

QUÍMICA ANALÍTICA V

Profa. Denise Lowinsohn

<http://www.ufjf.br/nupis>

denise.lowinsohn@ufjf.edu.br

DIA/MÊS	ASSUNTO
06/08	<i>Não haverá aula</i>
13/08	Introdução ao curso - Estatística aplicada a Química Analítica
20/08	Introdução à espectrometria / Espectrometria do UV-Vis
27/08	Espectrometria do UV-Vis
03/09	Espectrometria de Absorção Atômica
10/09	Espectrometria de Emissão Atômica
17/09	1ª TVC
24/09	Introdução à Química Eletroanalítica / Potenciometria
01/10	Potenciometria
08/10	2ª TVC
15/10	Introdução aos métodos de separação e à cromatografia
22/10	<i>Não haverá aula</i>
29/10	Cromatografia gasosa
05/11	Cromatografia gasosa e introdução à cromatografia líquida
12/11	Cromatografia líquida
19/11	Eletroforese capilar
26/11	3ª TVC

CONTEÚDO

-problemas em Química Analítica

-erros na análise quantitativa

-definições: média, desvio padrão, variância

-precisão e exatidão

-tipos de erros

-comparação de resultados

-métodos de calibração

Problemas em Química Analítica:

Um químico analítico pode se defrontar com dois tipos de problemas:

Qualitativo:

- Esta água destilada contém boro?
- Estes dois solos são do mesmo lugar?

Quantitativo:

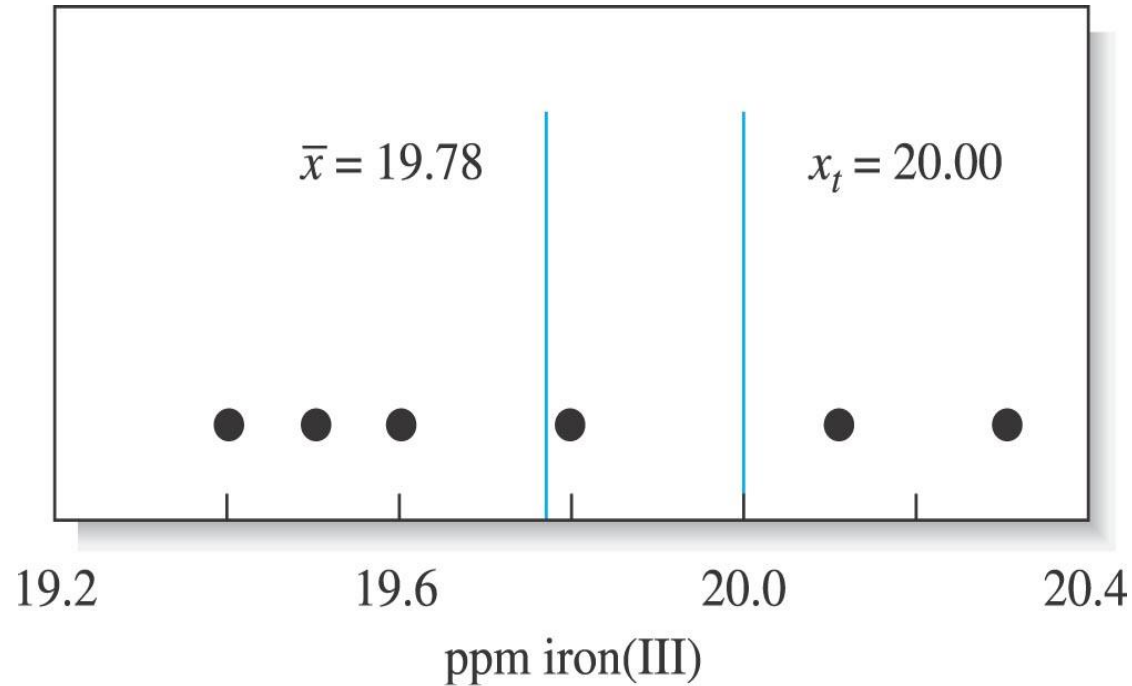
- Quanta albumina existe nesta amostra de soro sanguíneo?
- Quanto chumbo existe na água da torneira?
- Esta amostra de aço contém pequenas quantidades de cromo, tungstênio e manganês, quanto de cada um?

Química Analítica moderna tem um caráter essencialmente quantitativo.

Uma resposta quantitativa, a qualquer das perguntas anteriores é mais indicada que uma qualitativa.

Erros na análise quantitativa:

Um exemplo do efeito dos erros na análise quantitativa pode ser ilustrado pela Figura 1:



© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Figura 1 - Resultados para a determinação de ferro (III)

TODAS AS MEDIDAS SÃO INFLUENCIADAS POR ERROS. ELAS NUNCA SÃO COMPLETAMENTE ELIMINADAS MAS SIM MINIMIZADAS.

A primeira pergunta a ser respondida antes de começar uma análise é “QUAL É O ERRO MÁXIMO QUE EU POSSO TOLERAR NO RESULTADO?”

A resposta para essa pergunta determina o quanto tempo você gastará na análise.

Definições:

MÉDIA:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

x_i = valor individual
 N = número de replicatas

	A	B	C	D
1		Data		
2		19.4		
3		19.5		
4		19.6		
5		19.8		
6		20.1		
7		20.3		
8				
9				
10				
11	Total			
12	N			
13	Mean			
14				
15				

	A	B	C	D
1		Data		
2		19.4		
3		19.5		
4		19.6		
5		19.8		
6		20.1		
7		20.3		
8				
9				
10				
11	Total	118.7		
12	N	6		
13	Mean	19.78333		
14				
15				

PRECISÃO: concordância entre duas ou mais medidas realizadas exatamente do mesmo jeito.

DESVIO PADRÃO:
$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

	A	B	C	D
1		Data		
2		19.4	0.383333	
3		19.5	0.283333	
4		19.6	0.183333	
5		19.8	0.016667	
6		20.1	0.316667	
7		20.3	0.516667	
8				
9				
10				
11	Total	118.7		
12	N	6		
13	Mean	19.78333	19.78333	
14				
15				

©2004 Thomson - Brooks/Cole

	A	B	C	D
1		Data	Deviation	
2		19.4	0.383333	
3		19.5	0.283333	
4		19.6	0.183333	
5		19.8	0.016667	
6		20.1	0.316667	
7		20.3	0.516667	
8				
9				
10				
11	Total	118.7		
12	N	6		
13	Mean	19.78333	0.283333	
14				
15				

©2004 Thomson - Brooks/Cole

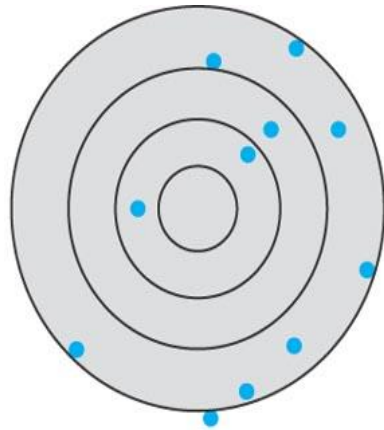
VARIÂNCIA: $s^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}$

DESVIO PADRÃO RELATIVO: $RSD = \left(\frac{s}{x} \right) \times 1000$

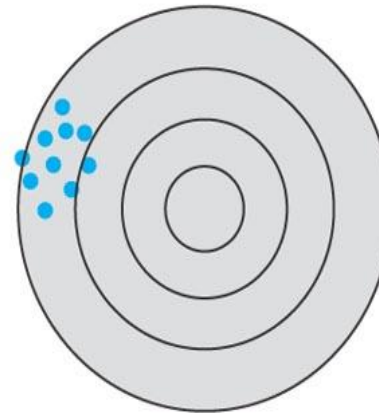
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO: $CV = \left(\frac{s}{x} \right) \times 100\%$

EXATIDÃO: proximidade do resultado do valor verdadeiro

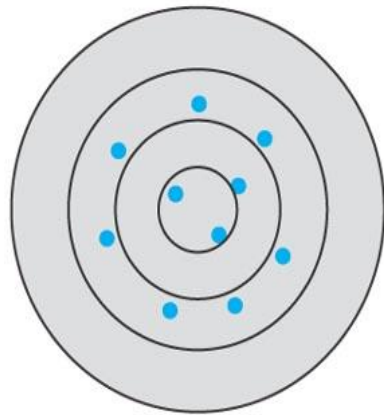
Exatidão e precisão:



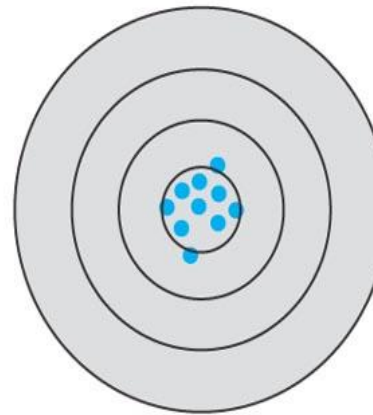
Low accuracy, low precision



Low accuracy, high precision



High accuracy, low precision



High accuracy, high precision

Tipos de erros:

O ato de medir é, em essência, um ato de comparar, e essa comparação envolve erros de diversas origens (dos instrumentos, do operador, do processo de medida etc.).

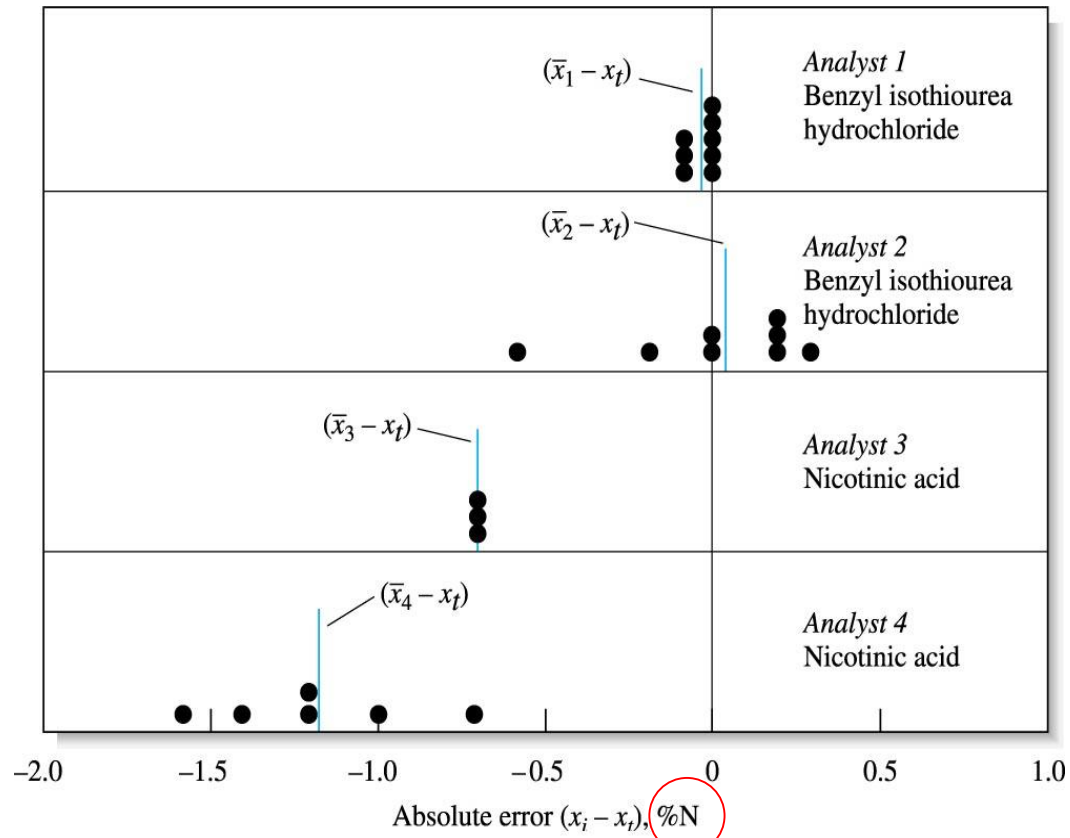
Quando se pretende medir o valor de uma grandeza, pode-se realizar apenas uma ou várias medidas repetidas, dependendo das condições experimentais particulares ou ainda da postura adotada frente ao experimento.

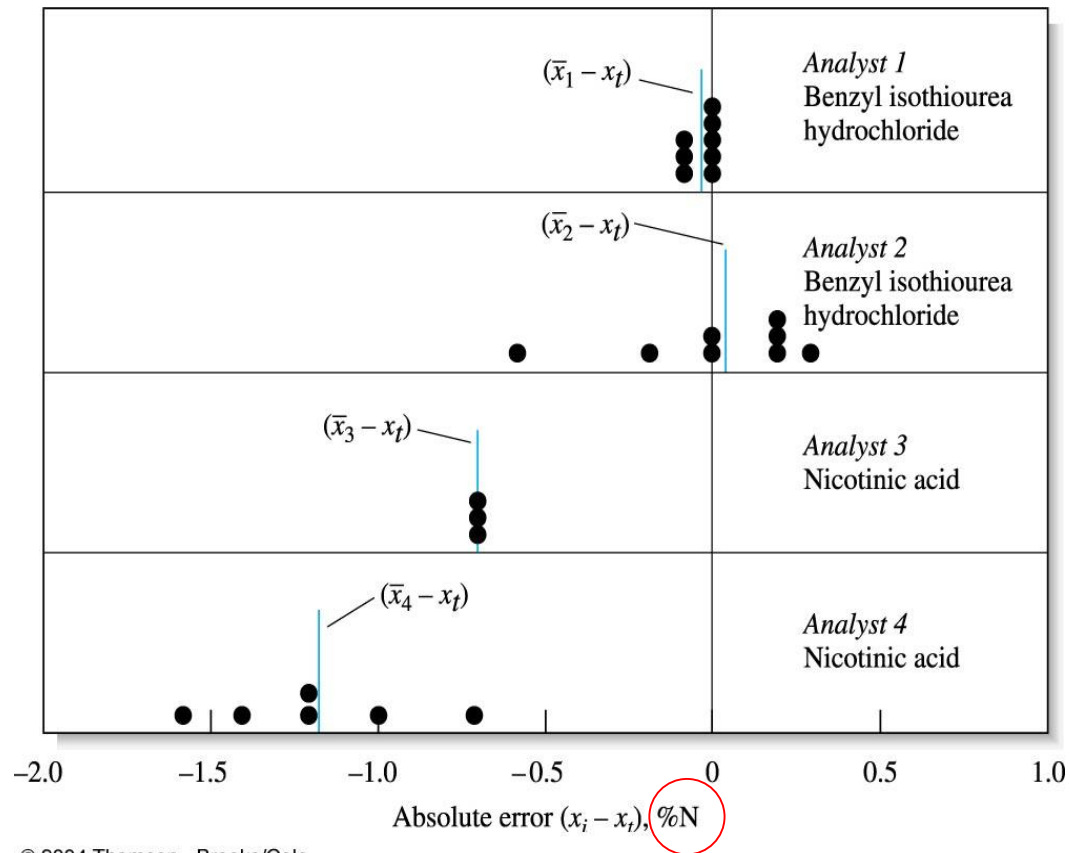
Todos os tipos de erro podem ser expressos como "*erro absoluto*" ou como "*erro relativo*".

Tipos de erros:

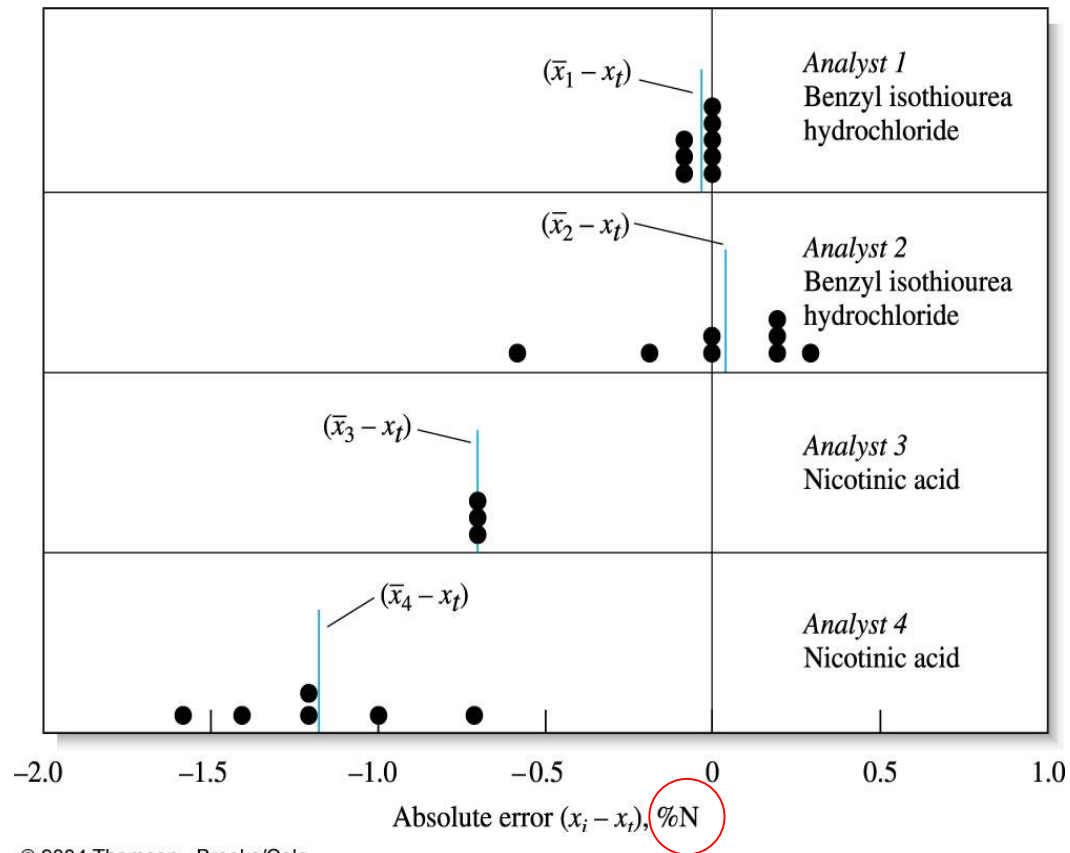
Erro absoluto: $E = x_i - x_{\text{verdadeiro}}$

Erro relativo: $E = \frac{x_i - x_{\text{verdadeiro}}}{x_{\text{verdadeiro}}} \times 100\%$



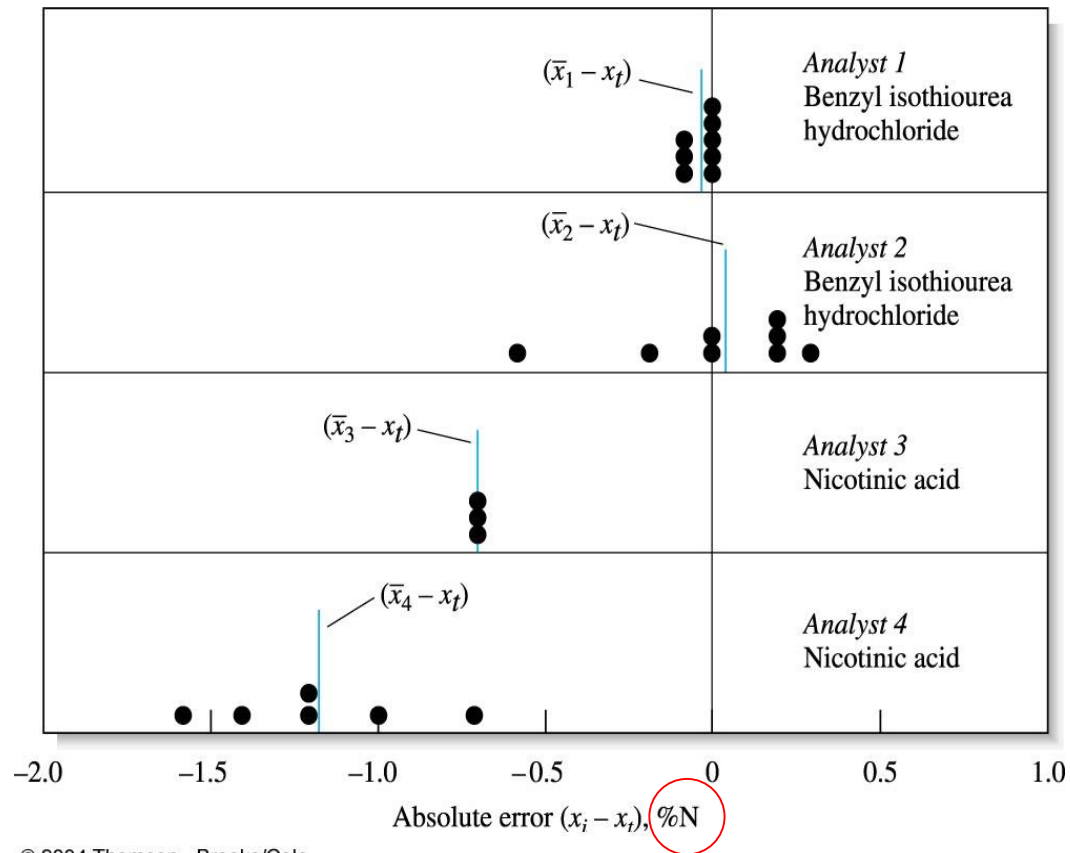


Analista 1: alta precisão e alta exatidão



Analista 1: alta precisão e alta exatidão

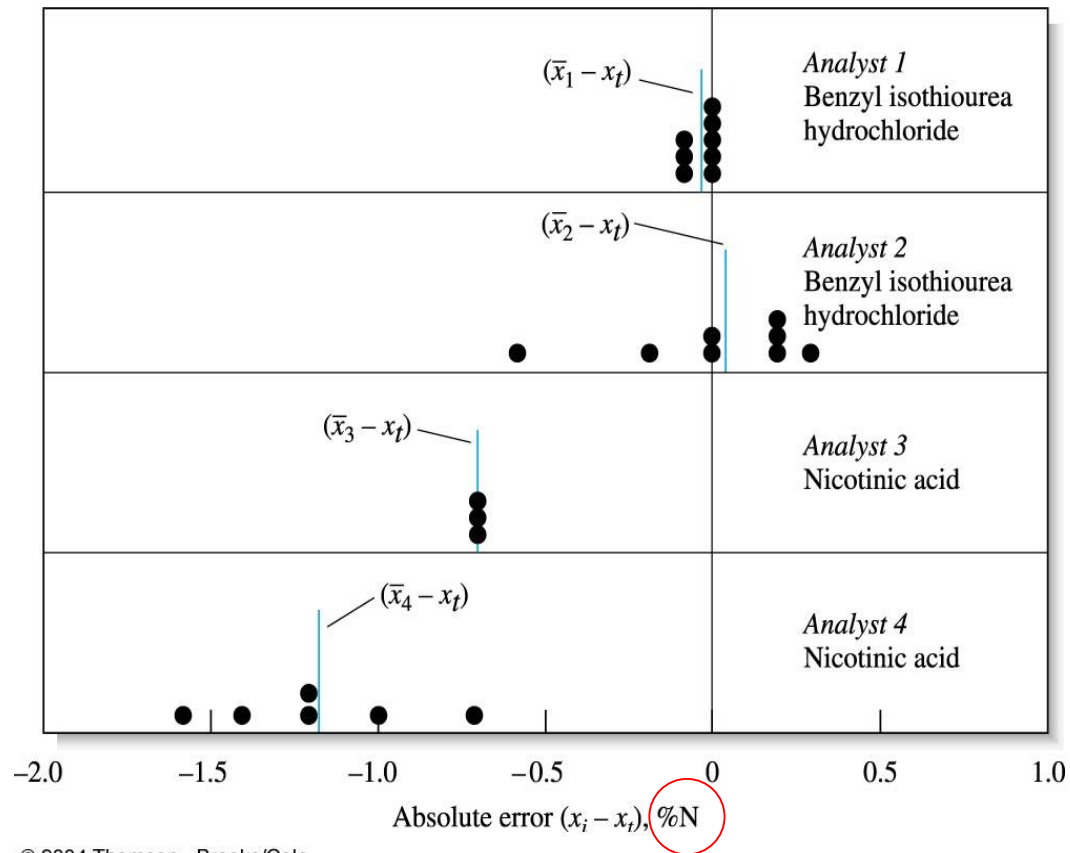
Analista 2: baixa precisão e boa exatidão



Analista 1: alta precisão e alta exatidão

Analista 2: baixa precisão e boa exatidão

Analista 3: excelente precisão e péssima exatidão



Analista 1: alta precisão e alta exatidão

Analista 2: baixa precisão e boa exatidão

Analista 3: excelente precisão e péssima exatidão

Analista 4: baixa precisão e baixa exatidão

ERROS GROSSEIROS: são facilmente reconhecidos. Eles são erros tão sérios que não deixam alternativas a não ser *refazer todo o experimento*.

Exemplos incluem a quebra do equipamento, contaminação de reagentes, erros na adição de alíquotas, etc.

ERROS RANDÔMICOS OU ALEATÓRIOS (indeterminados): estes erros se manifestam na forma de pequenas variações nas medidas de uma amostra, feitas em sucessão pelo mesmo analista, com todas as precauções necessárias e em condições de análise praticamente idênticas. *Não podem ser controlados*.

ERROS SISTEMÁTICOS (determinados) : são erros em que se pode conhecer a sua fonte. São independentes das leis do acaso e produzem-se sempre no mesmo sentido, *podendo ser anulados ou corrigidos*.

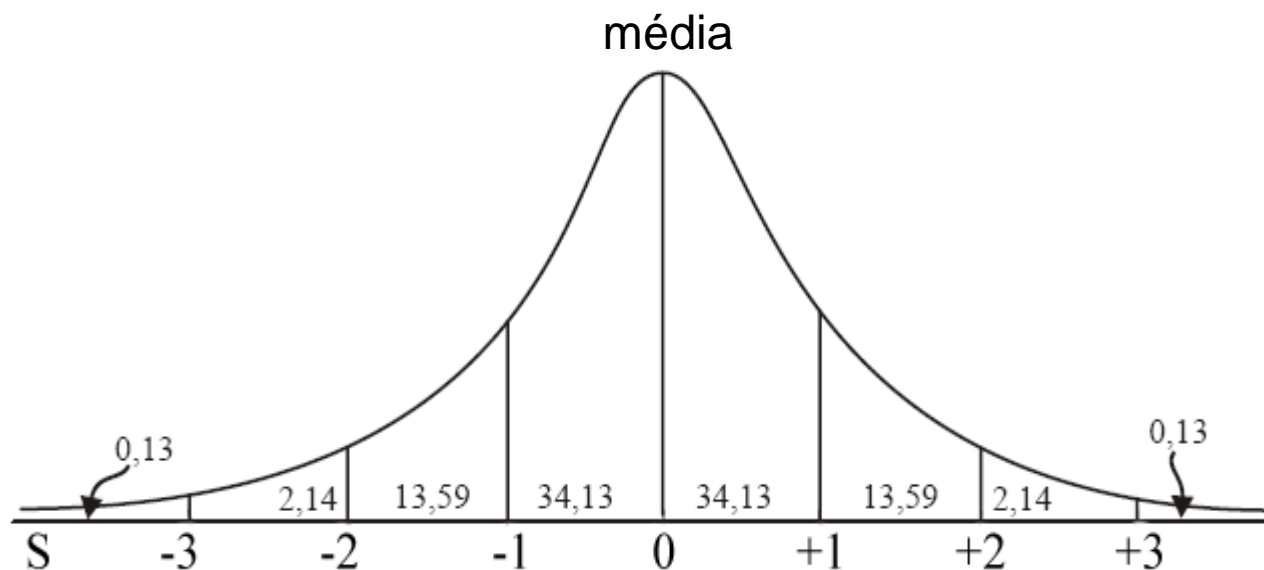
Exemplos incluem balança mal calibrada, deficiência de funcionamento, erros de operação, etc.

Como reduzir os erros sistemáticos?

- *Calibração de instrumentos e sua correção*
- *Determinação do branco de uma amostra*: consiste na execução de uma análise nas mesmas condições experimentais usadas na análise da amostra, porém na ausência do constituinte de interesse.
- *Análise de uma substância padrão nas mesmas condições experimentais usadas na análise da amostra.*
- *Uso de métodos de análise independentes*
- *Determinações paralelas*
- *Adição de padrão*: adiciona-se à amostra uma quantidade conhecida de constituinte a ser determinado.
- *Padrões internos*: adição de uma quantidade fixa de um material de referência a uma série de amostras de concentrações conhecidas da substância a ser determinada.

Distribuição dos erros aleatórios

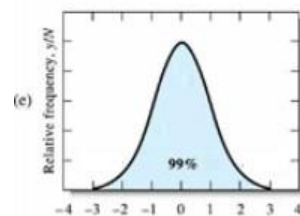
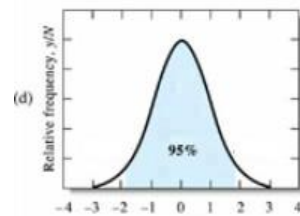
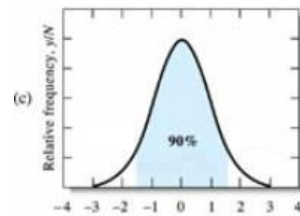
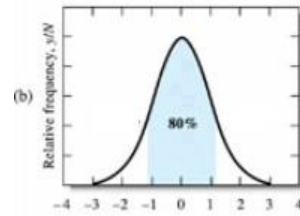
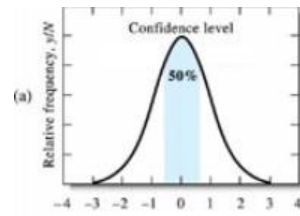
- A dispersão dos resultados de um conjunto de medidas pode ser estimada pelo desvio padrão.
- Quando se faz um número elevado de leituras, pelo menos 50, de uma variável contínua, por exemplo, o ponto final de uma titulação, os resultados se distribuem, em geral de forma aproximadamente *simétrica* em torno da média.



68,26% - um intervalo
95,44% - 2 intervalos
99,72% - 3 intervalos

Distribuição Normal (ou Gaussiana)

Limite de confiança



Confiabilidade dos resultados

Um ponto muito importante é poder rejeitar certos resultados de forma sensata.

Aplicação do teste Q:

$$Q = \frac{|valor\ suspeito - valor\ mais\ próximo|}{maior\ valor - menor\ valor}$$

Exercício

A análise de uma amostra de calcita gerou porcentagens de CaO de 55,95; 56,00; 56,04; 56,08 e 56,23. O último valor parece anômalo; deve ser mantido ou rejeitado em nível de confiança de 95%

Valores Críticos para o Cociente de Rejeição, Q^*			
Número de Observações	$Q_{\text{crít}}$ (Rejeitar se $Q > Q_{\text{crít}}$)		
	90% de Confiança	95% de Confiança	99% de Confiança
3	0,941	0,970	0,994
4	0,765	0,829	0,926
5	0,642	0,710	0,821
6	0,560	0,625	0,740
7	0,507	0,568	0,680
8	0,468	0,526	0,634
9	0,437	0,493	0,598
10	0,412	0,466	0,568

*Reimpresso com permissão de D. B. Rorabacher, *Anal. Chem.*, 1991, v. 63, p. 139. Copyright 1991 American Chemical Society

Exercício

A análise de uma amostra de calcita gerou porcentagens de CaO de 55,95; 56,00; 56,04; 56,08 e 56,23. O último valor parece anômalo; deve ser mantido ou rejeitado em nível de confiança de 95%

Valores Críticos para o Cociente de Rejeição, Q^*			
Número de Observações	$Q_{\text{crít}}$ (Rejeitar se $Q > Q_{\text{crít}}$)		
	90% de Confiança	95% de Confiança	99% de Confiança
3	0,941	0,970	0,994
4	0,765	0,829	0,926
5	0,642	<u>0,710</u>	0,821
6	0,560	0,625	0,740
7	0,507	0,568	0,680
8	0,468	0,526	0,634
9	0,437	0,493	0,598
10	0,412	0,466	0,568

*Reimpresso com permissão de D. B. Rorabacher, *Anal. Chem.*, 1991, v. 63, p. 139. Copyright 1991 American Chemical Society

Intervalo de confiança

Permite estimar a faixa na qual a média verdadeira poderá ser encontrada.

$$\begin{array}{l} \text{Limite de confiança de } \mu \\ \text{para } n \text{ análises repetidas} \end{array} = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

Aplicação tabela distribuição de t:

Valores de t para Vários Níveis de Probabilidade					
Graus de Liberdade	80%	90%	95%	99%	99,9%
1	3,08	6,31	12,7	63,7	637
2	1,89	2,92	4,30	9,92	31,6
3	1,64	2,35	3,18	5,84	12,9
4	1,53	2,13	2,78	4,60	8,61
5	1,48	2,02	2,57	4,03	6,87
6	1,44	1,94	2,45	3,71	5,96
7	1,42	1,90	2,36	3,50	5,41
8	1,40	1,86	2,31	3,36	5,04
9	1,38	1,83	2,26	3,25	4,78
10	1,37	1,81	2,23	3,17	4,59
15	1,34	1,75	2,13	2,95	4,07
20	1,32	1,73	2,09	2,84	3,85
40	1,30	1,68	2,02	2,70	3,55
60	1,30	1,67	2,00	2,62	3,46
∞	1,28	1,64	1,96	2,58	3,29

Exercício

Um químico obteve os seguintes dados para o teor alcoólico de uma amostra de sangue: % de C_2H_5OH : 0,084; 0,089 e 0,079. Calcule o intervalo de confiança a 95%, sabendo que o desvio padrão do método é 0,005%.

Valores de t para Vários Níveis de Probabilidade					
Graus de Liberdade	80%	90%	95%	99%	99,9%
1	3,08	6,31	12,7	63,7	637
2	1,89	2,92	4,30	9,92	31,6
3	1,64	2,35	3,18	5,84	12,9
4	1,53	2,13	2,78	4,60	8,61
5	1,48	2,02	2,57	4,03	6,87
6	1,44	1,94	2,45	3,71	5,96
7	1,42	1,90	2,36	3,50	5,41
8	1,40	1,86	2,31	3,36	5,04
9	1,38	1,83	2,26	3,25	4,78
10	1,37	1,81	2,23	3,17	4,59
15	1,34	1,75	2,13	2,95	4,07
20	1,32	1,73	2,09	2,84	3,85
40	1,30	1,68	2,02	2,70	3,55
60	1,30	1,67	2,00	2,62	3,46
∞	1,28	1,64	1,96	2,58	3,29

Grau de liberdade é, em estatística, o número de determinações independentes (dimensão da amostra) menos o número de parâmetros estatísticos a serem avaliados na população.

Exercício

Um químico obteve os seguintes dados para o teor alcoólico de uma amostra de sangue: % de C_2H_5OH : 0,084; 0,089 e 0,079. Calcule o intervalo de confiança a 95%, sabendo que o desvio padrão do método é 0,005%.

Graus de Liberdade	80%	90%	95%	99%	99,9%
1	3,08	6,31	12,7	63,7	637
2	1,89	2,92	4,30	9,92	31,6
3	1,64	2,35	3,18	5,84	12,9
4	1,53	2,13	2,78	4,60	8,61
5	1,48	2,02	2,57	4,03	6,87
6	1,44	1,94	2,45	3,71	5,96
7	1,42	1,90	2,36	3,50	5,41
8	1,40	1,86	2,31	3,36	5,04
9	1,38	1,83	2,26	3,25	4,78
10	1,37	1,81	2,23	3,17	4,59
15	1,34	1,75	2,13	2,95	4,07
20	1,32	1,73	2,09	2,84	3,85
40	1,30	1,68	2,02	2,70	3,55
60	1,30	1,67	2,00	2,62	3,46
∞	1,28	1,64	1,96	2,58	3,29

Grau de liberdade é, em estatística, o número de determinações independentes (dimensão da amostra) menos o número de parâmetros estatísticos a serem avaliados na população.

Comparação de resultados

A comparação dos valores de um conjunto de resultados com o valor verdadeiro ou com os valores de outros conjuntos de resultados permite verificar a exatidão e precisão do método analítico, ou se ele é melhor do que outro.

Existem 2 métodos muito usados para comparar resultados:

-teste t de *Student*

-teste da razão de variâncias (teste F)

Estes métodos utilizam o número de GRAUS DE LIBERDADE, em termos estatísticos, o número de determinações independentes (dimensão da amostra) menos o número de parâmetros estatísticos a serem avaliados na população.

Teste t de Student

-Usado para amostras pequenas

-Comparar a *média de uma série de resultados com um valor de referência* e exprimir o nível de confiança associado ao significado de comparação

-Também usado para testar a diferença entre as médias de dois conjuntos de resultados

$$t = \frac{(\bar{x} - \mu)\sqrt{n}}{S}$$

μ = valor verdadeiro

Graus de liberdade	Nível de confiança						
	50	90	95	98	99	99,5	99,9
1	1,000	6,314	12,706	31,821	63,656	127,321	636,318
2	0,816	2,920	4,303	6,965	9,925	14,089	31,598
3	0,765	2,353	3,182	4,541	5,841	7,453	12,933
4	0,741	2,132	2,776	3,747	4,604	5,598	8,610
5	0,727	2,015	2,571	3,365	4,032	4,773	6,860
6	0,718	1,943	2,447	3,143	3,707	4,317	5,958
7	0,711	1,895	2,365	2,998	3,500	4,029	5,408
8	0,706	1,860	2,306	2,896	3,355	3,832	5,041
9	0,703	1,833	2,262	2,821	3,250	3,690	4,781
10	0,700	1,812	2,228	2,764	3,169	3,581	4,587
15	0,691	1,753	2,131	2,602	2,947	3,252	4,073
20	0,687	1,725	2,086	2,528	2,845	3,153	3,850
25	0,684	1,708	2,060	2,485	2,787	3,078	3,733
30	0,683	1,697	2,042	2,457	2,750	3,030	3,686
40	0,681	1,684	2,021	2,423	2,704	2,971	3,551
60	0,679	1,671	2,000	2,390	2,660	2,915	3,460
120	0,677	1,658	1,980	2,358	2,617	2,860	3,373
∞	0,674	1,645	1,960	2,326	2,576	2,807	3,291

Probabilidade do valor de t estar dentro de certos limites

Caso 1 – Comparando um resultado medido com um valor conhecido

Uma amostra de carvão foi adquirida como sendo um Material Padrão de Referência certificado pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) dos Estados Unidos, contendo 3,18%pp de enxofre. Está se testando um novo método analítico para verificar se o valor conhecido pode ser produzido ou não. Os valores medidos são 3,29; 3,22; 3,30 e 3,23%pp de enxofre, dando uma média de 3,26%pp e um desvio-padrão de 0,04%pp. Esta resposta concorda com o valor fornecido pelo NIST?

- Para verificar isso, calculamos o intervalo de confiança de 95% para a resposta obtida e vemos se essa faixa inclui a resposta conhecida.
- Se a resposta conhecida não estiver dentro do intervalo de confiança de 95%, os dois resultados são considerados diferentes.

Caso 1 – Comparando um resultado medido com um valor conhecido

Uma amostra de carvão foi adquirida como sendo um Material Padrão de Referência certificado pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) dos Estados Unidos, contendo 3,18%pp de enxofre. Está se testando um novo método analítico para verificar se o valor conhecido pode ser produzido ou não. Os valores medidos são 3,29; 3,22; 3,30 e 3,23%pp de enxofre, dando uma média de 3,26%pp e um desvio-padrão de 0,04%pp. Esta resposta concorda com o valor fornecido pelo NIST?

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

Valores necessários: t (Tabela t student), média (valor dado), desvio-padrão (valor dado) e número de medidas (valor dado)

Lembrar que graus de liberdade nesse caso = $n - 1$

Graus de liberdade	Nível de confiança						
	50	90	95	98	99	99,5	99,9
1	1,000	6,314	12,706	31,821	63,656	127,321	630,818
2	0,816	2,920	4,303	6,965	9,925	14,089	31,598
3	0,765	2,353	3,182	4,541	5,841	7,453	12,931
4	0,741	2,132	2,776	3,747	4,604	5,598	8,610
5	0,727	2,015	2,571	3,365	4,032	4,773	6,860
6	0,718	1,943	2,447	3,143	3,707	4,317	5,958
7	0,711	1,895	2,365	2,998	3,500	4,029	5,408
8	0,706	1,860	2,306	2,896	3,355	3,832	5,001
9	0,703	1,833	2,262	2,821	3,250	3,690	4,781
10	0,700	1,812	2,228	2,764	3,169	3,581	4,587
15	0,691	1,753	2,131	2,602	2,947	3,252	4,073
20	0,687	1,725	2,086	2,528	2,845	3,153	3,880
25	0,684	1,708	2,060	2,485	2,787	3,078	3,778
30	0,683	1,697	2,042	2,457	2,750	3,030	3,666
40	0,681	1,684	2,021	2,423	2,704	2,971	3,551
60	0,679	1,671	2,000	2,390	2,660	2,915	3,460
120	0,677	1,658	1,980	2,358	2,617	2,860	3,373
∞	0,674	1,645	1,960	2,326	2,576	2,807	3,291

Caso 1 – Comparando um resultado medido com um valor conhecido

Uma amostra de carvão foi adquirida como sendo um Material Padrão de Referência certificado pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) dos Estados Unidos, contendo 3,18%pp de enxofre. Está se testando um novo método analítico para verificar se o valor conhecido pode ser produzido ou não. Os valores medidos são 3,29; 3,22; 3,30 e 3,23%pp de enxofre, dando uma média de 3,26%pp e um desvio-padrão de 0,04%pp. Esta resposta concorda com o valor fornecido pelo NIST?

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}} = 3,26 \pm \frac{(3,182)(0,04)}{\sqrt{4}} = 3,26 \pm 0,06$$

Intervalo de confiança de 95% = 3,20 até 3,32%pp

O valor conhecido está pouco fora do intervalo de confiança de 95% → Há menos do que uma chance de 5% de que nosso método concorde com a resposta conhecida.

Caso 2 – Comparação entre as médias de duas amostragens

Quando um novo método analítico está sendo desenvolvido é comum comparar-se a média e precisão do novo método com as do método de referência.

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_p} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \quad \begin{array}{l} \bar{x}_1 = \textit{média 1} \\ \bar{x}_2 = \textit{média 2} \end{array}$$

s_p = desvio padrão agrupado

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$



*t calculado > t tabelado (95%) →
diferença significativa → resultados são
considerados diferentes*

É necessário que não haja uma diferença significativa entre as precisões dos métodos → aplica o teste F antes de usar o teste t.

Teste F

-Usado para comparar as precisões de *dois grupos de dados*, como, por exemplo, os resultados de dois métodos de análise diferentes ou resultados de dois laboratórios diferentes.

$$F = \frac{s_A^2}{s_B^2}$$

-O maior valor de s é sempre colocado no numerador, o que faz com que o valor de F seja sempre maior do que a unidade.

F calculado $>$ F tabelado \rightarrow a diferença é significativa

Tabela 4-4 Valores críticos de $F = s_1^2/s_2^2$ para um nível de confiança de 95%

Graus de liberdade para s_2	Graus de liberdade para s_1													
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	30	∞
2	19,0	19,2	19,2	19,3	19,3	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,5	19,5
3	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,84	8,81	8,79	8,74	8,70	8,66	8,62	8,62
4	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,91	5,86	5,80	5,75	5,75
5	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,68	4,62	4,56	4,50	4,50
6	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,94	3,87	3,81	3,81
7	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,58	3,51	3,44	3,38	3,38
8	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15	3,08	3,08
9	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94	2,86	2,86
10	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,84	2,77	2,70	2,70
11	3,98	3,59	3,36	3,20	3,10	3,01	2,95	2,90	2,85	2,79	2,72	2,65	2,57	2,57
12	3,88	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,69	2,62	2,54	2,47	2,47
13	3,81	3,41	3,18	3,02	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,60	2,53	2,46	2,38	2,38
14	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,53	2,46	2,39	2,31	2,31
15	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,40	2,33	2,25	2,25
16	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,42	2,35	2,28	2,19	2,19
17	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,38	2,31	2,23	2,15	2,15
18	3,56	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,34	2,27	2,19	2,11	2,11
19	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,31	2,23	2,16	2,07	2,07
20	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,20	2,12	2,04	2,04
30	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93	1,84	1,84
∞	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,67	1,57	1,46	1,46

A massa média do gás do ar é $\bar{x}_1 = 2,31011$ g, com um desvio-padrão $s_1 = 0,00014$ (para $n_1 = 7$ medidas). A massa do gás, obtido de fontes químicas, é $\bar{x}_2 = 2,29947$ g, com $s_2 = 0,00138$ ($n_2 = 8$ medidas).

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$s_2 > s_1 \quad F = \frac{s_2^2}{s_1^2}$$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_p} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

A massa média do gás do ar é $\bar{x}_1 = 2,31011$ g, com um desvio-padrão $s_1 = 0,00014$ (para $n_1 = 7$ medidas). A massa do gás, obtido de fontes químicas, é $\bar{x}_2 = 2,29947$ g, com $s_2 = 0,00138$ ($n_2 = 8$ medidas).

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \Rightarrow = 0,00102$$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_p} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \Rightarrow = 20,2$$

$$s_2 > s_1 \quad F = \frac{s_2^2}{s_1^2} \Rightarrow 97,16$$

F calculado > F tabelado (4,21) → a diferença é significativa

Graus de liberdade = $7 + 8 - 2 = 13$ ($t_{\text{tabelado}} = \text{entre } 2,228 \text{ e } 2,131$)

t calculado > t tabelado → a diferença é significativa

Caso 3 – Comparação diferenças individuais

-Usamos 2 métodos diferentes para fazer medidas simples em várias amostras diferentes.

-Os dois métodos fornecem a mesma resposta “dentro do erro experimental”?

	A	B	C	D
1	Comparação dos dois métodos para a medida do Al			
2				
3	Amostra	Método 1	Método 2	Diferença
4	número	($\mu\text{g/L}$)	($\mu\text{g/L}$)	(d_i)
5	1	17,2	14,2	-3,0
6	2	23,1	27,9	4,8
7	3	28,5	21,2	-7,3
8	4	15,3	15,9	0,6
9	5	23,1	32,1	9,0
10	6	32,5	22,0	-10,5
11	7	39,5	37,0	-2,5
12	8	38,7	41,5	2,8
13	9	52,5	42,6	-9,9
14	10	42,6	42,8	0,2
15	11	52,7	41,1	-11,6
16			média =	-2,491
17			desv.pad =	6,748
18			$t_{\text{calculado}} =$	1,224

Para cada amostra, ambos os resultados são similares, porém não são idênticos.

Para verificar se existe uma diferença significativa entre os dois métodos realizaremos o teste t .

Caso 3 – Comparação diferenças individuais

-Usamos 2 métodos diferentes para fazer medidas simples em várias amostras diferentes.

-Os dois métodos fornecem a mesma resposta “dentro do erro experimental”?

	A	B	C	D
1	Comparação dos dois métodos para a medida do Al			
2				
3	Amostra	Método 1	Método 2	Diferença
4	número	(µg/L)	(µg/L)	(d _i)
5	1	17,2	14,2	-3,0
6	2	23,1	27,9	4,8
7	3	28,5	21,2	-7,3
8	4	15,3	15,9	0,6
9	5	23,1	32,1	9,0
10	6	32,5	22,0	-10,5
11	7	39,5	37,0	-2,5
12	8	38,7	41,5	2,8
13	9	52,5	42,6	-9,9
14	10	42,6	42,8	0,2
15	11	52,7	41,1	-11,6
16			média =	-2,491
17			desv.pad =	6,748
18			t _{calculado} =	1,224

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum(d_i - \bar{d})^2}{n-1}}$$

$$t_{calculado} = \frac{|\bar{d}|}{S_d} \sqrt{n}$$

t tabelado = 2,228 → há menos do que 95% de chance de que os dois resultados sejam diferentes

MÉTODOS DE CALIBRAÇÃO

⇒ Sinais obtidos por equipamentos e instrumentos devem ser calibrados para evitar erros nas medidas.

Calibração, de acordo com o INMETRO, é o conjunto de operações que estabelece, sob condições especificadas, a relação entre os valores indicados por um instrumento de medição ou sistemas de medição ou valores representados por uma medida materializada ou material de referência, e os valores correspondentes das grandezas estabelecidas por padrões.

MÉTODOS DE CALIBRAÇÃO

Modos de calibração:

a) *Calibração Pontual* – determina-se o valor de uma constante K com um único padrão, a qual expressa a relação entre a medida instrumental e a concentração do analito de interesse. Esta hipótese deve ser testada experimentalmente.

b) *Calibração Multipontual* – calibração com mais de dois padrões.

*O método mais empregado consiste na calibração multipontual com até 5 níveis de concentração, podendo apresentar uma relação linear (sensibilidade constante na faixa de concentração de trabalho) ou não-linear (sensibilidade é função da concentração do analito).

MÉTODOS DE CALIBRAÇÃO

Para muitos tipos de análises químicas, a resposta para o procedimento analítico deve ser avaliado para quantidades conhecidas de constituintes (chamados padrões), de forma que a resposta para uma quantidade desconhecida possa ser interpretada.

1. Curva de calibração externa ou curva analítica
2. Curva de adição de padrão
3. Padrão interno

AMOSTRA PADRÃO

É uma amostra de referência que contém o analito de interesse.

Padrão externo:

Amostra e padrão são injetados separadamente e a identificação do composto desejado é feita através da comparação de alguma característica, por exemplo, em cromatografia, tempo de retenção.

Padrão interno:

Adição de quantidade conhecida de elemento de referência nos padrões e na amostra.

BRANCO

Os brancos indicam a interferência de outras espécies na amostra e os traços de analito encontrados nos reagentes usados na preservação, preparação e análise. Medidas frequentes de brancos também permitem detectar se analitos provenientes de amostras previamente analisadas estão contaminando as novas análises, por estarem aderidos aos recipientes ou aos instrumentos.

1. Branco do método

2. Branco para reagentes

3. Branco de campo

BRANCO

Branco de método: é uma amostra que contém todos os constituintes exceto o analito, e deve ser usada durante todas as etapas do procedimento analítico.

Branco para reagente: é semelhante ao branco de método, mas ele não foi submetido a todos os procedimentos de preparo de amostra.

Branco de campo: é semelhante a um branco de método, mas ele foi exposto ao local de amostragem.

Obs.: O branco de método é a estimativa mais completa da contribuição do branco para a resposta analítica, sendo que sua resposta deve ser subtraída da resposta de uma amostra real antes de calcularmos a quantidade de analito na amostra.

CALIBRAÇÃO PONTUAL

Determinação de ácido ascórbico (vitamina C) em suco de laranja:

Branco: sinal = 0,10 unidade

Padrão: [AA] = 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$; sinal = 2,39 unidade

$$\text{sinal} = K [\text{AA}]_{\text{padrão}}$$

$$(2,39 - 0,10) = K (2)$$

$$K = 1,145 \text{ unidade L } \mu\text{mol}^{-1}$$

Amostra: [AA] = x $\mu\text{mol L}^{-1}$; sinal = 6,11 unidade

$$\text{sinal} = K [\text{AA}]$$

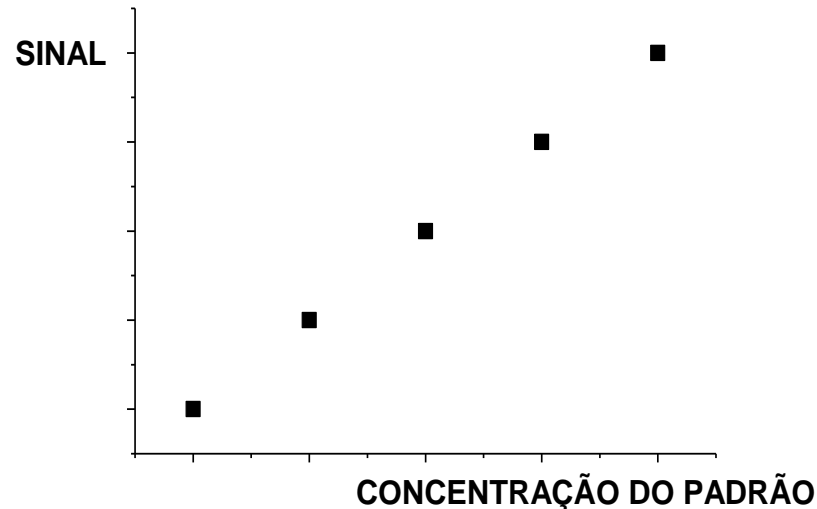
$$(6,11 - 0,10) = 1,145 [\text{AA}]$$

$$[\text{AA}] = 5,24 \mu\text{mol L}^{-1}$$



Correlação e regressão

Quando se usam métodos instrumentais, é necessário calibrar, freqüentemente, os instrumentos usando uma série de amostras (padrões), cada uma em uma concentração diferente e conhecida do analito → CURVA DE CALIBRAÇÃO EXTERNA



Dois procedimentos estatísticos devem ser aplicados à curva de calibração:

a) Verificar se o gráfico é linear ou não

b) Encontrar a melhor reta (ou melhor curva) que passa pelos pontos.

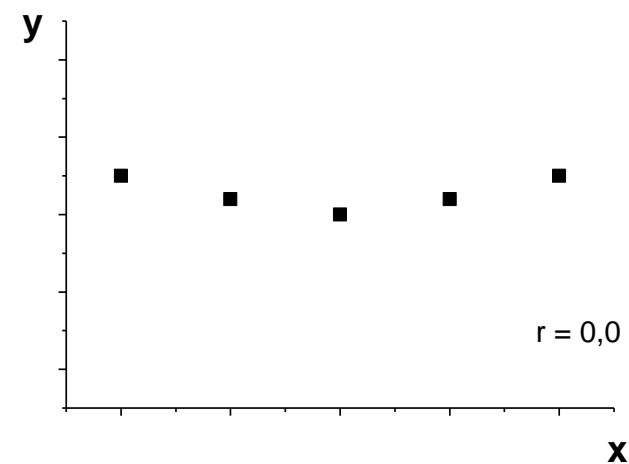
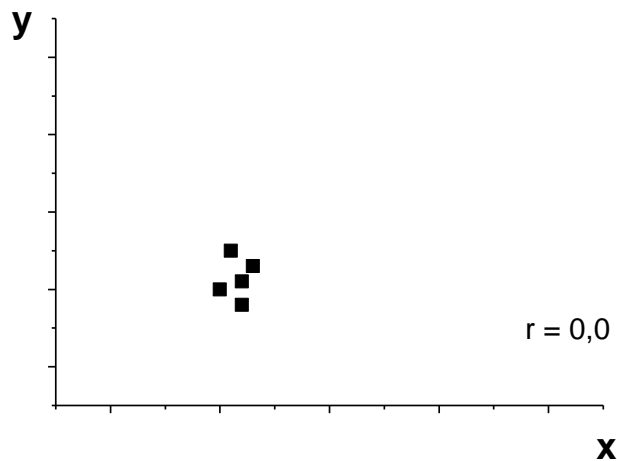
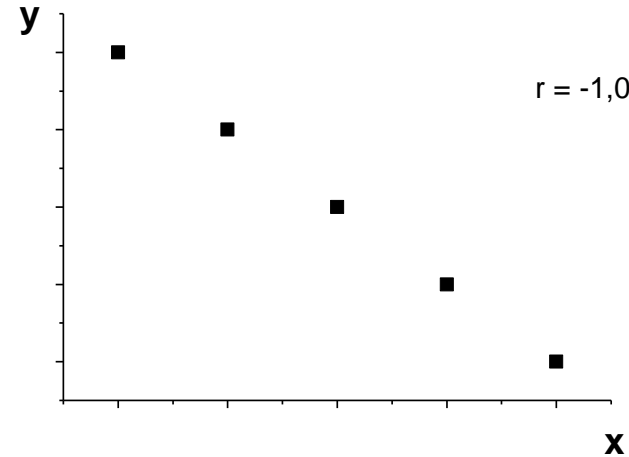
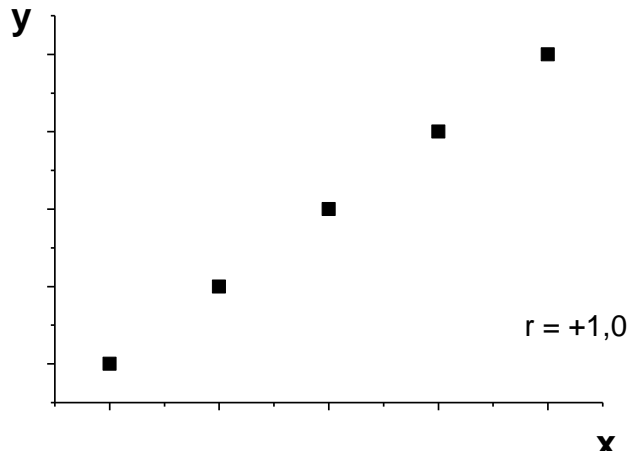
Coeficiente de correlação

Para verificar se existe uma relação linear entre duas variáveis x_1 e y_1 , usa-se o coeficiente de correlação de Pearson, r :

$$r = \frac{n \sum x_1 y_1 - \sum x_1 \sum y_1}{\left[n \sum x_1^2 - (\sum x_1)^2 \right] \left[n \sum y_1^2 - (\sum y_1)^2 \right]}$$

n = número de pontos experimentais

O valor de r deve estar entre -1 e +1.



Quanto mais próximo de ± 1 , maior a probabilidade de que exista uma relação linear entre as variáveis x e y .

Valores de r que tendem a zero indicam que x e y não estão linearmente correlacionados.

Regressão linear

Determinar a melhor reta que passa pelos pontos experimentais →
REGRESSÃO LINEAR OU MÉTODO DOS MÍNIMOS QUADRADOS.

A equação de uma linha reta é: **$y = a + bx$**

y = variável dependente

x = variável independente

b = inclinação da reta

a = intersecção no eixo dos y

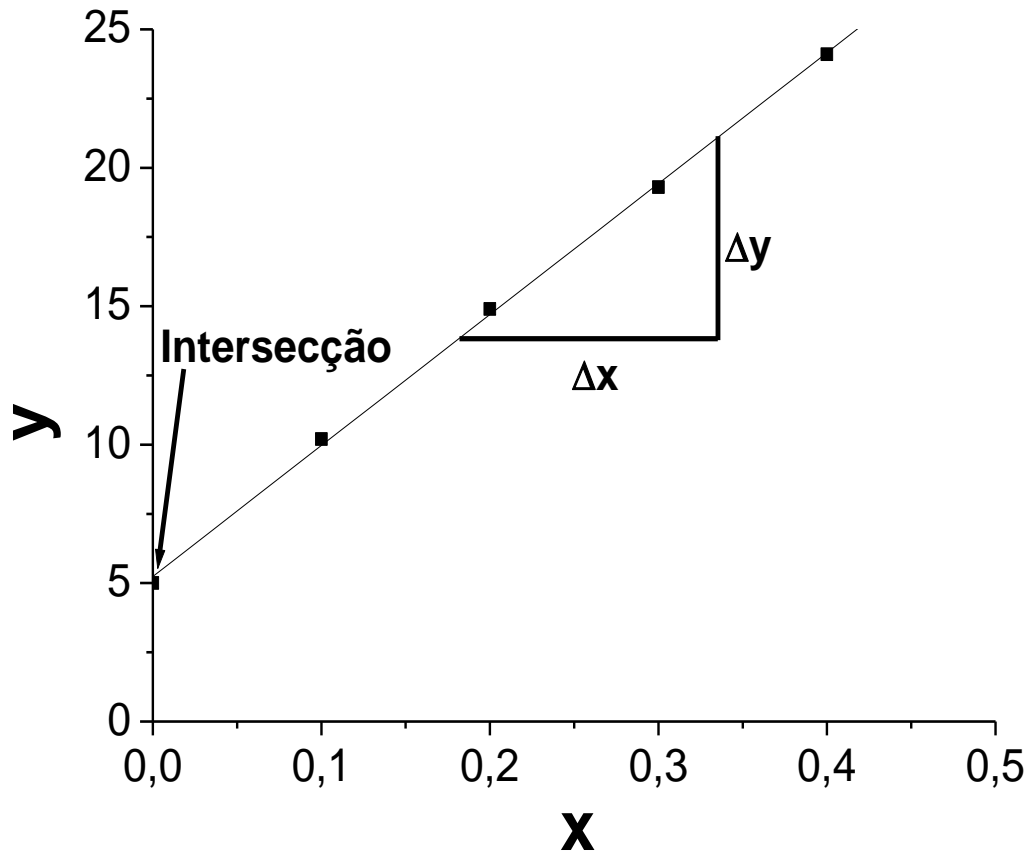
$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

$$b = \frac{n \sum x_1 y_1 - \sum x_1 \sum y_1}{n \sum x_1^2 - (\sum x_1)^2}$$

\bar{y} = média de todos os valores de y_1

\bar{x} = média de todos os valores de x_1

Pela curva de calibração



a = intersecção

b = coeficiente angular = $\Delta y / \Delta x$

Cálculo x computador

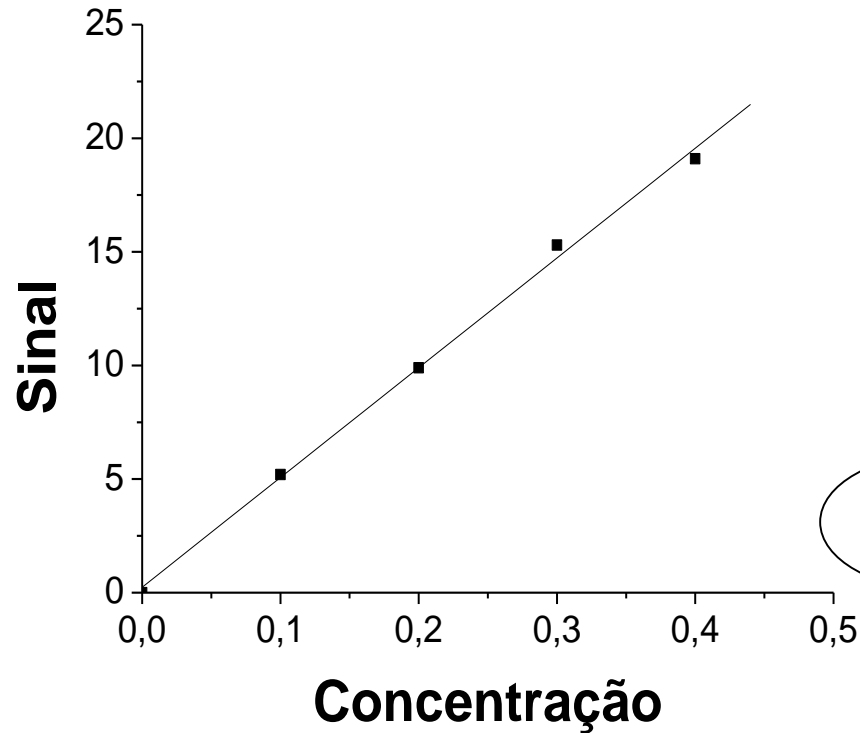
Concentração	0,00	0,10	0,20	0,30	0,40
Sinal	0,00	5,20	9,90	15,30	19,10

$$r = \frac{n \sum x_1 y_1 - \sum x_1 \sum y_1}{\sqrt{\left[n \sum x_1^2 - (\sum x_1)^2 \right] \left[n \sum y_1^2 - (\sum y_1)^2 \right]}}$$

x ₁	y ₁	x ₁ ²	y ₁ ²	x ₁ y ₁
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,10	5,20	0,01	27,04	0,52
0,20	9,90	0,04	98,01	1,98
0,30	15,30	0,09	234,09	4,59
0,40	19,10	0,16	364,81	7,64
Σx ₁ =1,00	Σy ₁ = 49,5	Σx ₁ ² = 0,30	Σy ₁ ² =723,95	Σx ₁ y ₁ =14,73

Equação → y = 0,24 + 48,3x e r = 0,9987

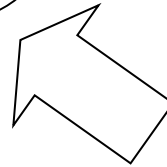
Cálculo x computador



Linear Regression for Data1_B:

$Y = A + B * X$

Parameter	Value	Error		
A	0,24	0,34957		
B	48,3	1,42712		
R	SD	N	P	
0,99869	0,45129	5	<0.0001	



Computador

Equação $\rightarrow y = 0,24 + 48,3x$ e $r = 0,9987$

Erros na inclinação e intersecção da reta

$$S_{y/x} = \sqrt{\sum \left(y_1 - \hat{y} \right)^2 / (n - 2)} \quad \hat{y} = \text{valores a partir da reta de regressão}$$

Desvio padrão da inclinação: $S_b = S_{y/x} / \sqrt{\sum (x_1 - \bar{x})^2}$

Desvio padrão da intersecção: $S_a = S_{y/x} \sqrt{\sum x_1^2 / n \sum (x_1 - \bar{x})^2}$

RESULTADO: $b \pm ts$ e $a \pm ts$

Erro na estimativa da concentração

$$S_{xc} = \frac{S_{y/x}}{b} \left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum (x - \bar{x})^2} \right]^{1/2}$$

Exemplo

Calcule os desvios padrões e os intervalos de confiança a 95% da inclinação e da intersecção da reta $y = 48,3x + 0,24$.

Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,00	0,10	0,20	0,30	0,40
Resposta	0,00	5,20	9,90	15,30	19,10

- O sucesso do método da curva de calibração é muito dependente da exatidão com que são conhecidas as concentrações dos padrões e quão próxima a matriz dos padrões está da matriz das amostras a serem analisadas.

- Infelizmente, estabelecer esta similaridade de matriz entre amostras complexas e padrões geralmente é difícil ou impossível de ser feita, e os efeitos da matriz levam a *erros de interferência*.

- Para minimizar os efeitos da matriz, normalmente é necessário separar o analito do interferente antes de obter a resposta medida do instrumento.

Método da adição de padrão

- Adições de quantidades conhecidas do analito na amostra (*spiking*)
- Elimina ou minimiza interferências introduzidas pela matriz de amostras complexas
- A matriz permanece quase inalterada após cada adição, a única diferença é concentração do analito.

$$S = \frac{kV_s c_s + kV_x c_x}{V_t}$$

S = resposta instrumental

k = constante de proporcionalidade

V_s = volume da solução padrão

c_s = concentração da solução padrão

V_x = volume da solução problema

c_x = concentração da solução problema

V_t = volume total



A equação da reta é: $y = a + bx$

y = resposta do instrumento

x = concentração da solução padrão

b = inclinação da reta

a = intersecção no eixo dos y

$$a = \frac{kV_x c_x}{V_t}$$

$$b = \frac{kV_s}{V_t}$$

Determinação da concentração por extrapolação

$$S = \frac{kV_s c_s + kV_x c_x}{V_t} = 0 \Rightarrow c_x = \frac{-(V_s)_0 c_s}{V_x}$$

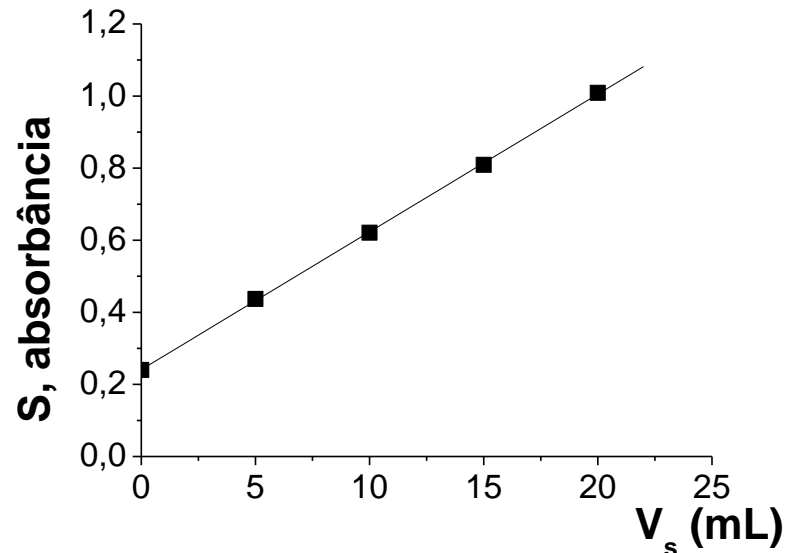
Via gráfico

Desvio padrão do valor extrapolado

$$S_{xE} = \frac{S_{y/x}}{b} \left[\frac{1}{n} + \frac{y^{-2}}{b^2 \sum (x_1 - \bar{x})^2} \right]^{1/2}$$

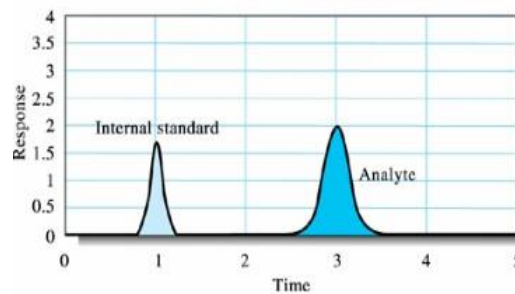
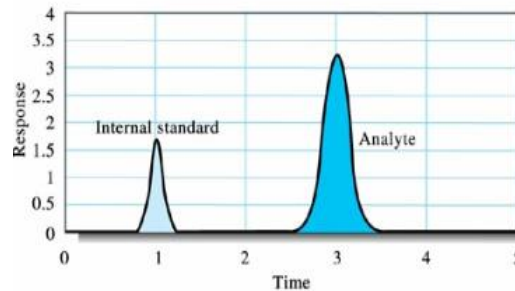
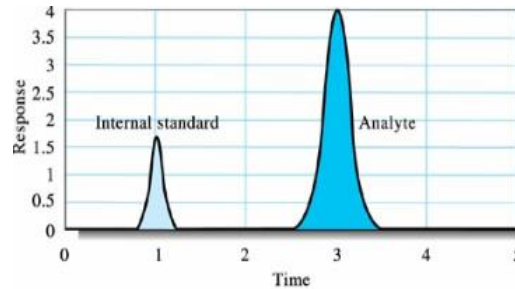
Exemplo

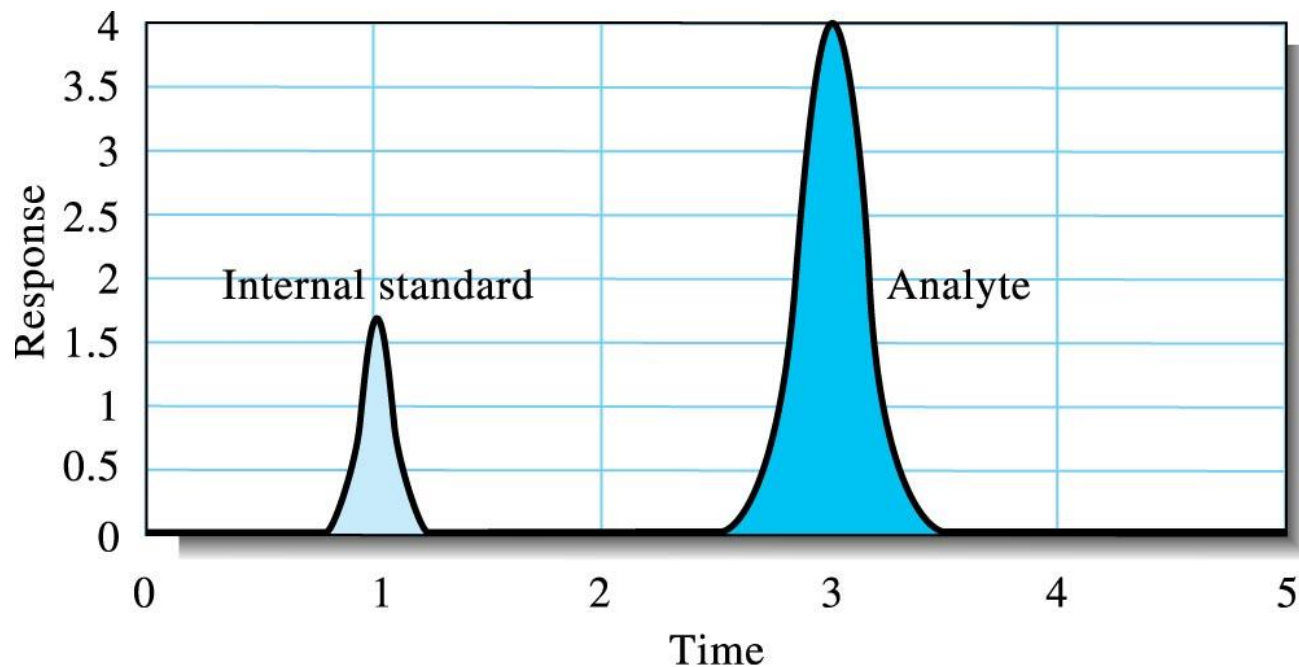
Alíquotas de 10 mL de uma amostra de água natural foram pipetadas em frascos volumétricos de 50,00 mL. Exatamente 0,00, 5,00, 10,00, 15,00 e 20,00 mL de uma solução padrão contendo 11,1 ppm de Fe^{3+} foram adicionados a cada um, seguidos por um excesso de íons tiocianato para formar o complexo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ e posterior diluição para o volume final. A resposta para cada uma das cinco soluções, medida com um colorímetro foi determinada como sendo 0,240, 0,437, 0,621, 0,809 e 1,009, respectivamente. Qual era a concentração de Fe^{3+} na amostra de água?



Método do padrão interno

- Adição de quantidade conhecida de elemento de referência nos padrões e na amostra.
- Corrige variações no sinal analítico devido a mudanças nas condições de análise.





© 2004 Thomson - Brooks/Cole

R = resposta

C = concentração

V = volume utilizado

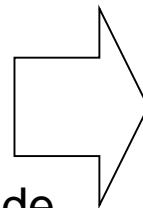
k = constante de proporcionalidade

p = padrão interno

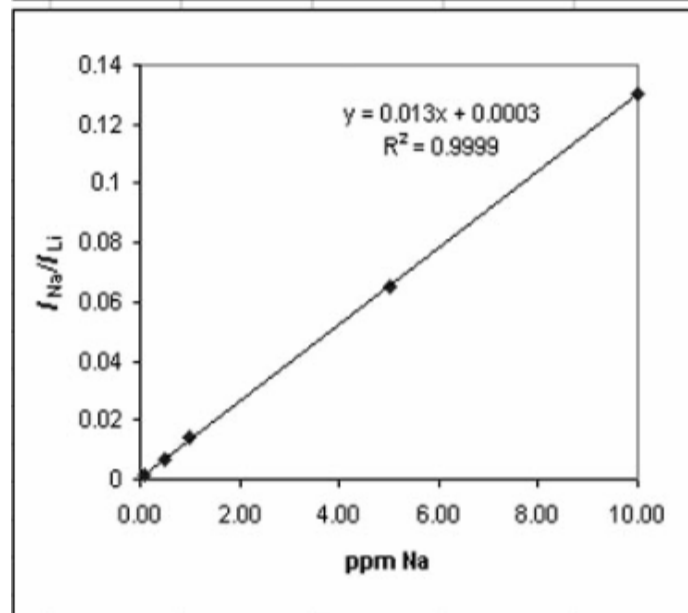
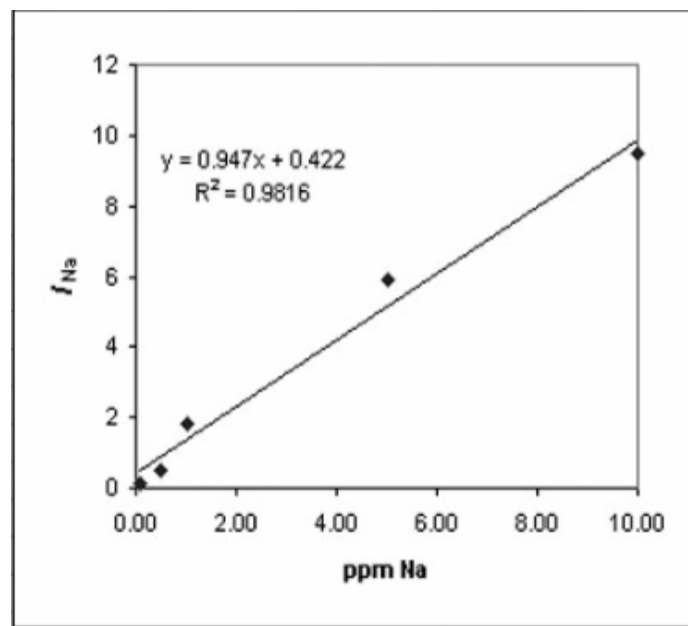
a = analito

$$R_p = k_p C_p V$$

$$R_a = k_a C_a V$$



$$\frac{R_p}{k_p C_p} = \frac{R_a}{k_a C_a}$$



Sensibilidade de calibração

-É uma medida de sua habilidade em discriminar entre pequenas diferenças na concentração de um analito.

-Dois fatores limitam a sensibilidade: a *inclinação da curva de calibração* e a reprodutibilidade ou precisão do dispositivo de medida.

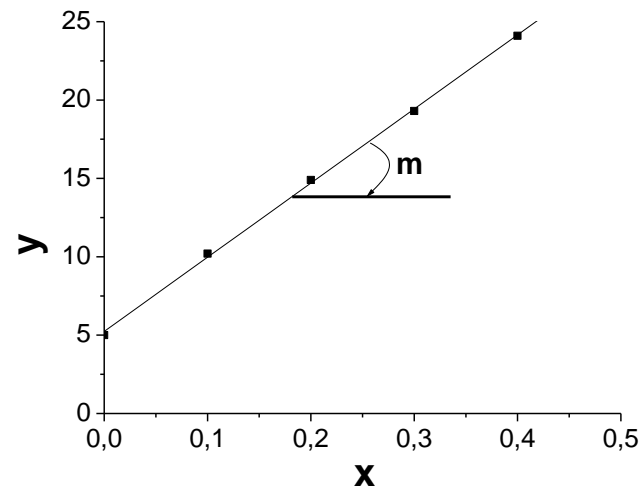
-Para dois métodos que tenham a mesma precisão, aquele que tem a curva de calibração *mais inclinada* será o *mais sensível*.

-Definição: INCLINAÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO A UMA DADA CONCENTRAÇÃO DE INTERESSE (m).

Sensibilidade analítica: $\gamma = m/s_S$

m = inclinação da curva de calibração

s_S = desvio padrão da medida



Limite de detecção

-Pode ser definido como a concentração mais baixa de um analito que pode ser distinguida com **confiança razoável** do **branco operacional** (uma amostra que contém o analito em concentração zero)

-Este limite depende da razão entre a magnitude do sinal analítico e o tamanho das flutuações estatísticas no sinal do branco.

$$S_m = \bar{S}_{br} + k s_{br}$$

$$LD = \frac{S_m - \bar{S}_{br}}{m} = \frac{3s_{br}}{m}$$

S_m = sinal analítico mínimo distinguível

\bar{S}_{br} = sinal médio do branco

k = constante = 3

s_{br} = desvio padrão das medidas do branco

LD = limite de detecção

m = inclinação da curva de calibração

Sinal < LD



Espécie não detectada ao limite de detecção da concentração x, porém há presença de sinal analítico não presente no branco.

Limite de quantificação

-É a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e veracidade.

-Pode ser considerado como sendo a concentração do analito correspondente ao valor da média do branco mais 5, 6 ou 10 desvios padrão.

Sinal < LQ



Espécie não detectada ao limite de determinação ou quantificação da concentração x , porém há presença de sinal analítico não presente no branco.

O cálculo do desvio padrão do branco pode ser feito com base na variação das medidas do branco analítico, da linha de base ou de um padrão de concentração muito baixa da(s) espécie(s) analisada(s). A escolha depende da técnica e/ou instrumentação analítica, sendo função do parâmetro que está sendo medido.

Especificidade e seletividade

-A especificidade e a seletividade estão relacionadas ao evento da detecção.

-Um método que produz resposta para *apenas um analito* é chamado *específico* e respostas para vários analitos, mas que pode *distinguir a resposta* de um analito da de outros, é chamado *seletivo* (livre de interferência).

Recuperação ou fortificação:

-Consiste na adição de uma quantidade conhecida de analito à amostra para testar se a resposta da amostra corresponde ao esperado a partir da curva de calibração. As amostras fortificadas são analisadas da mesma forma que as desconhecidas.

-Deve-se adicionar pequenos volumes de um padrão concentrado para evitar mudança significativa no volume de amostra.

$$\% \textit{recuperação} = \frac{C_{\textit{amostra fortificada}} - C_{\textit{amostra não-fortificada}}}{C_{\textit{adicionada}}} \times 100$$

Exemplo: Sabe-se que em uma amostra desconhecida existem 10,0 µg de um analito por litro. Uma adição intencional de 5,0 µg L⁻¹ foi feita numa porção idêntica da amostra desconhecida. A análise da amostra modificada forneceu uma concentração de 14,6 µg L⁻¹. Determine o percentual de recuperação da substância intencionalmente adicionada.

Repetibilidade ou repetitividade:

Máxima diferença aceitável entre duas repetições, vale dizer dois resultados independentes, do mesmo ensaio, no mesmo laboratório e sob as mesmas condições.

- a) Mesma amostra;
- b) Mesmo analista;
- c) Mesmo equipamento;
- d) Mesmo momento;
- e) Mesmo ajuste;
- f) Mesma calibração

Reprodutibilidade:

Máxima diferença aceitável entre dois resultados individuais para um mesmo processo e com demais condições como especificado.

- a) Amostras diferentes do mesmo ponto amostral, ou
- b) Diferentes analistas, ou
- c) Diferentes equipamentos, ou
- d) Diferentes técnicas, ou
- e) Diferentes calibrações, ou ajustes.

Exatidão:

1. *Testes de calibração*: a cada dez análises realizadas um padrão de concentração conhecida e diferentes dos usados para construir a curva de calibração deve ser analisado.

2. *Recuperação da substância fortificada*.

3. *Amostra de controle de qualidade*: são medidas do controle de qualidade que ajuda a eliminar vícios introduzidos pelo analista, que sabe a concentração das amostras de verificação de calibração. Amostras de composição conhecida são fornecidas ao analista como se fossem desconhecida.

4. *Branco*.

Precisão:

1. *Amostras repetidas* (repetibilidade).

2. *Porções repetidas da mesma amostra* (reprodutibilidade).