aceite para um nível de confiança de 95%, ou seja, o pressuposto de linearidade confirma-se.

Tabela 4.3-Resultados do teste de linearidade de *Mandel* para as 10 curvas

Valor de teste (PG)	Valor crítico
0,526	18,51
-0,984	
-1,357	
-0,554	
-1,957	
-1,249	
-1,774	
-0,953	
-0,792	

Os resultados obtidos no teste de *Rikilt* para cada curva, foram agrupados num único gráfico, representado pela figura 4.14, com um limiar superior de 110% e inferior de 90%. Sendo estes os desvios máximos definidos, para as razões percentuais entre o fator de resposta, FR, e o fator de resposta médio, \overline{FR} .

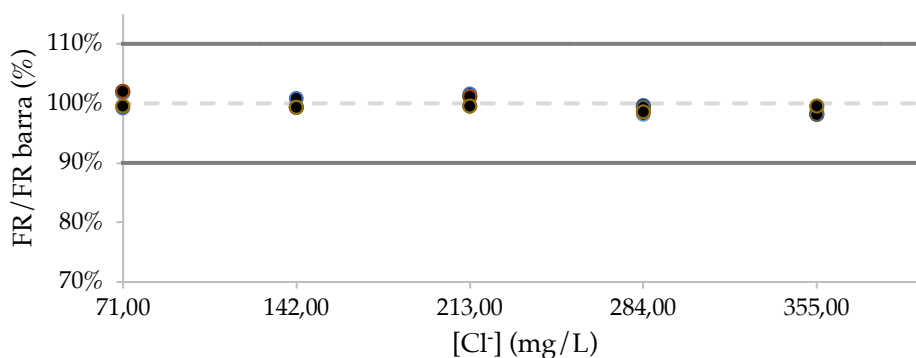


Figura 4.14-Representação gráfica dos resultados do teste de Rikilt para as 10 curvas

Através da figura 4.14, depreende-se que nenhuma das razões percentuais ultrapassou os limiares, estando estes pontos concentrados próximos de 100%, que corresponde à linearidade perfeita.

Efetuiu-se, como referido, a análise à homocedasticidade da gama de trabalho definida, através do teste de Fisher, de forma a comprovar se existem diferenças significativas entre as variâncias do primeiro padrão e o último. Os resultados estão representados na tabela 4.4. Este teste encontra-se detalhado no Apêndice C.

Tabela 4.4-Resultados da aplicação do teste F, para as concentrações 71 e 355 mg Cl⁻/L

	[71] mg Cl⁻/L	[355] mg Cl⁻/L
\bar{Y}_i (mL)	10,03	49,69
n	10	10
S_i^2	0,0005	0,0025

O valor da estatística teste obtida, foi de 4,92 e o valor crítico definido $F_{(99\%;4;9)} = 5,35$. Confirma-se, portanto a homogeneidade de variâncias, dado que o valor da estatística teste é menor que o valor crítico, para um nível de confiança de 99%.

4.2.2. Limiares Analíticos

4.2.2.1. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Os limiares analíticos, neste trabalho, foram determinados de duas maneiras distintas, através dos brancos e padrões vestigiais e através das curvas de trabalho.

Este parâmetro, poderia não ter sido determinado, pelo facto de que o laboratório, pretende que este método, analise amostras com concentrações muito acima do limite de quantificação.

De qualquer das formas, os limiares foram calculados com base nas equações presentes no subcapítulo 2.4.5 Limiares analíticos.

Para o primeiro método, foram efetuados 45 ensaios de brancos, os resultados obtidos, estão representados na figura 4.15. É aconselhado, que nos métodos titulométricos o volume de titulante gasto para o branco, não seja superior a 0,2mL⁵⁷. O ultrapassar deste limite, implica a verificação da pureza da água, utilizada como branco.

Como se observa, pela figura 4.15, a concentração de brancos obtida varia entre os valores de 0,83mg/L e 1,41mg/L, contudo o volume gasto de AgNO_3 foi sempre menor que 0,2mL.

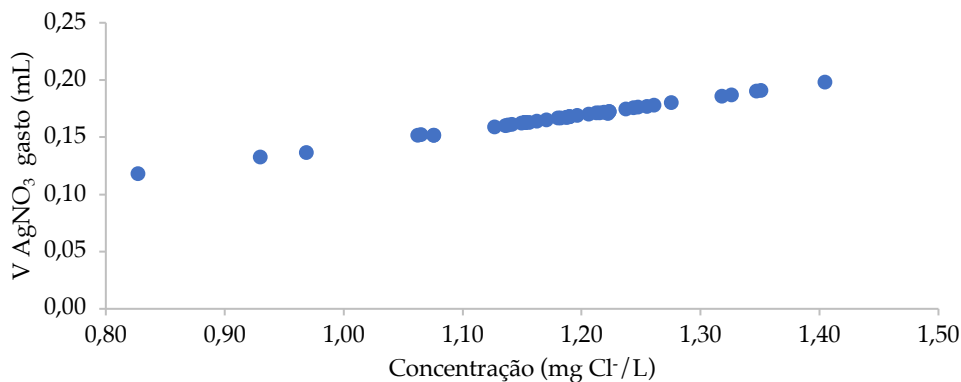


Figura 4.15-Ensaio de branco (n=45)

Nas figuras 4.16 e 4.17, estão representados os ensaios com várias concentrações vestigiais de cloretos, em que o objetivo foi avaliar tanto a dispersão dos dados em termos relativos, com o coeficiente de variação (figura 4.16), como o erro obtido na medição em relação ao valor teórico, com o erro relativo (figura 4.17).

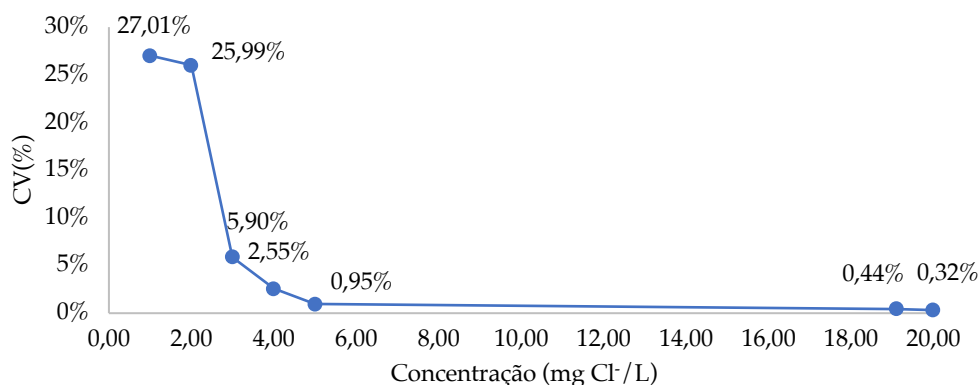


Figura 4.16-Concentração de padrões vestigiais em função do respectivo coeficiente de variação

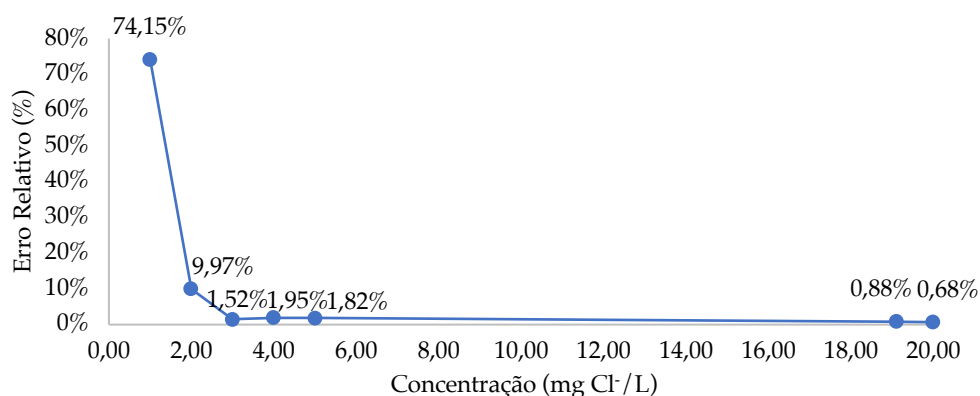


Figura 4.17-Concentrações de padrões vestigiais em função do erro relativo

Pode-se concluir, que à medida que a concentração de cloretos aumenta, a precisão e exatidão da medição também. A precisão, pode ser avaliada pela figura 4.16, em que se obtém a partir da concentração de cloretos de 3mg/L, um CV menor que 10%. Por outro lado, figura 4.17, é avaliada a exatidão da medição, onde se obteve para valores de concentração acima de 3mg/L de cloretos, um erro relativo inferior a 2%.

A tabela 4.5, resume os dados obtidos através dos ensaios aos brancos e aos padrões vestigiais. Os limites de detecção e quantificação, foram calculados com base no desvio padrão das concentrações obtidas.

Tabela 4.5-Limiare analíticos através do método dos padrões vestigiais e dos brancos

Método	Média	Desvio Padrão	CV (%)	LD	LQ
Padrão Vestigial	2,95	0,17	5,90	3,52	4,74
Branco	1,19	0,09	7,77	1,50	2,11

Com esta metodologia, obteve-se valores de LD e LQ superiores para os padrões vestigiais, comparativamente aos brancos. Considera-se, que os valores obtidos para os padrões vestigiais apresentam uma relação de maior proximidade com a realidade, pois segundo os ensaios representados pela figura 4.16, para concentrações de cloretos acima de 4 mg/L o CV é menor que 10%, o valor considerado como critério de aceitação.

Passando para o segundo método, para a determinação dos limiars analíticos, que consiste na utilização do desvio padrão da curva de trabalho. Este procedimento, foi aplicado em todas as curvas de trabalho determinadas, pois cumpriram todas o parâmetro da linearidade, e os resultados estão representados na tabela 4.6.

Tabela 4.6-Limiars analíticos através do desvio padrão residual da curva de trabalho

Curva	$S_{y/x}$	LD (mg/L)	LQ (mg/L)
1	0,420	9,18	30,62
2	0,372	8,18	27,27
3	0,297	6,47	21,57
4	0,262	5,67	18,91
5	0,286	6,21	20,70
6	0,235	5,15	17,17
7	0,388	8,51	28,36
8	0,364	8,01	26,70
9	0,226	4,93	16,45
10	0,172	3,71	12,36
Média		6,60	22,01
Mínimo		3,71	12,36
Máximo		9,18	30,62

Depreende-se, que com o aumento do desvio padrão residual da curva, os limiares analíticos, também aumentam. Quanto melhor for o ajuste, ou seja, maior r e r^2 e menor $S_{y/x}$, menores são também os limiares LD e LQ. Como se observa pela curva 10, onde o limite de deteção obtido se assemelha, com o calculado anteriormente pelo método dos desvios padrão. No entanto, o valor de 12,36 mg/L para o LQ, considerou-se ser uma aproximação conservadora.

Como a potenciometria indireta não utiliza curvas de calibração para o cálculo de cloretos, os resultados obtidos por este método, não terão um peso decisivo na definição dos limiares analíticos.

Na tabela 4.7, encontra-se o resumo dos resultados obtidos para as duas metodologias.

Tabela 4.7-Quadro resumo dos limiares analíticos

Método	LD (mg/L)	LQ (mg/L)
Desvio padrão dos brancos	1,50	2,11
Desvio padrão de padrões vestigiais	3,52	4,74
Desvio padrão residual da curva de trabalho	3,71	12,36

Segundo, o DL nº83/2011 de 20 de junho, o valor do LQ de um determinado método, teria de ser igual ou inferior a 30%, do valor paramétrico legislado. Para o caso dos cloretos, este valor seria de 250mg/L para águas de consumo, em que o LQ máximo seria de 75mg/L. Como se pôde verificar, em ambos os métodos aplicados foram obtidos valores de LQ muito abaixo deste valor, cumprindo a especificação imposta.

Na bibliografia, referem que este método alcança limites de deteção muito baixos como 1,3mg/L e 1,5mg/L, tal acontece, pois, são utilizadas concentrações de nitrato de prata mais baixas que as utilizadas neste caso, o que permite também baixar o limite de deteção e quantificação^{3,18}.

Em suma, foram escolhidos os valores de 3,52mg Cl⁻/L para limite de deteção, e 4,74 mg Cl⁻/L para limite de quantificação, pois foram os que apresentaram nos ensaios resultados, de acordo com os critérios.

4.2.3. Precisão

Foram estudadas as duas medidas para a avaliação da precisão: a repetibilidade e a precisão intermédia. A reprodutibilidade, não foi estudada pois o laboratório não participou em nenhum estudo interlaboratorial, no período do desenvolvimento do presente trabalho.

4.2.3.1. Repetibilidade

Para o estudo da repetibilidade, realizaram-se dez ensaio independentes, para as cinco concentrações da gama de trabalho, em condições de repetibilidade. Ou seja, curto período de análise, mesmo laboratório, mesmo equipamento e mesmo operador.

Foram testadas, todas as concentrações definidas da gama de trabalho de forma, a se perceber, de que forma a precisão em condições constantes, variava com o aumento da concentração de cloretos.

Para avaliar a repetibilidade podem ser empregues dois critérios, o limite de repetibilidade, r_r , e o coeficiente de variação, cv , de cada medição.

Na tabela 4.8, estão discriminados os resultados obtidos em cada ensaio e o seu respetivo coeficiente de variação. Todas as equações empregues para a avaliação deste parâmetro, estão explicitadas no capítulo 2.4.6.1 Repetibilidade.

Tabela 4.8-Resultados dos ensaios de repetibilidade para os cinco padrões da curva

	71 mg Cl/L		142 mg Cl/L		213 mg Cl/L		284 mg Cl/L		355 mg Cl/L	
#	[Cl]	$x_i - x_{i-1}$	[Cl]	$x_i - x_{i-1}$	[Cl]	$x_i - x_{i-1}$	[Cl]	$x_i - x_{i-1}$	[Cl]	$x_i - x_{i-1}$
1	72,34	—	143,64	—	213,52	—	289,53	—	358,51	—
2	71,94	0,40	143,70	0,06	213,78	0,26	288,99	0,54	358,88	0,37
3	72,20	0,26	143,42	0,28	214,21	0,43	287,83	1,16	358,69	0,19
4	72,20	0,00	143,46	0,04	215,04	0,83	288,03	0,20	358,54	0,15
5	72,37	0,18	142,88	0,58	214,93	0,11	287,83	0,20	358,72	0,18
6	72,24	0,13	142,67	0,21	213,99	0,94	287,35	0,48	359,03	0,31
7	71,85	0,39	142,66	0,01	214,58	0,59	287,65	0,30	358,33	0,70
8	72,15	0,30	143,54	0,88	214,61	0,03	287,07	0,58	358,57	0,24
9	72,10	0,06	143,91	0,37	215,03	0,42	287,01	0,06	359,13	0,56
10	72,12	0,03	143,01	0,90	214,32	0,71	287,54	0,53	359,48	0,35
Média	72,15		143,29		214,40		287,88		358,79	
S_r	0,16		0,45		0,53		0,81		0,35	
t	1,83		1,83		1,83		1,83		1,83	
(5%;9)										
r_r	0,42		1,16		1,38		2,09		0,90	
cv	0,22%		0,31%		0,25%		0,28%		0,10%	

Cada limite de repetibilidade obtido, para cada concentração, foi comparado com a amplitude da medição, de cada ensaio consecutivo. Em cada concentração, o critério $x_i - x_{i-1} \leq r_r$, foi cumprido para um nível de confiança de 95%. Para poder ser aplicado o *t-student*, pelo facto de se tratar de um teste paramétrico com poucas repetições (<30), foi verificada a normalidade de cada conjunto de concentrações, através do teste de *Shapiro-Wilk*, com o programa *XLSTAT cloud* disponível no *software excel*, os resultados obtidos encontram-se no Apêndice G, tendo-se concluído que cada conjunto de concentrações é normal.

Como referido anteriormente, o coeficiente de variação também pode ser utilizado para avaliar a repetibilidade. O laboratório, definiu que este deve ser igual ou inferior a 10%. Para cada concentração, foram obtidos coeficientes de variação muito inferiores ao critério estabelecido.

Atendendo, aos resultados obtidos, considera-se que o método apresenta bons resultados em termos de precisão, quando sujeito a condições de repetibilidade.

4.2.3.2. Precisão Intermédia

De todas as formas de avaliar a precisão, a precisão intermédia é a mais importante. Na medida, em que reproduz melhor a variabilidade dos resultados, no laboratório.

Para o estudo deste parâmetro, foram testados os limites da gama de trabalho definida, 71 e 355 mg Cl/L. Para cada concentração, dois operadores realizaram em duplificado ensaios ao longo de seis dias, para duas buretas distintas.

Na tabela 4.9, encontram-se os resultados dos ensaios realizados nas condições referidas, bem como os respetivos valores da média, desvio padrão e coeficiente de variação. Para cada concentração, foi verificada a existência de valores aberrantes através do teste de Gubbs, representado na tabela 4.10.

Tabela 4.9-Resultados obtidos para a precisão, em condições de precisão intermédia

		#	[71] mg Cl/L	[355] mg Cl/L
Analista 1	Bureta1	1	71,34	355,56
		2	70,77	354,29
		3	69,86	352,63
		4	71,61	349,62
	Bureta2	5	71,49	354,80
		6	71,11	354,10
		7	70,12	350,30
		8	70,17	349,19
Analista 2	Bureta1	9	72,21	356,38
		10	71,72	357,08
		11	71,07	354,02
		12	71,02	349,19
	Bureta2	13	71,93	355,82
		14	71,75	354,29
		15	70,98	352,61
		16	71,58	354,55
Média (mg Cl/L)			71,17	353,40
S_{pi} (mg Cl/L)			0,68	2,57
cv			0,95%	0,73%

Tabela 4.10-Resultados do teste de Grubbs

	[71]mg Cl/L	[355]mg Cl/L
t (0,16;14)	3,56	3,56
Estatística teste	1,95	1,64
Valor crítico	2,59	2,59

Através do teste de Grubbs, concluiu-se que, de entre os ensaios realizados nos dois níveis de concentração, não existiam valores discrepantes, pois o valor da estatística teste é inferior ao valor crítico. As equações necessárias para a realização deste teste, encontram-se no Apêndice F.

De um modo geral, obtiveram-se bons resultados para a precisão, em condições de precisão intermédia. Para a concentração de 355 mg Cl /L, o desvio padrão determinado considerou-se elevado comparativamente com o da concentração mais baixa, tal pode dever-se a erros de pipetagem na preparação dos padrões.

O laboratório, definiu como critério de aceitação, que o coeficiente de variação obtido nos ensaios, tinha de ser igual ou inferior a 10%. Este critério, foi cumprido tendo sido alcançados valores inferiores a 1%.

Como regra geral, o desvio padrão da precisão intermédia, S_{pir} , de cada concentração, terá de ser maior ou igual que o desvio padrão da repetibilidade, S_r , das mesmas. Comparando os desvios padrão obtidos em cada parâmetro, verifica-se que esta regra foi obedecida.

É importante referir que apesar de se utilizar a equação (2- 38), para o cálculo do desvio padrão da precisão intermédia, S_{pir} , esta segundo a ISO 5725-3, não é uma metodologia eficiente.

Com isto, conclui-se que os resultados obtidos são satisfatórios, comprovando-se a precisão intermédia do método.

4.2.4. Exatidão/Seletividade

A exatidão do método, foi avaliada por meio de materiais de referência certificados, ensaios de recuperação e por um teste comparativo.

A seletividade do método, foi avaliada através dos ensaios de recuperação.

4.2.4.1. Material de Referência Certificado

A utilização de MRC's, na validação da exatidão de um método, é aconselhado. Como tal, o laboratório disponibilizou o material de referência BURTAP-14, com matriz ambiental de água de consumo.

O certificado do material de referência, com as informações completas da composição da matriz, encontra-se no anexo I.

O ensaio foi realizado em triplicado, e na tabela 4.11, encontram-se os resultados obtidos conjuntamente, com a avaliação dos valores obtidos, em relação ao valor do certificado para os cloretos. Esta avaliação, foi realizada por meio do fator de desempenho (*Z-score*) e pelo erro relativo, em percentagem.

Tabela 4.11-Resultados obtidos para os ensaio com MRC, para matriz de água de consumo

#	Concentração Verdadeira (mg Cl/L)	Incerteza \pm	Concentração obtida (mg Cl/l)	Z-score	Erro Relativo (%)
1	26,5	1,5	26,65	0,10	0,56%
2	26,5	1,5	26,78	0,19	1,06%
3	26,5	1,5	26,92	0,28	1,59%
			Média	0,19	1,07%

Em relação ao z-score, refere-se no capítulo 2.4.7.1 Materiais de Referência Certificados, que valores para este, iguais ou inferiores a 2, indicam um desempenho satisfatório por parte do laboratório. Na medida, em que o erro obtido na medição foi menor que o desvio admissível pelo certificado.

Por outro lado, outra forma de avaliar a exatidão, assenta no erro relativo. Este, avalia a componente dos erros sistemáticos, que possam ocorrer na medição e assim afetar a exatidão do método. Neste caso, o erro relativo obtido foi bastante baixo, com uma média entre as três medições de 1,07%, muito abaixo do critério de 5%.

Posto isto, o método mostrou ser exato por meio de ensaios com um MRC.

4.2.4.2. Ensaios de Recuperação

A metodologia mais utilizada na avaliação da exatidão de um método, são os ensaios de recuperação. Neste trabalho, foram usadas matrizes reais para estes testes, nomeadamente duas amostras de efluentes tratados, duas de afluentes brutos e uma de água natural subterrânea.

Foram estabelecidos três níveis de fortificação. Para todas o critério utilizado, na escolha da concentração a fortificar, baseou-se em 10%,25% e 50% da concentração da amostra. Este critério foi escolhido, de forma que a concentração das amostras fortificadas, não ultrapasse o limite máximo da gama de trabalho.

O intervalo de aceitação do laboratório para ensaios de recuperação, em relação ao valor ideal de 100%, são $\pm 15\%$ para matrizes residuais (efluentes tratados, afluentes brutos), bem como para matrizes de águas naturais (meios recetores e águas subterrâneas).

Nas seguintes tabelas 28 até à 32, estão representados a concentração de Cl^- adicionado para cada nível em cada amostra, a concentração de cloretos da amostra sem fortificação e a obtida após a fortificação em cada nível. Na última coluna, encontram-se as percentagens de recuperação em cada nível, calculadas pela equação (2- 41).

Efluente Tratado 1

A amostra de efluente tratada 1, foi analisada cinco vezes sem a adição de nenhum reforço, para que a concentração de cloretos nativos fosse estimada. A média dos valores obtidos foi de 132,82 mg Cl^- /L, a partir desta estimativa, foram definidos os três níveis de fortificação.

Na tabela 4.12, encontram-se os resultados para esta matriz.

Tabela 4.12-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de efluente tratado 1

#	Reforço Adicionado (mg Cl^- /L)			[Cl] amostra não fortificada (mg Cl^- /L)	[Cl] c/ fortificação para cada nível (mg Cl^- /L)			Recuperações para cada nível (%)		
	10%	25%	50%	132,09	10%	25%	50%	10%	25%	50%
					145,48	162,99	199,25	97,37%	91,42%	100,65%
2				132,39	145,39	163,11	192,09	96,68%	91,78%	89,80%
3	13,00	33,00	66,00	132,57	144,51	163,45	191,30	89,91%	92,81%	88,60%
4				133,47	145,13	162,96	192,82	94,68%	91,33%	90,91%
5				133,59	145,14	163,37	192,83	94,75%	92,57%	90,92%
	Média			132,82	145,13	163,18	193,66	94,68%	91,98%	92,18%
	S			0,67	0,38	0,22	3,19	0,03	0,01	0,05
	cv (%)			0,50%	0,26%	0,14%	1,65%	3,08%	0,73%	5,24%

Em relação, à dispersão de resultados, no geral foi reduzida com um cv inferior a 2%. No entanto, verifica-se que para a concentração de fortificação mais elevada, 50%, o coeficiente de variação é elevado, comparativamente com as restantes. Tal, pode dever-se a um erro de pipetagem de concentração de fortificação, ou então a agitação da

amostra não foi suficientemente rigorosa para a homogeneizar, retornando um valor de concentração superior às restantes, do mesmo nível de fortificação.

Para todos os níveis de fortificação, as percentagens de recuperação encontram-se no intervalo de aceitação do laboratório, $\pm 15\%$. Contudo, no geral, as percentagens de recuperação estão abaixo do valor ideal, de 100% , indicando que a amostra poderá ter menos cloretos nativos do que os estimados.

Efluente Tratado 2

O mesmo procedimento efetuado anteriormente, para a estimativa da concentração de Cl⁻, foi aplicado neste caso e o respetivo cálculo das concentrações a fortificar em cada nível.

Os resultados, estão apresentados na tabela 4.13.

Tabela 4.13-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de efluente tratado 2

#	Reforço Adicionado (mg Cl ⁻ /L)			[Cl ⁻] amostra não fortificada (mg Cl ⁻ /L)	[Cl ⁻] c/ fortificação para cada nível (mg Cl ⁻ /L)			Recuperações para cada nível (%)		
	10%	25%	50%		10%	25%	50%	10%	25%	50%
1				152,00	169,13	190,10	227,30	101,94%	95,45%	96,23%
2				155,50	170,19	189,20	226,07	108,85%	93,11%	94,62%
3	15,00	38,00	77,00	152,92	169,06	189,35	226,60	101,48%	93,50%	95,31%
4				153,17	170,01	190,35	227,53	107,68%	96,11%	96,53%
5				153,44	169,30	189,41	226,77	103,05%	93,66%	95,54%
	Média (mg Cl⁻/L)			153,41	169,54	189,68	226,85	104,60%	94,36%	95,64%
	S (mg Cl⁻/L)			1,29	0,52	0,51	0,67	0,03	0,01	0,01
	cv (%)			0,84%	0,31%	0,27%	0,29%	3,27%	1,41%	0,79%

Nesta amostra em particular, a dispersão dos resultados obtidos para cada nível de concentração foi menor que 1% , verificando-se baixa dispersão nos resultados. No que concerne às recuperações obtidas, neste caso obteve-se recuperações mais próximas de 100% .

Afluente Bruto 1

Os afluentes brutos, são matrizes complexas que podem gerar, mais facilmente, recuperações fora do critério de aceitação. Todas as matrizes de afluente bruto analisadas, continham sólidos em suspensão, sendo de grande importância uma agitação rigorosa da amostra, antes de ser transferido o volume a analisar.

Para estas matrizes verificou-se que no início da titulação, surgia na curva um ponto de equivalência que não se devia aos cloretos, interferindo por vezes na titulação. Uma forma de resolver este problema, passou pela adição de um pré-volume de nitrato de prata, que resultou na precipitação do interferente antes do traçar da curva.

Os resultados, para esta amostra encontram-se na tabela 4.14.

Tabela 4.14-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de afluente bruto 1

#	Reforço Adicionado (mg Cl ⁻ /L)			[Cl] amostra não fortificada (mg Cl ⁻ /L)	[Cl] c/ fortificação para cada nível (mg Cl ⁻ /L)			Recuperações para cada nível (%)		
	10%	25%	50%		10%	25%	50%	10%	25%	50%
1				201,15	208,73	242,56	291,55	101,36%	102,68%	100,18%
2				200,06	209,2	240,97	293,14	103,70%	99,51%	101,77%
3	20,00	50,00	100,00	193,7	208,92	243,93	293,03	102,31%	105,41%	101,66%
4				193,46	205,94	241,59	290,52	87,45%	100,75%	99,16%
5				194,04	207,77	242,38	291,12	96,57%	102,32%	99,75%
	Média (mg Cl⁻/L)			196,48	208,11	242,29	291,87	98,28%	102,13%	100,50%
	S (mg Cl⁻/L)			3,79	1,33	1,12	1,26	0,07	0,02	0,01
	cv (%)			1,93%	0,64%	0,46%	0,43%	6,74%	2,18%	1,16%

As percentagens de cloretos recuperadas em cada ensaio, tiveram uma grande variabilidade nos níveis mais baixos de fortificação. Nomeadamente, no nível de 10% de reforço, onde se verificou um coeficiente de variação de 6,75% relativamente às percentagens recuperadas. Uma das principais razões para estes valores dispersos, prende-se na mudança do frasco de amostra, no quarto ensaio. As amostras, são colhidas em recipientes de 1L, e ao serem colhidas as concentrações de cloretos podem variar, de recipiente para recipiente.

No entanto, as percentagens de recuperação mantiveram-se dentro dos limites aceites.

Afluente Bruto 2

Adotou-se o mesmo procedimento para a análise do afluente bruto 2, que a anterior. Os resultados, encontram-se na tabela 4.15.

Tabela 4.15-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de afluente bruto 2

#	Reforço Adicionado (mg Cl/L)			[Cl] amostra não fortificada (mg Cl/L)	[Cl] c/ fortificação para cada nível (mg Cl/L)			Recuperações para cada nível (%)		
	10%	25%	50%		10%	25%	50%	10%	25%	50%
1	15,00	38,00	77,00	161,47	172,07	192,52	233,04	90,50%	89,52%	97,58%
2				156,01	173,14	192,76	233,85	97,48%	90,14%	98,63%
3				158,52	173,76	191,79	226,95	101,52%	87,61%	89,64%
4				157,19	171,72	191,84	227,31	88,22%	87,74%	90,11%
5				157,73	172,53	193,43	229,21	93,50%	91,89%	92,59%
Média (mg Cl/L)				158,18	172,64	192,47	230,07	94,24%	89,38%	93,71%
S				2,05	0,82	0,68	3,66	0,05	0,02	0,04
cv (%)				1,30%	0,47%	0,35%	1,59%	5,67%	2,00%	4,46%

Apesar novamente, da variabilidade dos resultados, todas as percentagens obtidas encontram-se no intervalo de aceitação de $\pm 15\%$, do valor ideal.

Natural-Captação subterrânea

A matriz de água subterrânea, comparativamente com as anteriores, é bastante mais simples, não se prevendo que as percentagens de recuperações para cada nível, difiram muito do valor ideal.

Os resultados para esta matriz, estão descritos na tabela 4.16.

Tabela 4. 16-Recuperações a 3 níveis de concentração para uma matriz de água de captação subterrânea

#	Reforço Adicionado (mg Cl/L)			[Cl] amostra não fortificada (mg Cl/L)	[Cl] c/ fortificação para cada nível (mg Cl/L)			Recuperações para cada nível (%)		
	10%	25%	50%		10%	25%	50%	10%	25%	50%
1	12,00	30,00	59,00	118,63	132,08	149,1	177,62	96,63%	102,96%	99,58%
2				118,57	132,01	149,09	177,35	96,04%	102,93%	99,12%
3				118,38	131,93	149,02	177,70	95,36%	102,69%	99,71%
4				118,42	132,87	149,04	177,87	103,29%	102,76%	100,00%
5				118,86	132,33	149,04	177,76	98,74%	102,76%	99,81%
Média (mg Cl/L)				118,57	132,24	149,06	177,66	98,01%	102,82%	99,64%
S (mg Cl/L)				0,19	0,38	0,03	0,22	0,03	0,00	0,00
cv (%)				0,16%	0,29%	0,02%	0,12%	3,28%	0,11%	0,33%

Através da análise dos valores, verificou-se o que foi dito anteriormente. Na medida, em que as percentagens de recuperação obtidas, indicam uma baixa dispersão e uma alta exatidão, com uma variação máxima de cerca de 3% do valor unitário.

Em relação à seletividade, verificou-se que para amostras com matrizes residuais de águas efluentes tratados e naturais, o método retornava curvas de titulação perfeitas, em que se distinguia visivelmente o ponto de equivalência correspondente aos cloretos, e adicionalmente obtiveram-se percentagens de recuperação dentro do intervalo de aceitação $100\% \pm 15\%$.

No entanto, para amostras onde a matriz é bruta verificou-se a presença de um ponto de equivalência adicional, como mostra a figura 4.18.

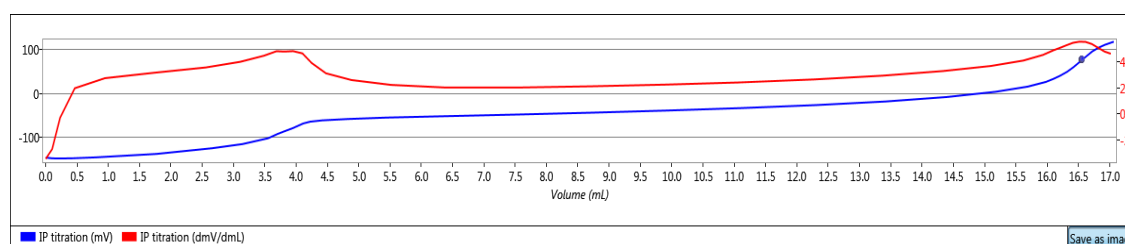


Figura 4.18. Exemplo de curva de titulação de uma amostra com matriz de água residual bruta com interferente

Como mostra a figura, o método tem a capacidade de distinguir os pontos de equivalência. Todavia, foi necessário a definição de um pré-volume de titulante para estas amostras, pois por vezes, o método toma a primeira curva como sendo relativa aos cloretos. Desta forma, todo o interferente precipita, representando na curva unicamente o ponto de equivalência dos cloretos. As percentagens de recuperação obtidas, com esta técnica, enquadraram-se no critério definido.

Os ensaios de recuperação, possuem uma grande utilidade, na avaliação do comportamento do método, na análise de várias matrizes.

No geral, o método teve um comportamento aceitável, retornando percentagens de recuperação, sempre dentro do intervalo definido, podendo ser concluído que é exato. No que toca, à seletividade considerou-se que o método é seletivo para amostras de matrizes residuais de efluentes tratados e matrizes de águas naturais. Para as amostras de águas residuais de afluentes brutos, a seletividade é alcançada se for aplicada a técnica anteriormente descrita.

4.2.4.3. Comparação de métodos

Como referido anteriormente, o método utilizado pelo laboratório para a determinação de cloretos é a cromatografia iónica. Como tal, é de grande relevância a comparação dos resultados obtidos entre este método de referência com o potenciométrico, de forma, a constatar se os dois métodos apresentam diferenças significativas.

Neste trabalho, os dois métodos foram comparados com recurso ao teste t das amostras emparelhadas, presente no capítulo 2.4.7.3 Comparação de métodos. Este é bastante útil, pois no quotidiano do laboratório não foi possível a disponibilização do cromatógrafo iónico, para realizar ensaios repetibilidade, sobre amostras.

A comparação dos métodos, baseou-se em matrizes de águas residuais, pois são as que podem retornar valores mais discrepantes.

Na tabela 4.17, estão expostos os resultados obtidos para o método a validar, e para o método de referência, bem como as suas amplitudes e o valor de t experimental.

Tabela 4.17-Comparação entre o método potenciométrico e o método de cromatografia iónica

#	Matriz	Método Potenciométrico (mg Cl ⁻ /L)	Método Cromatográfico (mg Cl ⁻ /L)	Diferenças
1	ET	139,89	156,86	-16,97
2	ET	133,47	137,34	-3,87
3	ET	153,44	159,76	-6,32
4	ET	165,81	194,31	-28,50
5	AB	140,72	140,24	0,48
6	AB	256,57	249,57	7,00
7	ET	173,7	163,55	10,15
8	ET	197,32	217,04	-19,72
9	ET	156,85	170,85	-14,00
10	ET	177,03	174,77	2,26
11	AB	156,24	164,71	-8,47
12	AB	201,15	202,99	-1,84
13	AB	245,55	247,62	-2,07
			Média	-6,30
			S	11,03
			 t_{exp} 	2,06
			t_{tab(1%,12)}	2,68

Constata-se, a amplitude entre o resultado do método potenciométrico e do método cromatográfico, apresenta uma variabilidade grande, com um máximo, em módulo, de 28,50 mg Cl⁻/L e um mínimo de 0,48mg Cl⁻/L.

Esta variabilidade, pode dever-se ao facto de os frascos de amostra, de onde foi retirado o volume de amostra para a análise, não serem os mesmos para os dois métodos. Podendo um frasco, conter mais partículas em suspensão onde os cloretos, possivelmente, se fixam ou a amostra pode ter sido recolhida num local onde a concentração de cloretos não é totalmente homogénea. Outra possível causa, poderá ser o material de medição volumétrica utilizado, pois para amostras com partículas sólidas em suspensão, não é possível retirar o volume com uma pipeta volumétrica, utilizando-se uma proveta, que é menos precisa.

Concluiu-se, através do teste das diferenças, que para um nível de confiança de 99%, os resultados provenientes dos dois métodos não apresentam desvios significativos, pois $|t_{exp}| \leq t_{tab(1\%,12)}$.

No entanto, se fosse escolhido um nível de confiança de 95%, o resultado teria sido que existiam diferenças significativas. Pelo facto, de este apresentar uma região critica menor que para 99%, sendo de maior precisão o resultado obtido.

4.2.5. Robustez

Na avaliação da robustez, foram escolhidos sete fatores, entre os quais, a marca e concentração de nitrato de prata (fator A/a), o volume de amostra (fator B/b), a velocidade de agitação (fator C/c), a lavagem dos copos volumétricos com ácido (fator D/d), a utilização de um frasco âmbar para armazenar o nitrato de prata (E/e), a temperatura das amostras (F/f) e a forma de adicionar o ácido (G/g).

O planeamento dos ensaios, está representado na Tabela 3.11.

A matriz utilizada nestes testes, foi água natural subterrânea, cada ensaio foi preparado nas condições normais do método, excetuando as variações enunciadas anteriormente.

Os resultados de cada um dos ensaios, encontram-se na tabela 4.18.

Tabela 4.18-Resultados dos ensaios de robustez para o método de titulação potenciométrica

#	Ensaio 1 (mg Cl ⁻ /L)	Ensaio 2 (mg Cl ⁻ /L)	Ensaio 3 (mg Cl ⁻ /L)	Ensaio 4 (mg Cl ⁻ /L)	Ensaio 5 (mg Cl ⁻ /L)	Ensaio 6 (mg Cl ⁻ /L)	Ensaio 7 (mg Cl ⁻ /L)	Ensaio 8 (mg Cl ⁻ /L)
1	118,51	118,51	115,48	115,89	118,63	117,02	114,98	114,61
2	117,88	118,43	115,98	115,64	118,57	116,73	116,03	114,60
3	117,97	118,69	116,35	111,32	118,38	117,42	116,59	114,10
4	117,83	118,71	115,67	115,51	118,42	117,46	117,78	114,33
5	117,93	118,49	115,83	115,64	118,86	117,51	117,04	113,93
6	118,27	118,85	116,41	116,55	118,73	117,67	117,23	114,47
Média (mg Cl ⁻ /L)	118,07	118,61	115,95	115,09	118,60	117,30	116,61	114,34
S² (mg Cl ⁻ /L) ²	0,07	0,03	0,14	3,55	0,03	0,12	0,99	0,08

O ensaio 1 corresponde, aos parâmetros normais de operação do método. Efetuando uma análise preliminar aos resultados, verifica-se que para os ensaios onde se variou ligeiramente o volume de amostra, os resultados obtidos foram diferentes dos obtidos no primeiro ensaio.

Para verificar que fatores, mais influenciavam os resultados, foram calculados os efeitos. Através destes, é possível ordenar a influência de cada um dos fatores nos resultados finais, apontando o caráter da sua variação, ou seja, se têm um caráter positivo ou negativo. Na tabela 4.19, estão representados os resultados para o cálculo dos efeitos de cada fator.

Tabela 4.19-Resultados para o cálculo dos efeitos de cada fator

Fatores	$\sum Re_i(+)$	$\sum Re_i(-)$	Efeitos
A/a	467,72	466,85	0,22
B/b	472,58	461,99	2,65
C/c	469,23	465,35	0,97
D/d	467,63	466,95	0,17
E/e	465,66	468,91	-0,81
F/f	466,10	468,48	-0,60
G/g	467,07	467,51	-0,11

Claramente, o fator B, volume da amostra, destaca-se de entre os restantes. Era previsível, este resultado, pois estamos perante um método volumétrico, que é dependente do volume da amostra para os cálculos. Obviamente, que ao ser titulado menos volume de amostra, estarão menos partículas para reagir, do que se fossem colocados os 100mL, sendo o ponto de equivalência encontrado prematuramente. Observando-se assim, uma discrepância média de 3mg/L nos ensaios onde este fator é alterado.

Os restantes fatores, não apresentam ter tanta influência nos resultados, como o anterior. No entanto, a agitação da amostra, representada pelo fator C, revela um efeito próximo de 1. Quanto menor for a agitação da amostra, mais morosa será a reação completa e menos homogênea será a concentração em toda a amostra, causando erros de medição. Como o valor do efeito é positivo, conclui-se que este fator nas suas condições experimentais normais, tem um efeito aditivo nos resultados comparativamente com a sua variação.

Pelo contrário, o fator E, a utilização de um frasco âmbar para armazenar o titulante, mostra um efeito diminutivo nos resultados, para as condições normais, relativamente ao valor alternativo. No entanto, como o efeito obtido, tem um valor baixo, é desprezado.

Outra forma de avaliar a robustez, passa pela comparação das variâncias do ensaio 1 com as das restantes. Permitindo perceber, se existem diferenças significativas nas variâncias, dos resultados obtidos para cada conjunto de alterações, relativamente às condições normais de utilização do método. Na tabela 4.20, estão representados os resultados para o teste F. Se $F_{exp} \leq F_{crit}$ para um nível de significância de 95% e número de graus de liberdade n-1, então as variâncias dos ensaios não apresentam diferenças significativas. Os resultados deste teste, foram obtidos com recurso à ferramenta de análise de dados do *software excel*.

Tabela 4.20-Resultados para o teste de significância para avaliação da robustez

Ensaio	F_{exp}	$F_{crit} (5,5,95\%)$
S_1^2/S_2^2	2,73	5,05
S_3^2/S_1^2	1,92	
S_4^2/S_1^2	49,80	
S_1^2/S_5^2	2,14	
S_6^2/S_1^2	1,75	
S_7^2/S_1^2	13,82	
S_8^2/S_1^2	1,07	

Com este teste, conclui-se que os ensaios 4 e 7, apresentam diferenças significativas nas variâncias (S^2), comparativamente ao ensaio 1, para um nível de confiança de 95%, pois $F_{exp} > F_{crit}$.

Significando, que o conjunto de alterações efetuadas, tanto no ensaio 4 como no 7, contribuíram para um aumento na variabilidade dos resultados. O fator principal, que poderá ter levado a este resultado, considera-se ser o volume de amostra.

Com resultados obtidos para a robustez do método, conclui-se que este apenas não é robusto para alterações no volume de amostra, tendo este parâmetro que ser controlado rigorosamente.

4.3. Incerteza associada ao resultado

Para a estimativa da incerteza associada aos resultados do método, optou-se pela abordagem de modelação “passo-a-passo”, combinada com a incerteza baseada nos dados obtidos da validação.

4.3.1. Especificação da mensuranda

A mensuranda neste método, é a concentração de cloretos em mg/L, esta é descrita pela equação (4-1).

$$C_{Cl^-}(\text{mg/L}) = \frac{C_{AgNO_3} \times V_{gasto\ AgNO_3} \times 35,453 \times 1000}{V_{amostra}} \quad (4 - 1)$$

Onde:

C_{AgNO_3} = Concentração de nitrato de prata, mol/L;

$V_{gasto\ AgNO_3}$ = Volume de nitrato de prata gasto na titulação, mL;

35,453 = Massa molar de Cl, g/mol;

1000 = conversão de unidades de grama para miligrama;

$V_{amostra}$ = Volume de amostra, mL;

Na figura 4.19, encontra-se resumido procedimento adotado na determinação de cloretos em matrizes de água residual e natural.

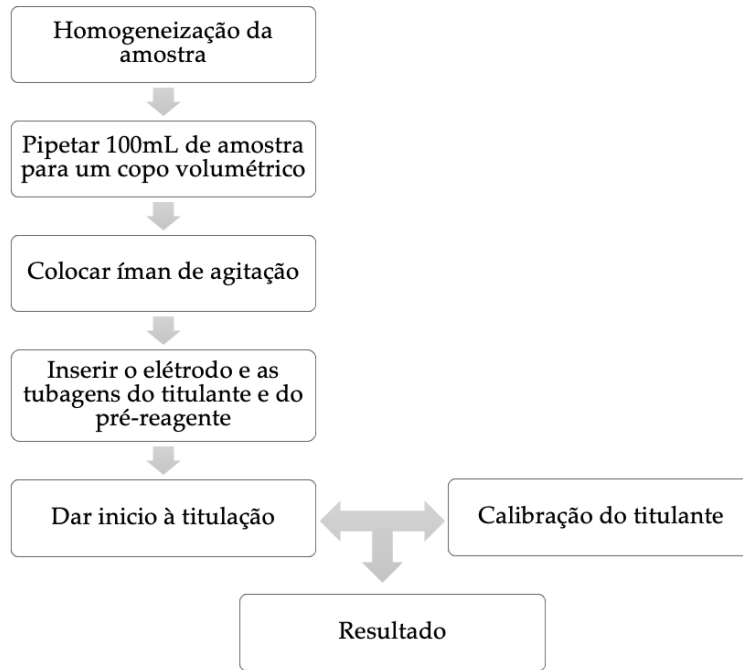


Figura 4.19-Esquema do procedimento para a determinação de cloretos

4.3.2. Identificação das fontes de incerteza

Para a identificação das fontes de incerteza do método em questão, foi construído um diagrama de causa efeito, representado pela figura 4.20.

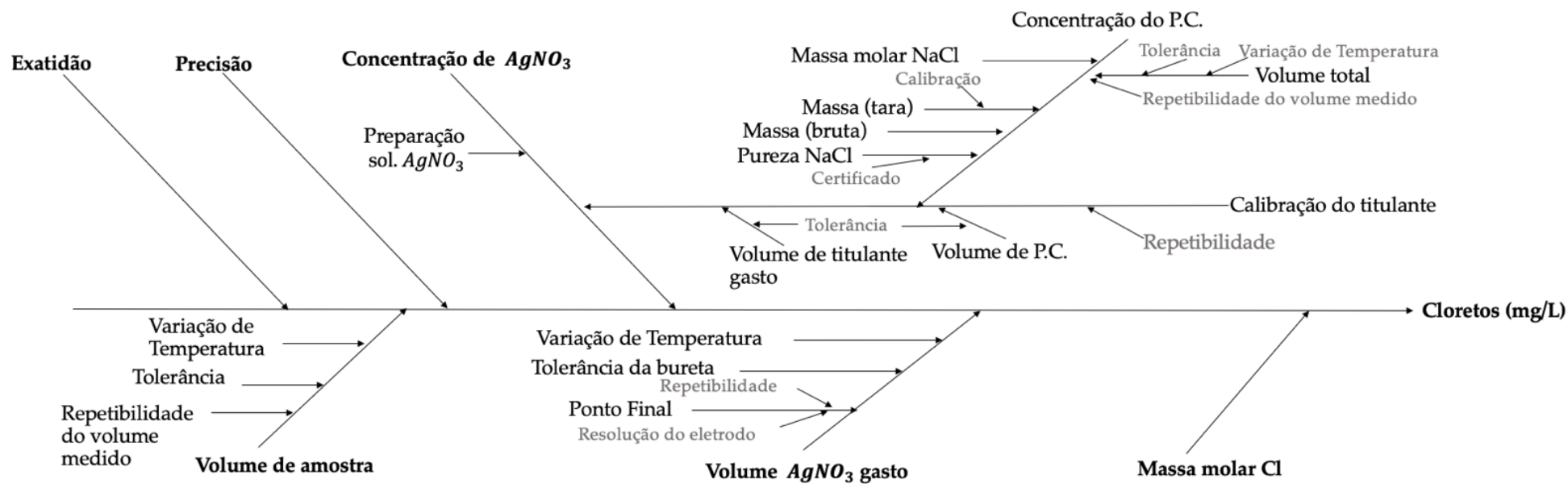


Figura 4.20-Diagrama de causa efeito para o método de potenciometria indireta

4.3.3. Quantificação da incerteza

A quantificação da incerteza, foi calculada com base nas fontes de incerteza representadas na figura 4.20.

4.3.3.1. Incerteza associada à concentração de AgNO_3

Quando são preparadas novas soluções de titulante ou quando se acredita que a solução esteve exposta a condições, que de alguma forma alteraram a sua concentração, é necessário proceder à calibração do titulante, ou seja, determinar a sua real concentração. A este procedimento estão associadas algumas fontes de incerteza, nomeadamente, a preparação da solução de titulante, a concentração do padrão de calibração do titulante (P.C.), a pipetagem de 5mL de P.C. e o volume gasto de titulante para a reação. A reprodutibilidade de cada fonte, será calculada conjuntamente, com outras componentes responsáveis pela precisão.

Incerteza associada à concentração do padrão de calibração

A incerteza associada à concentração do padrão de calibração, abrange quatro componentes: a pesagem de cloreto de sódio, a pureza do sal, a massa molecular do NaCl e o volume preparado de solução.

▪ Incerteza associada à pesagem

O laboratório efetua anualmente calibrações aos aparelhos de pesagem, e para a massa de 1,0000g, a balança apresenta uma incerteza expandida de 0,00008g para um fator de expansão de 2,05. Para se obter a incerteza padrão da pesagem, basta dividir a incerteza expandida pelo fator de expansão. A tabela 4.21, exhibe a incerteza padrão, relacionada com a pesagem, u_m , bem como a incerteza padrão relativa u_m/m .

Tabela 4.21-Incerteza padrão relativa associada à pesagem

Sal	m (g)	$U_{\text{expandida}}$ (g)	k	u_m	u_m/m
NaCl	1,1688	0,000 08	2,05	0,000 039g	0,000 033

▪ Incerteza associada à pureza do NaCl

A incerteza padrão associada à pureza do cloreto de sódio, foi estimada assumindo uma distribuição retangular, aplicando a equação (2-46). Na tabela 4.22, apresentam-se os resultados para a incerteza padrão relativa associada à pureza, $u_{\text{pureza}}/\text{pureza}$.

Tabela 4.22-Incerteza padrão relativa associada à pureza de NaCl

Sal	Pureza	Tolerância	u_{pureza}	$u_{\text{pureza}}/\text{pureza}$
NaCl	0,998	$\pm 0,0010$	0,000 58	0,000 57

▪ **Incerteza associada à massa molecular de NaCl**

A incerteza relativa à massa molar do cloreto de sódio, é determinada pela aplicação da equação (2-51). Em que é necessário a incerteza de cada elemento que compõe este sal, para tal recorreu-se à tabela da IUPAC, representando-se estes valores na tabela 4.23. Para o cálculo da incerteza padrão da massa molar, considerou-se uma distribuição retangular.

Tabela 4.23-Incertezas padrão associadas às massas moleculares dos elementos

Elemento	MM (g/mol)	Incerteza (Tabela IUPAC) ⁵⁵ (g/mol)	u_{MM} (g/mol)
Na	22,989	±20,00E-09	11,54E-09
Cl	35,453	±0,0020	0,0012

Para a caracterização da incerteza padrão do cloreto de sódio, foi aplicada a equação (4 - 2). Os resultados, da sua aplicação estão expostos na tabela 4.24, juntamente com o cálculo das incertezas padrão relativas.

$$u_{MM(NaCl)} = \sqrt{(u_{MM(Na)})^2 + (u_{MM(Cl)})^2} \quad (4 - 2)$$

Tabela 4.24-Incerteza padrão relativa associada à massa molar de NaCl

Sal	MM (g/mol)	u_{MM} (g/mol)	$u_{MM NaCl} / MM NaCl$
NaCl	58,442	0,0012	0,000 020

▪ **Incerteza associada ao volume de P.C. preparado**

A solução para a calibração da concentração de titulante, é preparada num balão volumétrico de 1L com uma tolerância de ±0,0004L. Para avaliar a incerteza ligada a esta operação, aplica-se a equação (2-48). Como o laboratório, apresenta climatização central controlada, não havendo variações superiores a ±4 °C, a componente relativa à temperatura foi desprezada.

Para o cálculo da incerteza relativa à u_{V}^{Calib} , considerou-se uma distribuição retangular. Na tabela 4.25, estão representados os resultados para a incerteza do volume de padrão de calibração de titulante.

Tabela 4.25-Incerteza padrão relativa associada ao volume de P.C. preparado

$V_{P.C.mãe}$ (L)	Tolerância Balão Volumétrico (L)	$u_{V_{P.C.mãe}}$ (L)	$u_{V_{P.C.mãe}} / V_{P.C.mãe}$
1	±0,0004	0,0002	0,0002

As incertezas padrão relativas calculadas acima, combinadas, resultam na incerteza padrão da concentração do padrão de calibração, como mostra a equação (4-3).

$$u(C_{P.C.m\tilde{a}e}) = C_{P.C.m\tilde{a}e} \sqrt{\left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(C_{pureza})}{pureza}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{P.C.m\tilde{a}e})}{V_{P.C.m\tilde{a}e}}\right)^2 + \left(\frac{u(MM NaCl)}{MM NaCl}\right)^2} \quad (4-3)$$

Na tabela 4.26, está representado a incerteza padrão para a $C_{P.C.m\tilde{a}e}$.

Tabela 4.26-Incerteza padrão associada à concentração do padrão de calibração mãe

$C_{P.C.m\tilde{a}e}$ (mol/L)	$u(C_{P.C.m\tilde{a}e})$ (mol/L)
0,02	0,00012

Incerteza associada à calibração do titulante

Com a solução de padrão de calibração preparada, o passo seguinte será a operação de calibração propriamente dita. Na qual, estão associadas novamente incertezas, nomeadamente a incerteza padrão da concentração do padrão de calibração $u(C_{P.C.m\tilde{a}e})$, calculada anteriormente, o volume pipetado desta solução, e o volume de titulante gasto na operação de titulação.

O procedimento de calibração, consiste na pipetagem de 5mL de volume com uma pipeta volumétrica de 5mL, com tolerância de $\pm 0,015$ mL para um balão volumétrico de 100mL, com uma tolerância de $\pm 0,1$ mL. Esta solução é transferida para o copo volumétrico, onde se dá a titulação. A incerteza padrão, referente a este procedimento, é dada pela equação (4-4).

$$u_{C_{calib. AgNO_3}} = C_{calib. AgNO_3} \sqrt{\left(\frac{u(C_{P.C.m\tilde{a}e})}{C_{P.C.m\tilde{a}e}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{P.C.})}{V_{P.C.}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{titulante\ gasto})}{V_{titulante\ gasto}}\right)^2} \quad (4-4)$$

▪ Incerteza associada ao volume de padrão de calibração

A incerteza padrão relativa, resultante da preparação do volume de padrão de calibração a ser titulado, está representado na tabela 4.27.

Tabela 4.27- Incerteza padrão relativa associada ao volume de padrão de calibração para a aferição do $AgNO_3$

$V_{P.C.}$ (L)	Tolerância Pipeta 5mL (L)	Tolerância Balão 100mL (L)	$u_{V_{P.C.}}$ (L)	$u_{V_{P.C.}}/V_{P.C.}$
0,1	$\pm 0,000\ 015$	$\pm 0,0001$	0,000\ 058	0,00\ 058

▪ Incerteza associada ao volume de titulante gasto na calibração

Para a calibração de titulante, com a concentração do padrão de calibração 0,02M de cloreto de sódio, são necessários 5mL de nitrato de prata para ser atingido o ponto de equivalência, a bureta utilizada para a titulação tem 10mL e uma tolerância de 0,05mL.

No cálculo, da incerteza padrão relativa deste procedimento, foi assumido uma distribuição retangular, para a incerteza padrão do volume de titulante gasto. A tabela 4.28, reitera os resultados obtidos.

Tabela 4.28-Incerteza padrão relativa associada ao volume de titulante gasto na calibração

$V_{AgNO_3 \text{ gasto aferição}}$ (L)	Tolerância Bureta (L)	$u_{V_{AgNO_3 \text{ gasto aferição}}}$ (L)	$\frac{u_{V_{AgNO_3 \text{ gasto aferição}}}}{V_{AgNO_3 \text{ gasto aferição}}}$
0,005	±0,000 05	0,000 029	0,0058

Com estas componentes, é possível o cálculo da incerteza padrão associada à calibração do titulante, na tabela 4.29, aplicando a equação (4-4).

Tabela 4.29-Incerteza padrão relativa associada à calibração de AgNO₃

$C_{calib. AgNO_3}$ (mol/L)	$u_{C_{calib. AgNO_3}}$ (mol/L)	$\frac{u_{C_{calib. AgNO_3}}}{C_{calib. AgNO_3}}$
0,02	0,000 11	0,0058

Incerteza associada à preparação da solução de titulação, AgNO₃

O laboratório, optou por adquirir soluções de AgNO₃, de concentração superior à que é utilizada para a titulação de cloretos. Isto prende-se ao facto, da titulação ser um método em que é gasto reagente com muita facilidade, e a aquisição de solução de nitrato de prata é muito morosa.

Por esta razão, efetuam-se diluições da solução mais concentrada para se obter o teor desejado para a titulação. A concentração da solução mãe adquirida possuía 1M, sendo necessário diluir, um determinado volume desta solução, para preparar a concentração de 0,02M, a utilizada na titulação. Para a diluição foram pipetados, com uma pipeta volumétrica de 20mL (tolerância ± 0,03mL), 20 mL da solução comercial adquirida (solução mãe), esta com uma incerteza expandida de ± 0,003 mol/L, para um balão volumétrico de 1 000mL (tolerância ± 0,4mL).

As componentes relativamente à incerteza na diluição da solução, compreendem a incerteza da concentração da solução mãe, $C_{sol.mãe}$, a incerteza do volume de solução mãe pipetado para a solução diluída, $V_{sol.mãe}$, e a incerteza do volume final, V_{final} .

Cada uma destas incertezas e os parâmetros necessários para o seu cálculo, estão representadas nas tabelas 4.30, 4.31 e 4.32.

Tabela 4.30-Incerteza padrão relativa associada à solução mãe de AgNO₃

$C_{AgNO_3 sol.mãe}$ (mol/L)	$U_{expandida}$ (mol/L)	k	$u_{C_{sol.mãe}}$ (mol/L)	$\frac{u_{C_{sol.mãe}}}{C_{sol.mãe}}$
1	± 0,003	2	0,0015	0,0015

Tabela 4.31-Incerteza padrão relativa associada ao volume pipetado de solução mãe de AgNO₃

$V_{sol.mãe}$ (L)	Tolerância Pipeta Volumétrica (L)	$u_{V_{sol.mãe}}$ (L)	$u_{V_{sol.mãe}}/V_{sol.mãe}$
0,02	± 0,000 03	0,000 017	0,000 87

Tabela 4.32-Incerteza padrão relativa associada ao volume final preparado de AgNO₃

V_{final} (L)	Tolerância Balão volumétrico (L)	$u_{V_{final}}$ (L)	$u_{V_{final}}/V_{final}$
1	±0,0004	0,0002	0,000 23

Com a aplicação da equação (2-52), são combinadas as três fontes de incerteza calculadas, resultando na incerteza padrão relativa para a preparação da solução de titulante a utilizar nas análises, representada pela tabela 4.33.

Tabela 4.33-Incerteza padrão relativa associada à diluição da solução mãe de AgNO₃

C_{final} (mol/L)	$u_{C_{final}}$ (mol/L)	$u_{C_{final}}/C_{final}$
0,02	0,000 034	0,0017

Na tabela 4.34, estão quantificadas todas as fontes de incerteza relativas à concentração do titulante utilizado para o cálculo da mensuranda.

Tabela 4.34-Resumo das incertezas padrão relativas associadas à concentração de AgNO₃

$u_{C_{calib. AgNO_3}}/C_{calib. AgNO_3}$	0,0058
$u_{C_{final}}/C_{final}$	0,0017

Incerteza associada ao volume de amostra

A mensuranda, depende do volume de amostra para a sua determinação. E como tal, similarmente à concentração de AgNO₃, tem uma incerteza associada.

A preparação do volume de amostra, compreende a etapa de homogeneização da amostra, a pipetagem de 100mL da mesma., com uma pipeta volumétrica de 100mL, com tolerância de ±0,08mL. A tabela 4.35, resume a incerteza padrão relativa, da preparação do volume da amostra a titular.

Tabela 4.35-Incerteza padrão relativa associada ao volume de amostra

$V_{amostra}$ (L)	Tolerância Pipeta volumétrica (L)	$u_{V_{amostra}}$ (L)	$u_{V_{amostra}}/V_{amostra}$
0,1	±0,000 08	0,000 046	0,000 46

Incerteza associada ao volume de AgNO₃ gasto na titulação

A incerteza associada ao volume de nitrato de prata gasto, depende da concentração de cloretos presentes na amostra, tendo, portanto, um caráter variável. Para contornar este problema, decidiu-se determinar a incerteza do volume de titulante gasto, nos limites da curva de trabalho e no ponto médio, 71, 213 e 355 mg/L, abrangendo uma boa parte das possibilidades de variabilidade da incerteza.

Na tabela 4.36, estão caracterizadas as incertezas padrão relativas para cada concentração.

Tabela 4.36-Incerteza padrão relativa associada ao volume gasto de AgNO₃ na titulação

Padrão (mg/L)	$V_{AgNO_3\ gasto}$ (L)	Tolerância Bureta (L)	$u_{V_{AgNO_3\ gasto}}$ (L)	$u_{V_{AgNO_3\ gasto}}/V_{AgNO_3\ gasto}$
71	0,01	±0,000 05	28,87E-09	28,87E-07
213	0,03	±0,000 05	28,87E-09	96,23E-08
355	0,05	±0,000 05	28,87E-09	57,74E-08

Incerteza associada à massa molar de Cl⁻

O último parâmetro, que influencia o cálculo da mensuranda é a massa molecular do cloreto. A sua incerteza padrão relativa, está representada na tabela 4.37.

Tabela 4.37-Incerteza padrão relativa associada à massa molar do Cl⁻

Anião	MM (g/mol)	u_{MM} (g/mol)	$u_{MM\ Cl^-}/MM\ Cl^-$
Cl ⁻	35,453	0,0012	0,000 033

Incerteza associada à precisão

À incerteza combinada do método, é relacionada outra componente de grande importância a precisão. Para a sua determinação, optou-se por utilizar dados do controlo de qualidade, nomeadamente replicados de amostras e/ou padrões de controlo.

Neste caso, foi combinada a precisão associada ao replicado de nove amostras de matrizes de águas residuais, tanto brutas como tratadas, com os dados dos padrões de controlo, obtidos em condições de precisão intermédia.

Para o cálculo, da precisão associada à replicação de amostras diferentes, foi utilizada a equação (2-54). Os resultados dos ensaios estão representados na tabela 4.38, bem como os parâmetros necessários para o cálculo sua incerteza.

Tabela 4.38-Resultados associados aos ensaios de nove amostras (n=5)

Amostra #	A (mgCl ⁻ /L)	B (mgCl ⁻ /L)	C (mgCl ⁻ /L)	D (mgCl ⁻ /L)	E (mgCl ⁻ /L)	F (mgCl ⁻ /L)	G (mgCl ⁻ /L)	H (mgCl ⁻ /L)	I (mgCl ⁻ /L)
1	132,09	155,50	159,10	160,56	191,16	132,06	157,47	118,63	167,79
2	132,39	152,92	158,71	161,97	192,40	130,34	156,01	118,57	168,28
3	132,57	153,17	159,84	163,24	191,61	131,20	158,52	118,38	168,84
4	133,47	153,44	159,16	161,26	190,16	132,89	157,19	118,42	168,82
5	133,59	153,92	159,11	161,99	191,97	131,47	157,73	118,86	168,91
Média (mgCl⁻/L)	132,82	153,79	159,18	161,80	191,46	131,59	157,38	118,57	168,53
$(y_{jk} - \bar{y}_j)^2$ (mgCl ⁻ /L)	1,80	4,20	0,67	3,97	2,95	3,64	3,34	0,15	0,93
$\sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n (y_{jk} - \bar{y}_j)^2$ (mgCl ⁻ /L)	21,65								
t(n-1)	36								

Com a aplicação da equação anterior, obteve-se a incerteza padrão absoluta, no entanto, interessa utilizar a incerteza na sua forma relativa, dividindo pelo valor médio das concentrações de amostras obtidas. Na tabela 4.39, estão representados estes resultados.

Tabela 4.39-Incerteza padrão relativa associada à precisão, a partir de replicados de amostras

$u_{\text{preci,amost}}$ (mg Cl ⁻ /L)	$u_{\text{preci,amost}}/y$
0,78	0,0051

Para a determinação da incerteza, associada à componente dos padrões de controlo, foram utilizados os dados da validação da precisão intermédia, para as concentrações 71 e 355 mg Cl⁻/L, e adicionalmente foi analisado o padrão de 213 mgCl⁻/L, em dias diferentes.

Os resultados obtidos para os ensaios, bem como a incerteza padrão relativa (coeficiente de variação), calculada a partir da equação (2-55), estão expostos na tabela 4.40.

Tabela 4.40-Resultados obtidos para as concentrações 71, 213, 355 mg Cl⁻/L, obtidas em condições de precisão intermédia, e incertezas padrão relativas respectivas

#	Padrão 71 (mg Cl ⁻ /L)	Padrão 213 (mg Cl ⁻ /L)	Padrão 355 (mg Cl ⁻ /L)
1	71,34	211,90	355,56
2	70,77	210,64	354,29
3	69,86	213,46	352,63
4	71,61	210,20	349,62
5	71,49	213,31	354,80
6	71,11	212,57	354,10
7	70,12	211,90	350,30
8	70,17	210,64	349,19
9	72,21	213,31	356,38
10	71,72	212,57	357,08
11	71,07	213,46	354,02
12	71,02	213,31	349,19
13	71,93	212,57	355,82
14	71,75	213,31	354,29
15	70,98	212,57	352,61
16	71,58	213,50	354,55
Média (mgCl⁻/L)	71,17	212,45	353,40
S_i (mgCl⁻/L)	0,65	1,07	2,49
u_{prec,PC}	0,0092	0,0050	0,0070

De forma, a ser calculada a incerteza da precisão do método, foram combinadas as incertezas calculadas anteriormente, através da equação (2-53). Tendo-se obtido, três incertezas de precisão, que cobrem a variabilidade do método, descritas na tabela 4.41.

Tabela 4.41-Incerteza padrão relativa associada a cada concentração

	u' precisão
71 mg Cl⁻/L	0,011
213 mg Cl⁻/L	0,0073
355 mg Cl⁻/L	0,0089

Incerteza associada à exatidão

A avaliação da incerteza associada à exatidão, foi determinada com recurso a dados de fortificação/recuperação de amostras. Para esta avaliação, foram analisadas oito amostras com matrizes de águas residuais. As recuperações, foram efetuadas num volume de 100mL de amostra, no qual foram adicionados 5mL de fortificação com uma micropipeta (tolerância ±0,0032mL), da solução padrão de 1000 mg Cl⁻/L. De forma, a

que com o efeito de diluição, se obtenha uma concentração de fortificação de 50 mgCl⁻/L.

O primeiro passo para calcular a incerteza da exatidão, após se obter as percentagens de recuperação, corresponde à determinação do desvio à da recuperação, através da equação (2-58). Na tabela 4.42, encontram-se todos os resultados dos ensaios e do $b'_{i,rel}$.

Tabela 4.42-Resultados para as recuperações com uma fortificação de 50mg Cl⁻/L

Amostra	C _{nativa}	Cobs	Recuperação	b' _{i,rel}
A	111,96	161,22	0,99	-0,001
B	213,97	264,38	1,01	0,022
C	211,32	260,85	0,99	0,004
D	105,29	155,82	1,01	0,024
E	194,04	243,93	1,00	0,011
F	289,87	337,68	0,96	-0,031
G	115,72	164,46	0,97	-0,012
H	99,832	148,32	0,97	-0,017
		Média	0,99	

O segundo passo, passou pela aplicação da equação (2-57), com o cálculo do desvio quadrático das diferenças relativas. De seguida, para a determinação da incerteza padrão relativa da concentração de analito adicionada, u'_{ad} , foram combinadas as incertezas padrão relativas associadas ao volume, u'_v , e concentração de fortificação, u'_{conc} adicionadas, através da equação (2-59).

Por fim, a incerteza padrão da exatidão foi obtida através da equação (2-56). Todos os resultados, estão expostos na tabela 4.43.

Tabela 4.43-Incerteza padrão relativa associada à exatidão

b_{rms}	0,018
u'_v	0,00032
u'_{conc}	0,00042
u'_{ad}	0,00053
$u'_{exatidão}$	0,018

4.3.4. Incerteza Combinada

Para associar todas as incertezas padrão quantificadas, aplica-se a Lei da Propagação das Incertezas, obtendo-se a expressão (4-5).

$$u(C_{Cl^-}) = C_{Cl^-} \sqrt{\left(\frac{u_{C_{calib. AgNO_3}}}{C_{calib. AgNO_3}}\right)^2 + \left(\frac{u_{C_{final}}}{C_{final}}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{amostr}}}{V_{amostr}}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{AgNO_3\ gasto}}}{V_{AgNO_3\ gasto}}\right)^2 + \left(\frac{u_{MM\ Cl^-}}{MM\ Cl^-}\right)^2 + (u_{prec})^2 + (u_{exat})^2} \quad (4-5)$$

Na tabela 4.44, estão apresentadas todas as incertezas identificadas e quantificáveis, e que fazem parte integrante da determinação incerteza combinada do método.

Tabela 4.44-Incertezas padrão relativas associadas ao método de potenciometria indireta para a detecção de cloretos

$\frac{u_{C_{calib. AgNO_3}}}{C_{calib. AgNO_3}}$	0,0058	Incerteza padrão relativa associada à calibração da concentração de $AgNO_3$
$\frac{u_{C_{final}}}{C_{final}}$	0,0017	Incerteza padrão relativa associada à preparação da solução de $AgNO_3$
$\frac{u_{V_{amostr}}}{V_{amostr}}$	0,00046	Incerteza padrão relativa associada ao volume de amostra a titular
$\frac{u_{V_{AgNO_3\ gasto}}}{V_{AgNO_3\ gasto}}$	P.C. 71: 0,000 0029	Incerteza padrão relativa associada ao volume gasto na titulação de cada padrão de controlo
	P.C. 213: 0,000 0010	
	P.C. 355: 0,000 0006	
$\frac{u_{MM\ Cl^-}}{MM\ Cl^-}$	0,000 033	Incerteza padrão relativa associada à massa molar dos cloretos
$u'_{precisão}$	P.C. 71: 0,011	Incerteza padrão relativa associada à precisão do método para cada padrão de controlo
	P.C. 213: 0,0073	
	P.C. 355: 0,0089	
$u'_{exatidão}$	0,018	Incerteza padrão relativa associada à exatidão

De forma, a perceber a contribuição de cada uma das incertezas padrão, foi construído um gráfico, representado pela figura 4.21. De onde, se depreende que as componentes que mais influência têm são a precisão, a exatidão e a calibração da concentração do $AgNO_3$, ocupando 92% da incerteza.

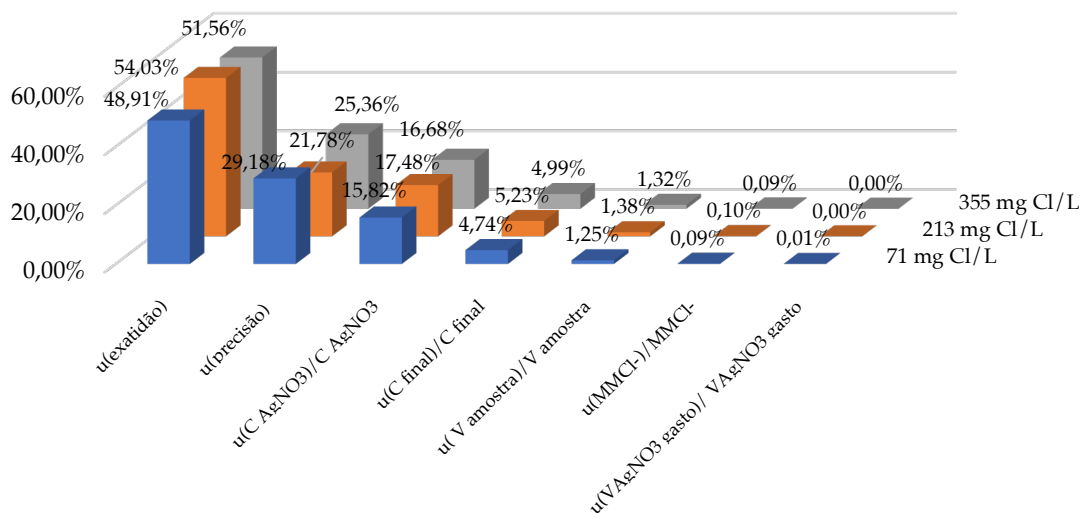


Figura 4.21-Contribuições de cada incerteza padrão relativa para a incerteza do método

Com a aplicação da fórmula da lei de propagação para cada uma das concentrações, 71, 213 e 355 mg/L, obtêm-se as seguintes equações para cada concentração respectivamente.

$$\text{P.C. 71} \quad u(C_{Cl^-}) = C_{Cl^-} \times 0,0022 \quad (4-6)$$

$$\text{P.C. 213} \quad u(C_{Cl^-}) = C_{Cl^-} \times 0,0020 \quad (4-7)$$

$$\text{P.C. 355} \quad u(C_{Cl^-}) = C_{Cl^-} \times 0,0021 \quad (4-8)$$

A tabela 4.45, demonstra os resultados da aplicação das equações (4-6), (4-7) e (4-8), da incerteza combinada, para as concentrações 71, 213 e 355 mg Cl⁻, respectivamente.

Tabela 4.45-Incertezas combinadas para os limiares e meio dos padrões de trabalho

[Cl ⁻] mg Cl ⁻ /L	71	213	355
u(C _{Cl⁻}) mg Cl ⁻ /L	1,55	4,34	7,46

4.3.5. Incerteza expandida

O laboratório em questão, considera um nível de confiança de 95%, para o cálculo da incerteza expandida, U , correspondendo a um fator de expansão, k , de aproximadamente 2. Os resultados da aplicação da equação (2-61), para o cálculo da incerteza expandida, do método de potenciometria indireta, estão representadas na tabela 4.46.

Tabela 4.46-Incerteza expandida

$[Cl^-]$ mg Cl^- /L	71	213	355
$U(C_{Cl^-})$ mg Cl^- /L	3,11	8,69	14,92
$U(C_{Cl^-})$ %	4,38%	4,08%	4,20%

A incerteza expandida, em termos percentuais, representa cerca de 4,22%. Este é um valor bastante aceitável, tendo em conta que segundo a diretiva Europeia (2015/1787), para os cloretos permite-se valor de 15% para a incerteza expandida.

5. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

Para um laboratório ser acreditado, os métodos que pratica terão de estar validados de modo a comprovar que estes, têm a capacidade de retornar resultados consistentes e de confiança. Neste trabalho, o foco principal foi a implementação e validação do método de titulação potenciométrica.

Na implementação, foram avaliados três parâmetros importantes: os incrementos de titulante adicionados na titulação dinâmica, a velocidade de agitação da amostra e o comportamento de resposta do eléctrodo. Verificou-se, que os melhores resultados eram obtidos, quando o titulante era adicionado em incrementos de 1mL antes de ser atingido o ponto de equivalência, e 0,1mL na área do mesmo. A velocidade de agitação que permitiu uma melhor agitação, sem que haja deposição de precipitado no eléctrodo e simultaneamente, revelou um traçado de curva de titulação consistente, foi de 25%. E, os critérios de estabilização de resposta do eléctrodo que revelaram resultados mais exactos, foram um tempo de estabilização mínimo e máximo de 5s e 20s, respetivamente, e um *drift* de estabilização de 10mV/min. Com estas alterações, constatou-se que o equipamento, estava apto para a validação do método para deteção de cloretos.

No que toca à validação, o método foi sujeito à avaliação de vários parâmetros, nomeadamente linearidade, limiares analíticos, precisão, exatidão, seletividade e robustez, ao longo da curva de trabalho escolhida.

Apesar de este não ser um método que necessite de curvas de calibração para a obtenção de resultados, constatou-se que com os padrões definidos para a simulação de uma curva de trabalho, este comprovou uma boa correlação entre a concentração de cloretos, e o volume gasto de nitrato de prata, com coeficientes de correlação e determinação superiores a 0,999. Assim como a linearidade entre estes, comprovada pela aplicação do teste de *Rikilt* e *Mandel*, em cada curva ensaiada. Adicionalmente, verificou-se que o coeficientes de variação e erros relativos, obtidos com a repetição de cada padrão, foram inferiores a 1%, o que demonstra uma boa exatidão e precisão, do método para com estes.

Verificou-se que a gama de trabalho, com os padrões definidos, está bem ajustada dado que não foram comprovadas diferenças significativas entre variâncias dos volumes gastos, para o padrão de 71mg Cl⁻/L e 355mgCl⁻/L.

Os limiares analíticos, foram estimados através da análise de brancos e padrões vestigiais e também, do desvio padrão residual da curva de trabalho. Obtiveram-se, como esperado, valores menores para os limites, pela análise de brancos e maiores com a metodologia do desvio padrão residual. No entanto, os resultados de todas as metodologias utilizadas, cumprem com o DL nº152/2017, que define para o valor paramétrico de cloretos de 250 mg/L, um limite de 10% deste valor para o limite de deteção e 30% para o limite de quantificação, o que corresponde a 25 e 75mg/L, respetivamente.

No estudo da precisão, foram avaliados dois parâmetros: a repetibilidade e a precisão intermédia. Os ensaios em condições de repetibilidade, revelaram-se bastante

satisfatórios, na medida em que, os coeficientes de variação obtidos foram inferiores a 1%, e os limites de repetibilidade não foram ultrapassados, em nenhum ponto da curva de trabalho.

Em relação, ao parâmetro que melhor descreve as condições de análise de um laboratório, a precisão intermédia, que foi avaliada apenas pelo coeficiente de variação, dos padrões de 71 e 355mgCl⁻/L, confirmou-se a inexistência de uma dispersão de resultados superior a 1%. Deste modo, conclui-se que o método demonstra ter uma boa precisão, para a gama de concentrações estudada.

A exatidão do método, foi estudada através de materiais de referência certificados, ensaios de recuperação e teste comparativo. Os resultados obtidos nos ensaios do material de referência certificado, para uma matriz de água de consumo humano, revelaram um *z-score*, inferior ao critério de 2, e um erro relativo inferior a 2%, cumprindo os requerimentos para ser considerado exato, neste caso. Teria sido de grande interesse, a análise de MRC's para matrizes de águas residuais, no entanto, o laboratório dispunha de nenhuma.

Com os ensaios de recuperação, permitiu-se avaliar não só a exatidão, como também, se nas matrizes de águas residuais tratadas, brutas e naturais subterrâneas, existiriam componentes que interferissem com o método. Verificou-se que, para matrizes de águas naturais subterrâneas, as recuperações obtidas estão muito próximas do valor ideal, 100%, com um desvio apenas de 0,2%. Para as matrizes de águas residuais tratadas, as recuperações apresentaram um desvio médio de -4,26% do valor ideal, podendo dever-se a erros de pipetagem da concentração de fortificação, ou a insuficiente homogeneização da amostra.

Já as matrizes de águas residuais brutas, foram as que mais variabilidade apresentaram entre amostras, pelo facto de possuírem uma heterogeneidade de componentes, bem como matéria sólida. No entanto, todas as recuperações cumpriram o critério de $\pm 15\%$ do valor ótimo.

Observou-se durante os ensaios, o aparecimento de um ponto de equivalência não correspondente aos cloretos, indicando a presença de um interferente. Como este precipitava em primeiro lugar, foi definido para estas matrizes a adição preliminar de titulante, para que este reagisse na totalidade e assim não interferisse nos resultados de cloretos.

Em relação, à comparação de resultados obtidos, pelo método potenciométrico e cromatográfico, foi aplicado o teste das amostras emparelhadas, onde se verificou que os valores obtidos, não apresentavam diferenças estatísticas significativas. Este teste, foi efetuado para um grau de confiança de 99%, que apesar de possuir apenas 1% de probabilidade dos resultados obtidos não corresponderem à realidade, tem a desvantagem de apresentar uma região crítica muito maior que para 95%, apresentando menos precisão no resultado obtido. Outra forma possível de aumentar a confiança no resultado, seria com o aumento do número de amostras.

Teria sido uma mais-valia, a aplicação do teste comparativo das médias, no entanto, o sistema cromatográfico iónico é um aparelho muito utilizado pelo laboratório não tendo sido possível a repetição de ensaios sobre uma amostra.

O método revelou ser robusto para seis dos sete fatores testados, sendo que a variação de -2% de volume de amostra demonstrou ser um fator crítico, que tem de ser controlado, apresentando um efeito significativo nos resultados obtidos.

De acordo com os resultados descritos, o método de titulação potenciométrica para a detecção de cloretos, implementado no laboratório de análises das Águas do Algarve, foi validado com sucesso, permitindo determinação fidedigna deste anião, nas condições em que foi validado.

Posteriormente à validação do método, foi estimada a sua incerteza associada, através da aplicação da abordagem “passo-a-passo” combinada com dados da validação. Em que as incertezas que mostraram ter mais influência, correspondem à exatidão, precisão e calibração da concentração de titulante, equivalendo a 92% da incerteza.

As incertezas pertencentes à precisão e exatidão, possuem um valor elevado pelo facto de ter sido utilizada uma metodologia conservadora para a sua estimativa, na medida em que cobre todas as possíveis incertezas associadas a estes parâmetros.

Desta forma foi obtido um valor médio de incerteza expandida, correspondente às três concentrações da curva de trabalho, de 4,22%.

Potenciais trabalhos futuros no seguimento deste trabalho, serão a avaliação do comportamento do método para uma concentração mais elevada de titulante e a construção de cartas de controlo, onde se avaliem os resultados do método, ao longo do tempo para várias matrizes.

Referências Bibliográficas

1. Carvalho E., Andrade I., Ramos A.R., Gonçalves P., Gomes F., Matins S., Mendes P.; "PEAASAR II: Plano Estratégico de Abastecimento de Água e de Saneamento de Águas Residuais 2007-2013. Relatório de Acompanhamento 2008"; Dezembro de 2009. http://www.escritadigital.pt/edicoes/imagens/@ficheiros/2459_PEAASAR II.pdf.
2. ERSAR. "Controlo da Qualidade da Água"; <http://www.ersar.pt/pt/o-que-fazemos/controlo-da-qualidade-da-agua>. Data de acesso: 10 de Novembro de 2021;
3. Nollet L.M.L., Gelder L.S.P. De; "Handbook of Water Analysis"; 3rd ed.; 2013. doi:<https://doi.org/10.1201/b15314>
4. World Health Organization. "Guidelines for Drinking-water Quality"; 4th ed.; 2017.
5. Dobbs R.A., Williams R.T.; "Elimination of Chloride Interference in the Chemical Oxygen Demand Test". *Anal Chem.* 1963; 35(8):1064-1067. doi:10.1021/ac60201a043
6. Stone J; "The Chemistry of Chemical Oxygen Demand". 2001.
7. Baird R.B., Eaton A.D., Rice E.W.; "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater". American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation. 2017.
8. Skoog D.A.; Crouch S.R.; West D.M.; Holler F. J.; "Fundamentals of Analytical Chemistry". 9th ed. Cengage Learning, Inc; 2014.
9. Scholz F., Bond A.M., Compton R.G., Fiedler D.A., Inzelt G., Kahlert H., Komorsky-Lovric S., Lohse H., Lovric M.; Marken F.; Neudeck A.; Retter U.; Stojek Z.; "Electroanalytical Methods". 1st ed. (Fritz Scholz, ed.). Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2002. doi:10.1007/978-3-662-04757-6
10. Sawyer D.T., Sobkowiak A., Roberts J.L.; "Electrochemistry for Chemists". 2nd ed. Wiley-Interscience; 1996.
11. Inzelt G., Lewenstam A., Scholz F. "Handbook of Reference Electrodes"; 2013. doi:10.1007/978-3-642-36188-3
12. Bier A. "Electrochemistry - Theory and Practice". *DOC182.53.90629*. <https://www.hach.com/asset-get.download.jsa?code=75607>. Published December 2018.
13. Christian G.D.; Dasgupta P.K.; Schug K.A.; "Analytical Chemistry"; 7th ed. John Wiley & Sons, Inc.; 2013.
14. Day R.A., Underwood A.L.; "Química Analítica Cuantitativa" 5th Ed. (Bautista OA, ed.). Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A.; 1989.
15. Harris D.C.; "Quantitative Chemical Analysis". 8th ed. (Freeman WH, ed.). California; 2010.
16. Ellwood M.J., Hunter K.A., Cunninghame R.G.; "Elimination of equivalence point errors in the potentiometric titration of chloride, bromide and iodide mixtures with silver nitrate". *Microchem J.* 2003;74(2):187-192. doi:10.1016/S0026-265X(03)00023-7
17. Metrohm. "Application bulletin: Potentiometric titration of chloride and bromide in the presence of each other". (No.27/2):5.
18. Great Britain. Standing Committee of Analysts. "Chloride in Waters, Sewage and

- Effluents". In: Majesty's Stationery Office H; edition: *Methods for the Examination of Waters and Associated Materials (Blue Book)*. London; 1982:46.
19. Michalski R, "Ion chromatography as a reference method for determination of inorganic ions in water and wastewater", *Crit Rev Anal Chem*, 2006, 36(2):107-127, doi:10.1080/10408340600713678
 20. Schnepf A., Kolb M., Seubert A., Läubli M., "Monograph in Practical Ion Chromatography- An Introduction", 2007.
 21. Zhong C., Yida D., Hu W., Qiao J., Zhang L., Zhang J., "A review of electrolyte materials and compositions for electrochemical supercapacitors", *Chem Soc Rev*. 2015, 44:7431-7920, doi:10.1039/c5cs00303b
 22. Dionex Corporation, " Conductivity Detector Operator's Manual", 1996;(034854). <https://conquerscientific.com/wp-content/product-images/2011/08/cd20-manual-s.pdf>. Data de acesso: 13 de Outubro de 2021
 23. SeQuant. "A Practical Guide to Ion Chromatography - An Introduction and Troubleshooting Manual". 2nd ed. Sweden; 2007.
 24. Instituto Português De Acreditação. "Guia Para a Aplicação da Np En Iso / Iec 17025: 2018". 2018:1-28. http://www.ipac.pt/docs/publicdocs/requisitos/OGC001_GuiaAplicacao17025_v20181231.pdf. Data de acesso: 11 de Junho de 2021
 25. Thompson M., Ellison S.L.R., Wood R., "Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report)", 2002, 74(5):835-855.
 26. Mishalanie E.A., Lesnik B., Araki R., Segall R., "Validation and Peer Review of U.S. Environmental Protection Agency Chemical Methods of Analysis", *EPA Forum Environ Meas (FEM) USA*, 2016.
 27. Magnusson B., Ornemark U., "Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods- A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics", 2th ed.; 2014, ISBN 978-91-87461-59-0, <http://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/valid.pdf>. Data de acesso: 3 de Julho de 2021
 28. AOAC International. "AOAC Peer-Verified Methods Program: Manual on Policies and Procedures ". *Association of Official Analytical Chemists*; 1993.
 29. Vessman J., Stefan R.I., Staden J.F.V., Danzer K., Lindner W., Burns D.T., Fajgelj A., Muller H., " Selectivity in analytical chemistry (IUPAC Recommendations 2001)", *Pure Appl Chem*. 2001;73(8):1381-1386, <http://iupac.org/publications/pac/73/8/1381/>. Data de acesso: 24 de Setembro de 2021
 30. Chandran S., Singh R.S.P., " Comparison of various international guidelines for analytical method validation", *Pharmazie*. 2007;62(1):4-14. doi:10.1691/ph.2007.1.5064
 31. Castro A.F.R., Cabrita L.J., "Validação de Métodos Internos de Ensaio Em Análise Química" *Instituto Português Da Qualidade*. RELACRE.; 2000.
 32. Ansari R., Emsakpour F., Arvand M., Mohammad-Khah A. "Application of polypyrrole for potentiometric titration of halides", *Current Topics in Electrochem*. 2011;Vol. 16.
 33. Reutemann G., Huber H., "Validation of titration methods", *Switz Mettler-Toledo*. 2003:1-28.
 34. Al-Kamarany M.A., Alwosaby A.S., Karbane M.E., Karouchi K., "SFSTP guideline 1992 - Based validation of direct potentiometric method for quantification of sodium bicarbonate in baby's bliss gripe water available in Yemen", *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences*, 2013, 5(4):411-413, ISSN 0975-1491

35. Egurrola G.E., Mazabel A.P., García J., "Development and Validation of a Complexometric and Potentiometric Titration Method for the Quantitative Determination of Zinc Pyrithione in Shampoo", *Journal Analytical Methods in Chemistry*, 2021, Vol 2021:0-4. doi:10.1155/2021/6661744
36. Luiz G., Cardoso B.X., Rodrigues P., "Validação da metodologia analítica para hidróxido de alumínio em suspensão oral", *Infarma*. 2007;19(3/4):27-32.
37. Liang J., Zhu J., Gong L., Liu X., Wang B., "Potentiometric titration for the high precision determination of active components in six types of chemical disinfectants", *PLoS One*. 2018, Vol 13(9):1-13, doi:10.1371/journal.pone.0203558
38. Tanase I.G., Popa D.-E., Buleandra M., "Validation of an Analytical Quantitative Determination Method of Chloride Anion From Drinking and Surface Water, Using Direct Potentiometry With Chloride-Selective Electrode(I)", *Analele Universitatii Bucuresti – Chem*. 2007;II(XVI):51-57.
39. ISO 8466-1, "Water quality-Calibration an evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics-Part1: Statistical evaluation of the linear calibration function". Vol 1990, Geneve: *International Organization for Standardization*; 1990:8.
40. United States Environmental Protection Agency SO. Office of Water, "Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit, Revision 2", 2016;(December). Disponivel em: www.epa.gov.
41. Long G.L., Winefordner J.D., "Limit of Detection- A Closer Look at the IUPAC Definition", Vol 55; 1983.
42. Mamat M., Abdullah S., Shahrudin S., Haida Sebran N. "Development and Validation of Method for Determination of Chloride in Surfactant Sample Using Auto-Titrator", *Science Journal of Analytical Chemistry*, 2020;8(2):78. doi:10.11648/j.sjac.20200802.17
43. Huber L., "Validation and Qualification in Analytical Laboratories", 2nd ed. (Informa Healthcare, ed.), 2007.
44. Hillerich J., Peters J., "Titration Handbook". Germany; 2018. Disponivel em: https://www.xylemanalytics.com/FileLibrary/Downloads/SIA_Titration-handbook_English.pdf.
45. Rebane R., "LC-MS Method Validation. Repeatability, intermediate precision and reproducibility", 2015, Disponivel em: https://sisu.ut.ee/lcms_method_validation/validation-general. Data de acesso: 15 de Outubro de 2021.
46. U.S. Pharmacopeial Convention, "Validation of Compendial Procedures" *Rockville, MD: USP.* ; 2016:1-5.
47. Preen M.A., Woodward J.D., "Potentiometric Titration of chloride in beer and wort using an ion-selective electrode", *J. Inst. Brew.*, 1975;81(4):307-308, 1975.
48. Burgess C., "Valid Analytical Methods and Procedures", 1st ed. Royal Society of Chemistry; 2001.
49. Heyden Y.V., Nijhuis A., Smeyers-Verbeke J., Vandeginste B.G.M., Massart D.L., "Guidance for robustness/ruggedness tests in method validation" *Journal of Pharm. Biomed. Anal*, 2001, 24(5-6):723-753, doi:10.1016/S0731-7085(00)00529-X
50. JCGM members, "The international vocabulary of metrology—basic and general concepts and associated terms (VIM)", 3rd ed. ; 2012. Disponivel em: <https://www.bipm.org/en/publications/guides>.
51. Kirkup L., Frenkel R.B., "An Introduction to Uncertainty in Measurement Using the GUM", *Cambridge University Press*, 2006. doi:10.1017/CBO9780511755538
52. EURACHEM, CITAC, Eurolab, "Quantifying Uncertainty in Analytical

- Measurement", *Ellison SLR, Williams A*, 2nd ed, *Guide CG 4.* ; 2012:141.
53. Working Group 1 of the Joint Committee for Guides in Metrology, "Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement". *International Organization for Standardization Geneva, ISBN.* ; 2008:134, Disponible em: <http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>.
 54. Araujo P., "Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation", *Journal of Chromatography B*, 2009; Vol 877(23):2224-2234. ISSN 1570-0232. Disponible em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023208007265>
 55. Wieser M.E., Coplen T.B., "Atomic weights of the elements 2009 (IUPAC technical report)", *Pure Appl. Chem.*, 2011;Vol 83(2):359-396. doi:10.1351/PAC-REP-10-09-14
 56. Yeck R.P., Kissin G.H., "Improvements in the Potentiometric Titration of Chlorides", *Industrial and Engineering Chem. - Anal Ed.* 1945;17(11):692-693. doi:10.1021/i560147a005
 57. ISO-9297. "Qualité de l'eau - Dosage des chlorures - Titration au nitrate d'argent avec du chromate comme indicateur (Méthode de Mohr)", 1st ed, 1989.

Apêndice A- Teste de *Mandel*

Segundo a ISO 8466-1, o teste de *Mandel*, é o eleito para a verificação da linearidade da reta de trabalho.

Este teste, consiste na comparação dos desvios padrões residuais do modelo linear ($S_{y/x}$) com o modelo não linear, (S_{y^2}), função do tipo $y = a \cdot x^2 + b \cdot x - c$. De forma, a verificar a qual função os dados se assemelham melhor, se com uma função linear ou quadrática. Para tal, calculam-se as diferenças das variâncias dos dois modelos, através da equação A-1.

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

Equação A-1

Onde:

N = Número de padrões (neste trabalho são 5);

$S_{y/x}^2$ = Variância da função linear;

$S_{y^2}^2$ = Variância da função não linear, calculada com o quadrado da equação A-2;

$$S_{y^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N [y_i - (a \cdot x_i^2 + b \cdot x_i + c)]^2}{N - 3}}$$

Equação A-2

Posteriormente, procede-se ao cálculo do teste PG através da equação A-3.

$$PG = \frac{DS^2}{S_{y^2}^2}$$

Equação A-3

O resultado obtido no teste PG é comparado com o valor tabelado da distribuição de Fisher, para um nível de significância de 5%, com um 1 grau de liberdade para o numerador e N-3 para o denominador.

Se $PG \leq F_{(0,95; 1; N-3)}$, então a função não linear não conduz a um melhor ajuste, ou seja, considera-se que a função é linear;

Se $PG > F_{(0,95; 1; N-3)}$, a função não é linear, sendo, portanto, necessário reduzir a gama de trabalho ou avaliar os dados usando a função não linear;

Apêndice B- Teste de *Rikilt*

Outra metodologia, utilizada para avaliar a linearidade do método, é o teste de *Rikilt*. Esta consiste, na determinação do fator de resposta, $FR_{(y/x)}$, para cada par ordenado da reta de trabalho, que corresponde ao quociente entre o valor da ordenada y_i , com a sua concentração correspondente, x_i , (equação B-1).

$$FR_{(y/x)} = \frac{y_i}{x_i}$$

Equação B-1

Em que i , representa cada ponto da curva de trabalho. De seguida, é determinado o fator de resposta médio, com a equação B-2.

$$\overline{FR_{(y/x)}} = \frac{\sum_{i=1}^N \frac{y_i}{x_i}}{n}$$

Equação B-2

Onde, n representa o número de padrões da curva de trabalho.

Considera-se uma linearidade perfeita, se os fatores de resposta individuais forem iguais ao fator médio de resposta, ou seja, uma razão percentual de 100%.

Admite-se um critério de $\pm 10\%$ de desvio para cada valor.

Apêndice C- Teste da homogeneidade de variâncias

A gama de trabalho pode ser avaliada através do teste da homogeneidade de variâncias. Este teste, permite através de dez replicados do padrão de menor (x_1) e maior (x_5) concentração da gama de trabalho, avaliar se existem diferenças significativas e se a gama de trabalho está bem ajustada.

Com os valores obtidos dos ensaios de x_1 e x_5 , calculam-se as variâncias S_1^2 e S_5^2 , através da equação C-1.

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

Equação C-1

Em que:

i = número do padrão (neste trabalho i vai de 1 a 5);

j = número da repetição efetuada (neste trabalho j vai de 1 a 10);

n =replicados por nível de concentração (10 replicados);

$y_{i,j}$ = número da repetição, j , para uma dada concentração, i ;

\bar{y}_i = média dos valores $y_{i,j}$ dos padrões com uma dada concentração x_i e é dada pela equação C-2;

$$\bar{y}_i = \frac{\sum_{j=1}^{10} Y_{i,j}}{n_i}$$

Equação C-2

Após o cálculo das variâncias nos limites definidos do método, efetua-se o cálculo do valor teste PG, através do caso (i) ou (ii).

i) $PG = \frac{S_5^2}{S_1^2}$, se $S_5^2 > S_1^2$;

ii) $PG = \frac{S_1^2}{S_5^2}$, se $S_1^2 > S_5^2$;

O valor teste PG é comparado com valor tabelado pela distribuição de Fisher, $F_{(\alpha; n_1-1; n_2-1)}$.

Se $PG > F$, então confirma-se que existem diferenças significativas entre S_1^2 e S_5^2 e a gama de trabalho deverá ser reduzida até se verificar o contrário;

Por outro lado, se $PG < F$, então as diferenças entre S_1^2 e S_5^2 , não são significativas e, portanto, a gama de trabalho está bem ajustada.

Apêndice D- Teste t das amostras emparelhadas

Este teste é aplicado para a comparação do método A e B, através da análise de N amostras. Com os resultados obtidos, determinam-se as diferenças (D_i), de cada amostra para cada método e seguidamente a média aritmética destas diferenças (D_m). O t_{exp} é calculado com base na equação D-1.

$$t_{exp} = \frac{D_m}{S_m} \sqrt{N}$$

Equação D-1

Onde:

N= número de amostras analisadas;

D_m =média aritmética das diferenças (D_i);

S_m =desvio padrão associado a (D_i);

O t_{exp} é comparado com o valor t tabelado para um determinado grau de confiança e N-1 graus de liberdade.

O critério de aceitação, para este teste tal como o anterior é $|t_{exp}| \leq t_{tab}$. Se tal for verificado, então não existem desvios significativos entre os resultados de cada método.

Apêndice E- Teste de Grubbs

O teste de Grubbs, avalia a presença de um único valor discrepante nos resultados dos ensaios.

Este teste define-se pelas seguintes hipóteses:

H_0 = Não há valores discrepantes nos resultados;

H_1 = Há exatamente um valor discrepante nos resultados;

A estatística teste é dada pela equação E-1.

$$G = \frac{\max|Y_i - \bar{Y}|}{s}$$

Equação E-1

Em que:

Y_i =Resultado independente do conjunto de ensaios na mesma amostra;

\bar{Y} =Média aritmética dos resultados independentes;

s = Desvio padrão

A hipótese nula é rejeitada se:

$$G > \frac{(N - 1)}{\sqrt{N}} \sqrt{\frac{(t_{(\alpha/2N; N-2)})^2}{N - 2 + (t_{(\alpha/2N; N-2)})^2}}$$

Com $t_{(\alpha/2N; N-2)}$, representando o valor crítico da distribuição *t-student*, com $(N - 2)$ graus de liberdade e um nível de significância de $\alpha/2N$.

Apêndice F- Análise aos resíduos

Com a aplicação do método dos mínimos quadrados para o ajuste dos dados das curvas, alguns pressupostos têm de ser validados, nomeadamente: (i) a linearidade, que pode ser avaliada através da representação da concentração de cloretos em função do volume de nitrato de prata gasto; (ii) a normalidade dos resíduos, que pode ser avaliada através de um gráfico de probabilidades normal; (iii) a independência e igual variância dos resíduos, que pode ser avaliada no mesmo gráfico, com a representação dos valores de concentração de cloretos em função dos resíduos.

Sendo que os resíduos, são obtidos através da diferença entre o volume de titulante gasto experimentalmente e o volume gasto de titulante previsto pela equação da reta.

Para as 10 curvas foram realizados os gráficos referidos anteriormente, com recurso à ferramenta de análise de dados do *software excel*. Os resultados encontram-se nos gráficos abaixo.

▪ Curva 1

Na tabela F.1 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 1, os seus respetivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.1 Resultados dos ensaios para a curva 1, valores de Y previsto e resíduos

[Cl ⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
71,69	9,93	10,27	-0,34
140,77	19,80	19,74	0,06
211,90	30,02	29,49	0,53
283,67	39,44	39,34	0,10
355,39	48,82	49,17	-0,35

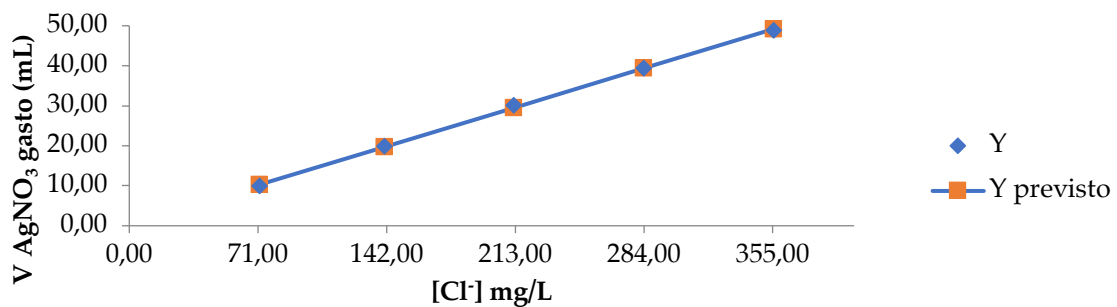


Figura F.1- Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 1

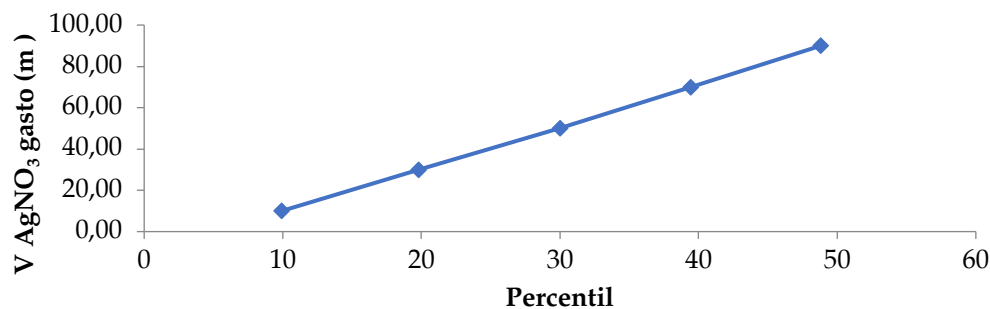


Figura F.2- Gráfico da probabilidade normal da curva 1

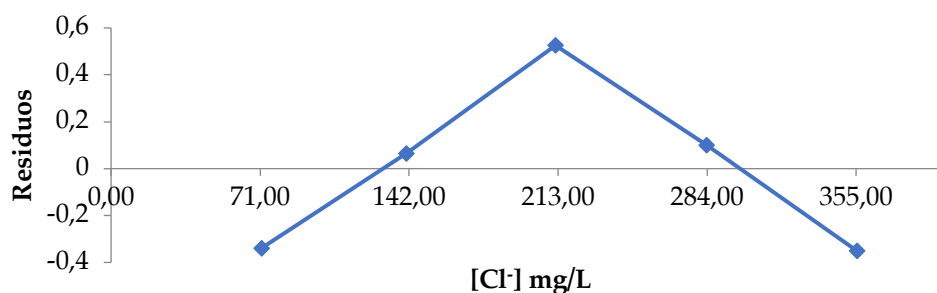


Figura F.3. Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 1

Conclui-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.1, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.2, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.3, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal.

▪ Curva 2

Na tabela F.2 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 2, os seus respectivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.2-Resultados dos ensaios para a curva 2, valores de Y previsto e resíduos

[Cl ⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
70,70	10,10	10,22	-0,13
142,59	19,82	20,04	-0,22
210,64	29,84	29,34	0,50
284,45	39,55	39,42	0,13
355,21	48,80	49,08	-0,29

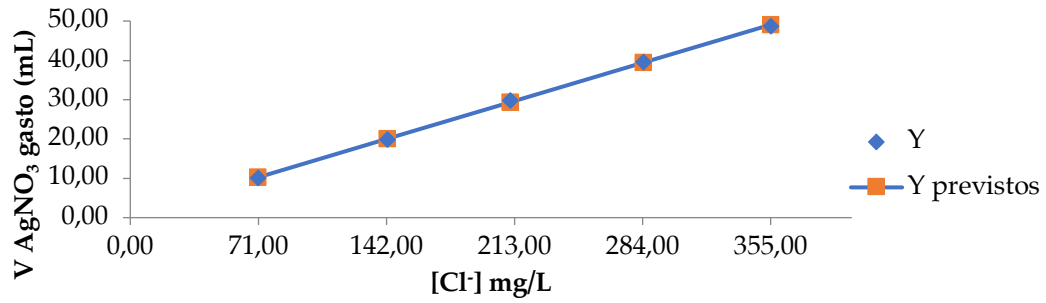


Figura F.4-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 2

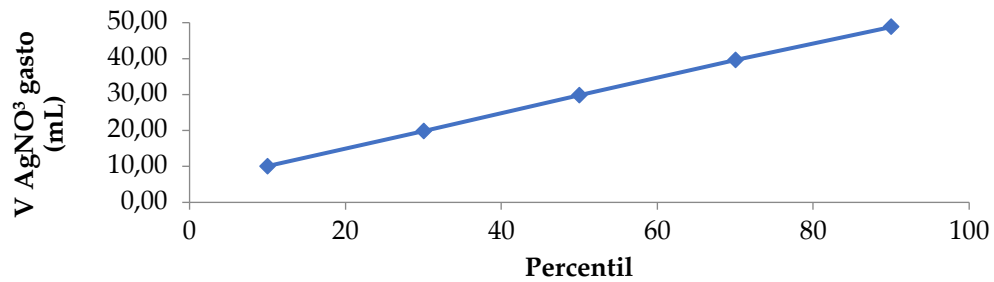


Figura F.5-Gráfico da probabilidade normal da curva 2

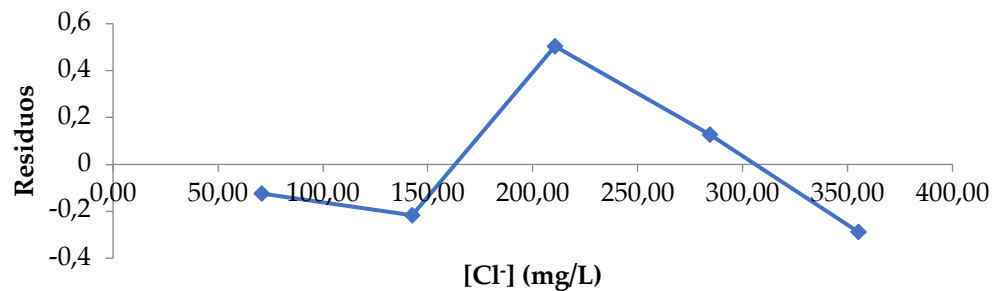


Figura F.6-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 2

Constata-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.4, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.5, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.6, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal. Adicionalmente, os resíduos estão representados de uma forma aleatória.

▪ **Curva 3**

Na tabela F.3 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 3, os seus respectivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.3-Resultados dos ensaios para a curva 3, valores de Y previsto e resíduos

[Cl ⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
70,59	10,05	10,11	-0,06
142,38	19,79	20,00	-0,21
213,46	30,24	29,80	0,44
284,72	39,58	39,61	-0,03
356,24	49,32	49,47	-0,15

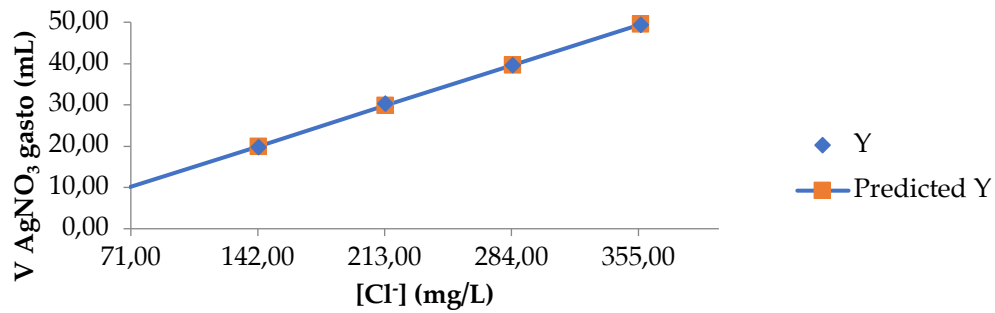


Figura F.7-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 3

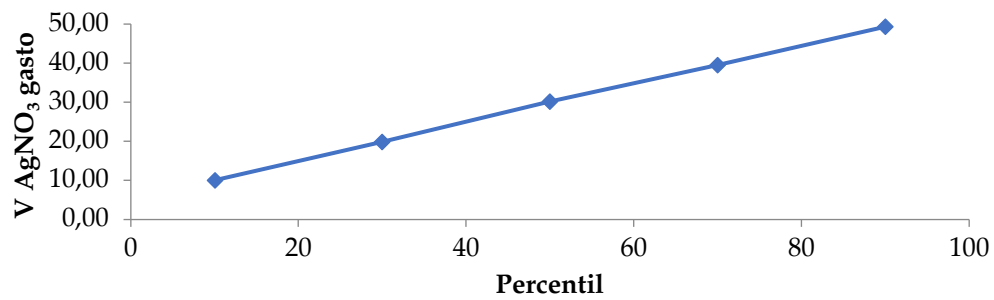


Figura F.8-Gráfico da probabilidade normal da curva 3

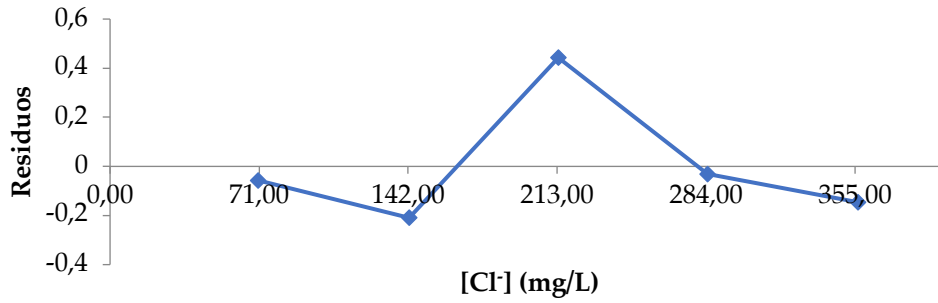


Figura F.9-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 3

Conclui-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.7, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.8, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.9, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal. Adicionalmente, os resíduos estão representados de uma forma aleatória.

▪ Curva 4

Na tabela F.4 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 4, os seus respetivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.4-Resultados dos ensaios para a curva 4, valores de Y previsto e resíduos

[Cl ⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
70,55	10,05	10,04	0,01
142,70	19,84	20,05	-0,21
210,20	29,78	29,41	0,37
284,16	39,50	39,66	-0,16
357,08	49,76	49,77	-0,01

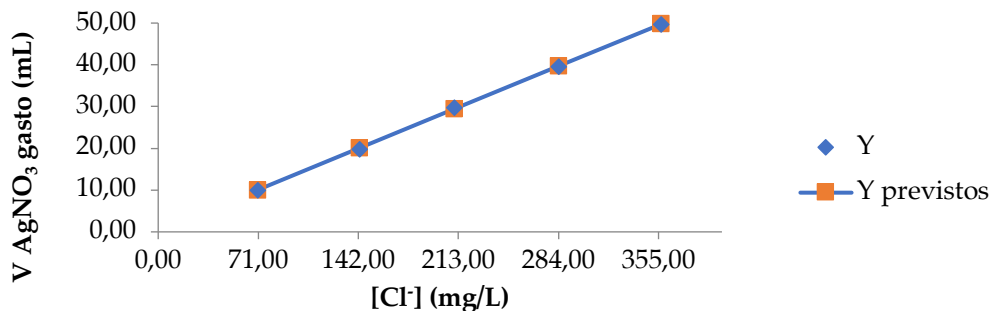


Figura F.10-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 4

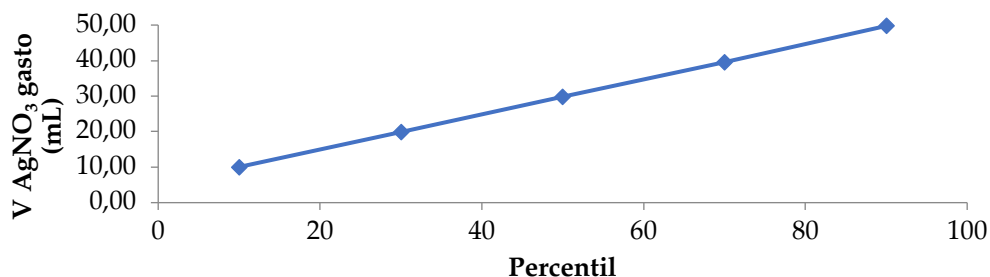


Figura F.11-Gráfico da probabilidade normal da curva 4

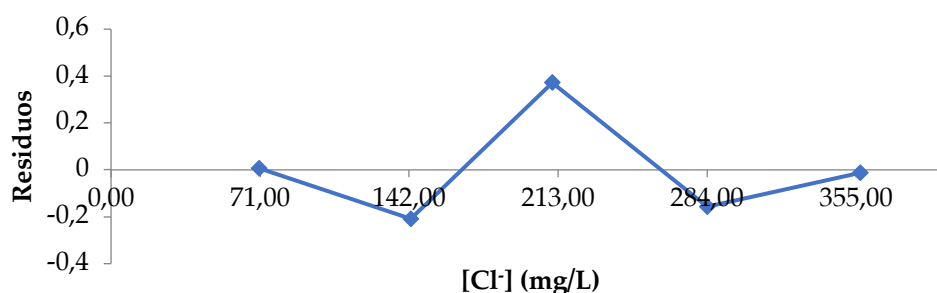


Figura F.12-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 4

Conclui-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.10, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.11, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.12, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal. Adicionalmente, os resíduos estão representados de uma forma aleatória.

▪ Curva 5

Na tabela F.5 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 5, os seus respectivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.5-Resultados dos ensaios para a curva 5, valores de Y previsto e resíduos

[Cl ⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
70,64	10,06	9,96	0,11
142,36	19,79	19,85	-0,06
213,31	29,72	29,65	0,08
282,73	38,84	39,23	-0,39
356,26	49,64	49,38	0,27

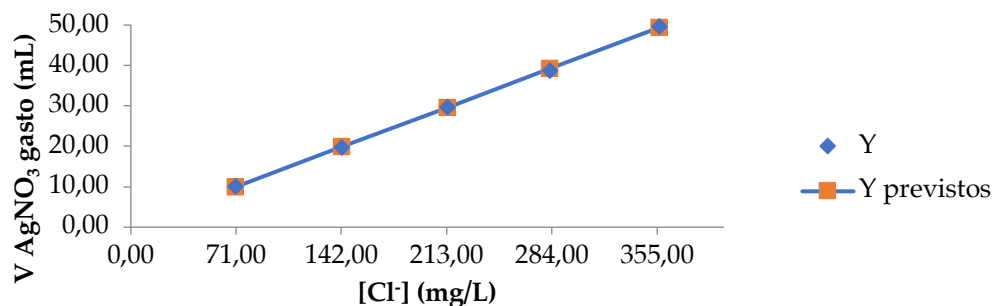


Figura F.13-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 5

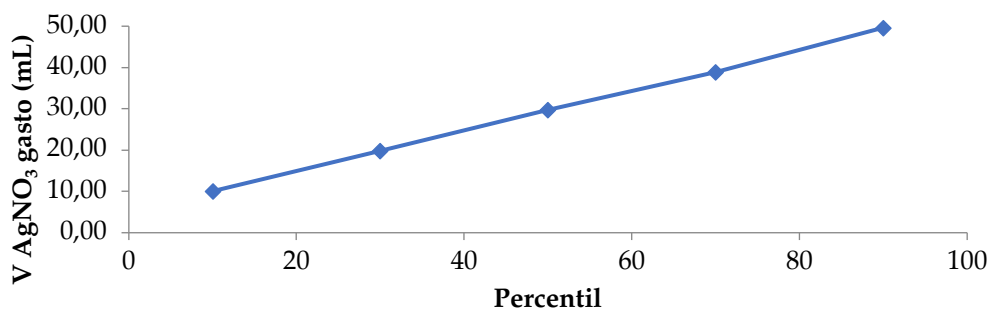


Figura F.14-Gráfico da probabilidade normal da curva 5

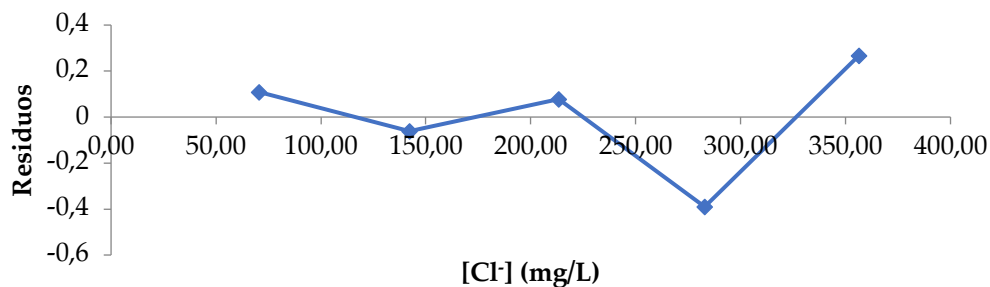


Figura F.15-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 5

Constata-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.13, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.14, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.15, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal. Adicionalmente, os resíduos estão representados de uma forma aleatória.

▪ **Curva 6**

Na tabela F.6 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 6, os seus respectivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.6-Resultados dos ensaios para a curva 6, valores de Y previsto e resíduos

[Cl ⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
70,95	10,13	10,15	-0,02
142,25	19,78	19,91	-0,13
212,57	29,62	29,52	0,10
285,31	39,76	39,47	0,29
354,02	48,63	48,87	-0,24

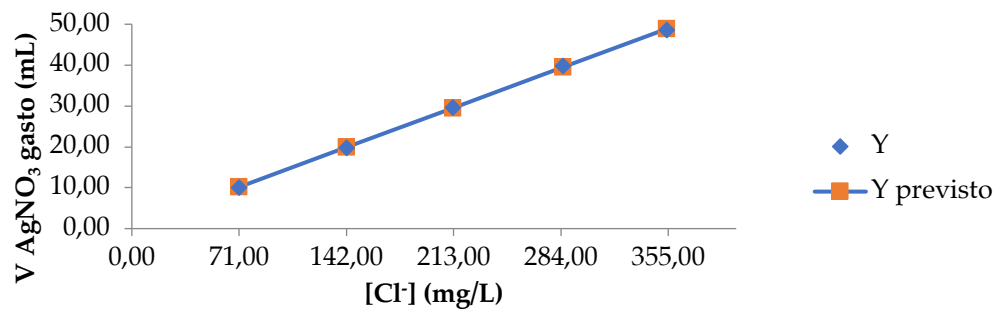


Figura F.16-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 6

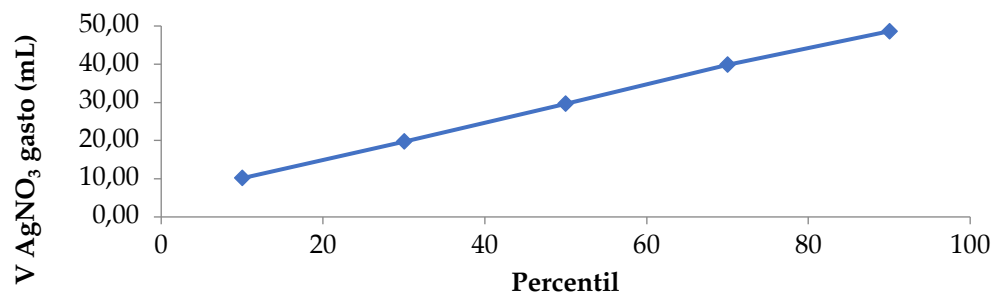


Figura F.17-Gráfico da probabilidade normal da curva 6

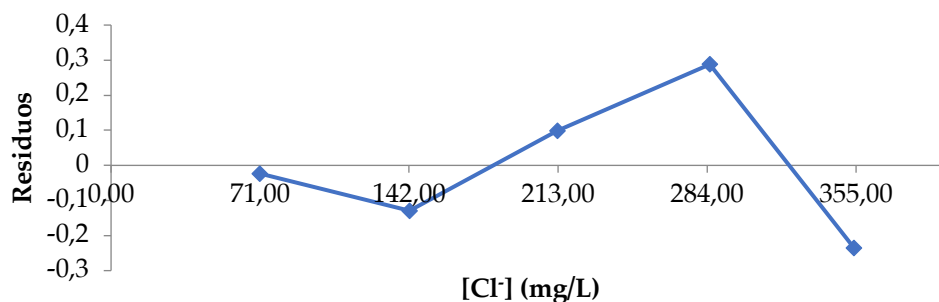


Figura F.18-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 6

Conclui-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.16, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.17, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.18, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal. Adicionalmente, os resíduos estão representados de uma forma aleatória.

▪ **Curva 7**

Na tabela F.7 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 7, os seus respectivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.7-Resultados dos ensaios para a curva 7, valores de Y previsto e resíduos

[Cl ⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
71,49	10,21	10,33	-0,12
142,55	19,82	20,05	-0,23
211,90	30,02	29,53	0,49
284,80	39,69	39,50	0,19
355,39	48,82	49,15	-0,33

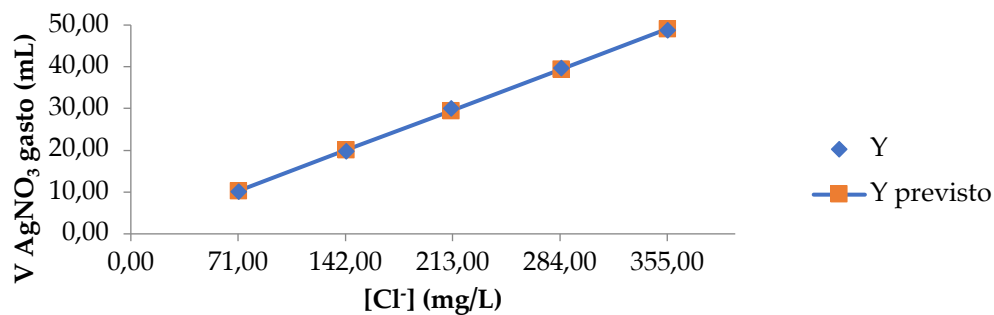


Figura F.19-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 7

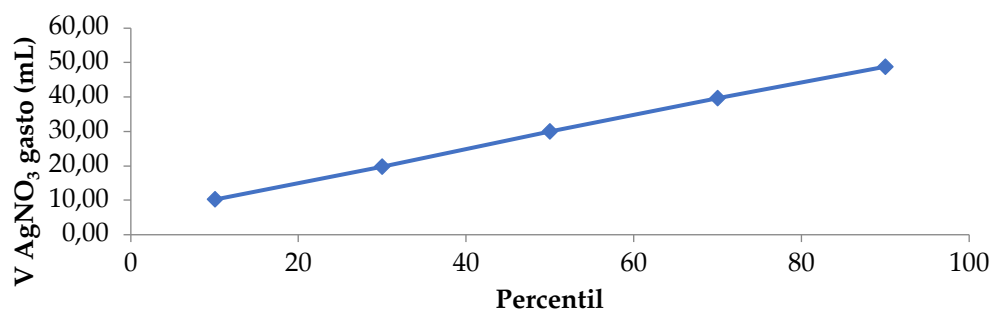


Figura F.20-Gráfico da probabilidade normal da curva 7

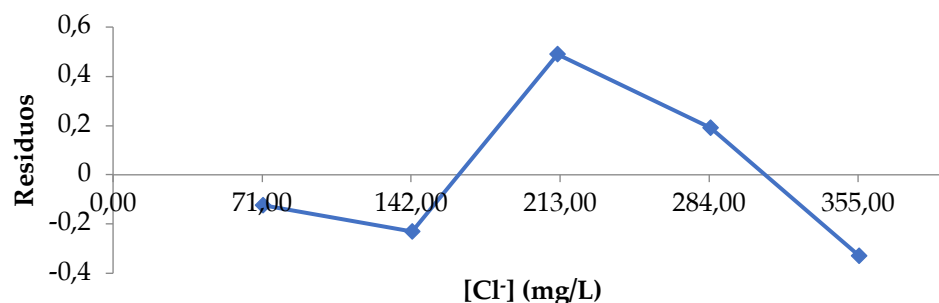


Figura F.21-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 7

Conclui-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.19, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.20, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.21, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal. Adicionalmente, os resíduos estão representados de uma forma aleatória.

▪ **Curva 8**

Na tabela F.8 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 8, os seus respectivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.8-Resultados dos ensaios para a curva 8, valores de Y previsto e resíduos

[Cl ⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
71,02	10,14	10,27	-0,13
142,77	19,85	20,04	-0,19
210,64	29,84	29,29	0,55
287,85	39,75	39,80	-0,05
355,21	48,80	48,98	-0,18

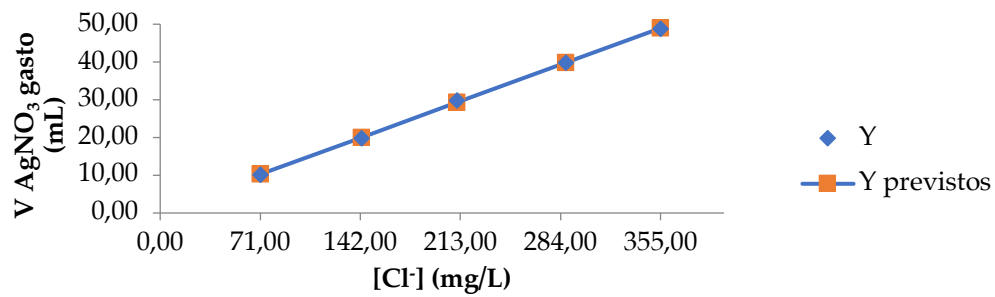


Figura F.22-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 8

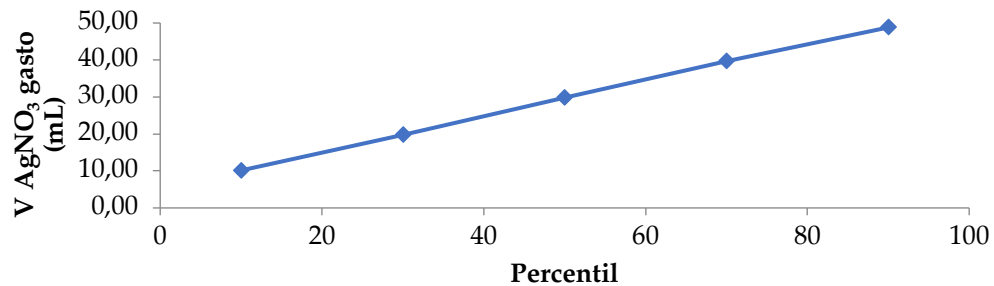


Figura F.23-Gráfico da probabilidade normal da curva 8

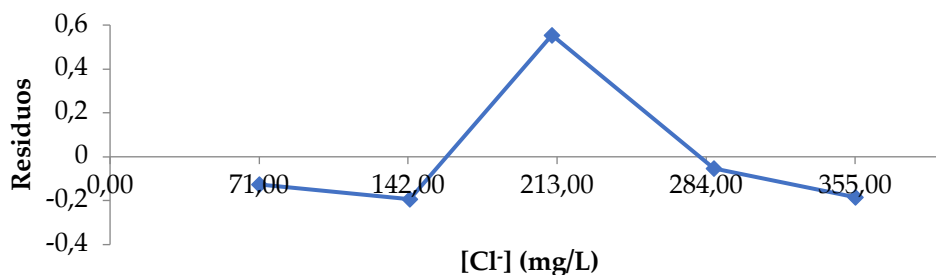


Figura F.24-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 8

Conclui-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.22, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.23, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.24, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal. Adicionalmente, os resíduos estão representados de uma forma aleatória.

▪ Curva 9

Na tabela F.9 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 9, os seus respectivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.9-Resultados dos ensaios para a curva 9, valores de Y previsto e resíduos

[Cl⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
71,30	9,94	10,06	-0,12
142,64	19,83	19,85	-0,02
213,31	29,72	29,56	0,17
285,87	39,74	39,52	0,22
357,52	49,11	49,36	-0,24

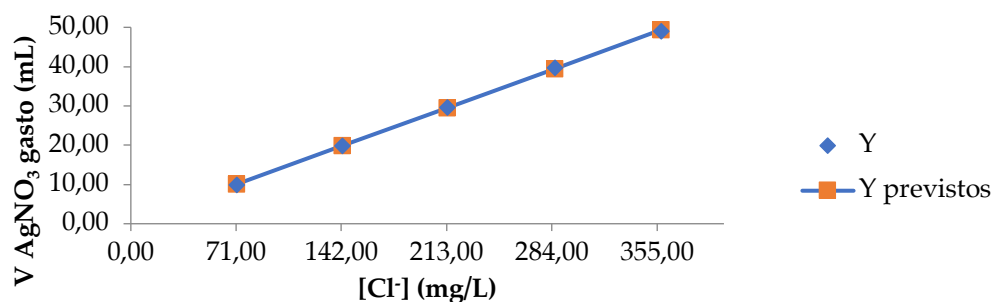


Figura F.25-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 9

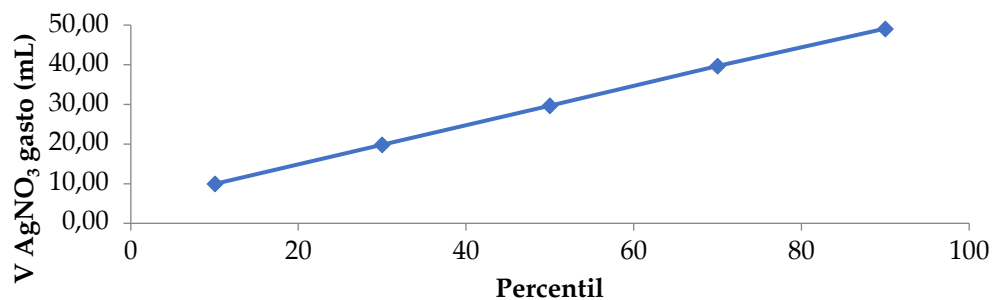


Figura F.26-Gráfico da probabilidade normal da curva 9

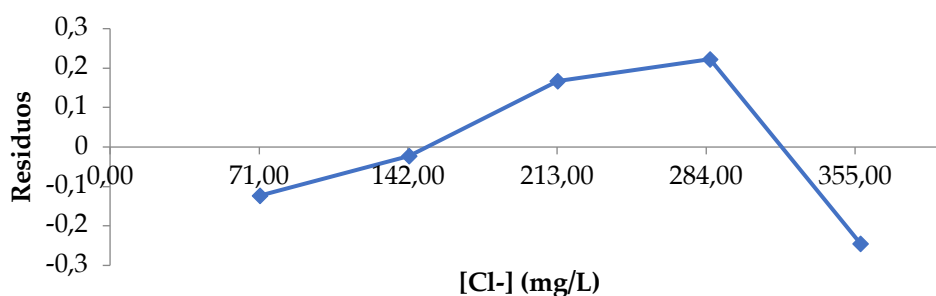


Figura F.27-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 9

Conclui-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.25, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.26, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.27, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal.

▪ Curva 10

Na tabela F.10 encontram-se os resultados dos ensaios para a curva 10, os seus respetivos Y previstos e resíduos.

Tabela F.10-Resultados dos ensaios para a curva 10, valores de Y previsto e resíduos

[Cl ⁻] (mg/L)	V AgNO ₃ (mL)	Y Previsto	Resíduos
71,05	9,90	9,89	0,02
142,32	19,79	19,78	0,00
212,57	29,62	29,54	0,08
288,25	39,81	40,05	-0,25
355,45	49,53	49,38	0,15

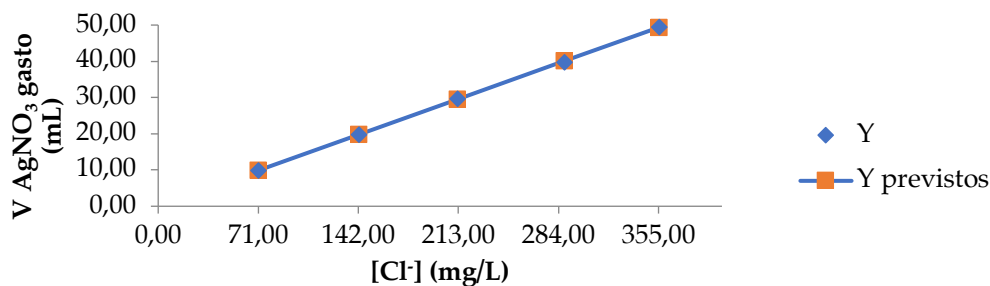


Figura F.28-Ajuste linear entre os valores de Y e Y previsto da curva 10

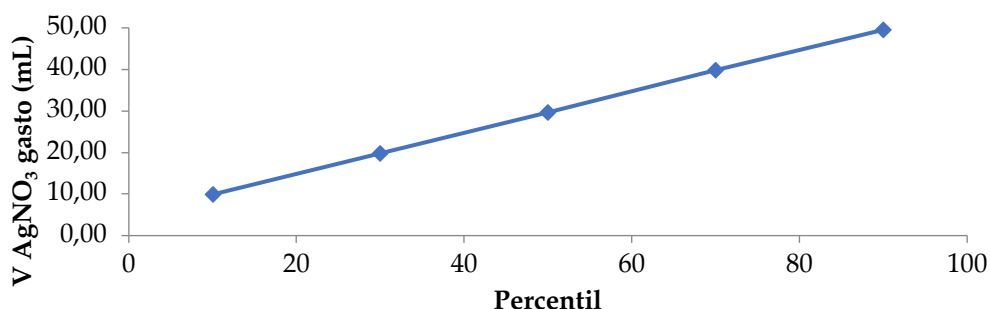


Figura F.29-Gráfico da probabilidade normal da curva 10

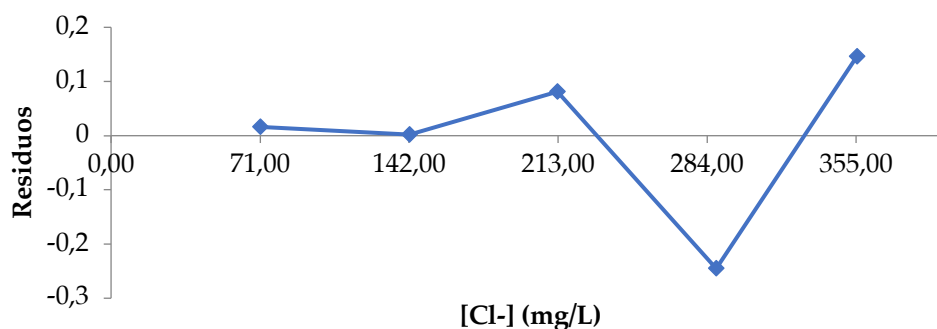


Figura F.30-Representação gráfica da concentração de cloretos em função dos resíduos da curva 10

Conclui-se para esta curva, que os dados são lineares, pois verifica-se uma relação de linearidade com a observação da figura F.28, em que a reta cruza todos os pontos. Verifica-se também a normalidade dos valores, com a figura F.29, pois as observações encontram-se na linha que as atravessa, sem haver pontos discrepantes. E a independência e variância igual dos pontos, com a figura F.30, também se verifica, pois, os valores dos resíduos são muito próximos de zero, sem haver nenhum fora do normal. Adicionalmente, os resíduos estão representados de uma forma aleatória.

Apêndice G- Teste à normalidade dos resultados experimentais de repetibilidade

Os resultados, foram obtidos com recurso à ferramenta XLSTAT *cloud* para o *software excel*. Onde, para cada conjunto de resultados obtidos para cada concentração, foi submetido ao teste de *Shapiro-Wilk*, pois é um teste que se aplica um reduzido número de amostras, de modo a ser verificada a sua normalidade.

Interpretação do teste:

H0: A variável da qual a amostra foi extraída segue uma distribuição normal.

H1: A variável da qual a amostra foi extraída não segue uma distribuição normal.

Como o valor p calculado é maior que o nível de significância $\alpha = 0,05$, não se pode rejeitar a hipótese nula H_0 .

▪ Concentração de 71 mg Cl⁻/L

Tabela G.1- Resultados para a concentração de 71 mg Cl⁻/L obtidos nos ensaios de repetibilidade

Variável	Observações	Mínimo (mg Cl ⁻ /L)	Máximo (mg Cl ⁻ /L)	Média (mg Cl ⁻ /L)	S (mg Cl ⁻ /L)
71 mg Cl ⁻ /L	10	71,85	72,37	72,15	0,16

Tabela G.2- Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 71 mgCl⁻/L

W	0,95
Valor p (<i>Two-tailed</i>)	0,67
alfa	0,05

Conclui-se, pela tabela G.2 que a hipótese nula não é rejeitada, pois o valor p é maior que o nível de significância utilizado no teste ($\alpha=5\%$), então os dados são normais.

▪ Concentração de 142 mg Cl⁻/L

Tabela G.3-Resultados para a concentração de 142 mg Cl⁻/L obtidos nos ensaios de repetibilidade

Variável	Observações	Mínimo (mg Cl ⁻ /L)	Máximo (mg Cl ⁻ /L)	Média (mg Cl ⁻ /L)	S (mg Cl ⁻ /L)
142 mg Cl ⁻ /L	10	142,66	143,91	143,29	0,45

Tabela G.4-Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 142 mgCl⁻/L

W	0,91
Valor p (Two-tailed)	0,30
alfa	0,05

Conclui-se, pela tabela G.4 que a hipótese nula não é rejeitada, pois o valor p é maior que o nível de significância utilizado no teste (alfa=5%), então os dados são normais.

- **Concentração de 213 mg Cl⁻/L**

Tabela G.5-Resultados para a concentração de 213 mg Cl⁻/L obtidos nos ensaios de repetibilidade

Variável	Observações	Mínimo (mg Cl ⁻ /L)	Máximo (mg Cl ⁻ /L)	Média (mg Cl ⁻ /L)	S (mg Cl ⁻ /L)
213 mg Cl ⁻ /L	10	213,52	215,04	214,40	0,53

Tabela G.6-Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 213 mgCl⁻/L

W	0,94
Valor p (Two-tailed)	0,57
alfa	0,05

Conclui-se, pela tabela G.6 que a hipótese nula não é rejeitada, pois o valor p é maior que o nível de significância utilizado no teste (alfa=5%), então os dados são normais.

- **Concentração de 284 mg Cl⁻/L**

Tabela G.7-Resultados para a concentração de 284 mg Cl⁻/L obtidos nos ensaios de repetibilidade

Variável	Observações	Mínimo (mg Cl ⁻ /L)	Máximo (mg Cl ⁻ /L)	Média (mg Cl ⁻ /L)	S (mg Cl ⁻ /L)
284 mg Cl ⁻ /L	10	287,01	289,53	287,88	0,81

Tabela G.8-Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 284 mgCl⁻/L

W	0,88
Valor p (Two-tailed)	0,13
alfa	0,05

Conclui-se, pela tabela G.8 que a hipótese nula não é rejeitada, pois o valor p é maior que o nível de significância utilizado no teste (alfa=5%), então os dados são normais.

- **Concentração de 355 mg Cl⁻/L**

Tabela G.9-Resultados para a concentração de 355 mg Cl⁻/L obtidos nos ensaios de repetibilidade

Variável	Observações	Mínimo (mg Cl ⁻ /L)	Máximo (mg Cl ⁻ /L)	Média (mg Cl ⁻ /L)	S (mg Cl ⁻ /L)
355 mg Cl ⁻ /L	10	358,33	359,48	358,79	0,35


Tabela G.10-Resultados teste Shapiro-Wilk para a concentração de 355 mgCl⁻/L

W	0,95
Valor p (<i>Two-tailed</i>)	0,63
alfa	0,05

Conclui-se, pela tabela G.10 que a hipótese nula não é rejeitada, pois o valor p é maior que o nível de significância utilizado no teste (alfa=5%), então os dados são normais.

Anexo I- Certificado do MRC

Na figura I.1, está representado o certificado do material de referência utilizado.



ENVIRONMENTAL MATRIX REFERENCE MATERIAL
BURTAP-14, lot 0820
Product Information Sheet
A Drinking Water Sample

Updated: 2020-AUG-10

Environment and Climate Change Canada matrix reference materials (RMs) are collected in bulk from various locations across North America. BURTAP-14 was collected from Burlington, Ontario in November 2014. The bulk sample was pre filtered to remove particulates and filtered through a 0.2 µm sterilizing filter to remove bacteria. This bulk Major Ions and Nutrients in water RM is stored in a dark cold room and is unpreserved.


This Reference Material is intended for the verification or development of analytical methods for environmental analysis. It is not intended for use as a calibration standard.

Measurand	Assigned Value in mg/L*	C.I.	N
Alkalinity, Total (as CaCO ₃)	88.3 ±	5.0	84
Boron	0.0240 ±	0.0060	39
Calcium	34.8 ±	2.8	90
Chloride	26.5 ✓ ±	1.5	93
Conductivity (µS/cm, 25°C)	318 ±	12	95
Dissolved Inorganic Carbon (DIC)	20.8 ±	1.9	38
Dissolved Organic Carbon (DOC)	1.59 ±	0.43	83
Fluoride	0.617 ✓ ±	0.056	60
Magnesium	8.75 ✓ ±	0.61	89
Nitrate + Nitrite (as N)	0.384 ±	0.044	115
pH (units, 25°C)	8.07 ±	0.21	95
Potassium	1.63 ✓ ±	0.14	87
Silicates (as SiO ₂)	1.12 ±	0.11	69
Sodium	14.6 ✓ ±	1.2	85
Sulfate (as SO ₄ ²⁻)	27.0 ✓ ±	1.7	91
Total Nitrogen	0.491 ±	0.074	86
Hardness, Total (as CaCO ₃)	122 ±	10	60

*Unless otherwise Indicated

Assigned values are the robust means calculated using Algorithm A (ISO/IEC 13528). Confidence interval (C.I.) represents +/- 2 times the calculated robust standard deviation (R.STD) of all reported laboratory values, calculated by Algorithm A (ISO/IEC 13528).

Page 1 of 2



Environment and
Climate Change Canada

Environnement et
Changement climatique Canada

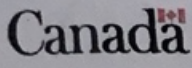


Figura I. 1 Certificado do MRC utilizado