

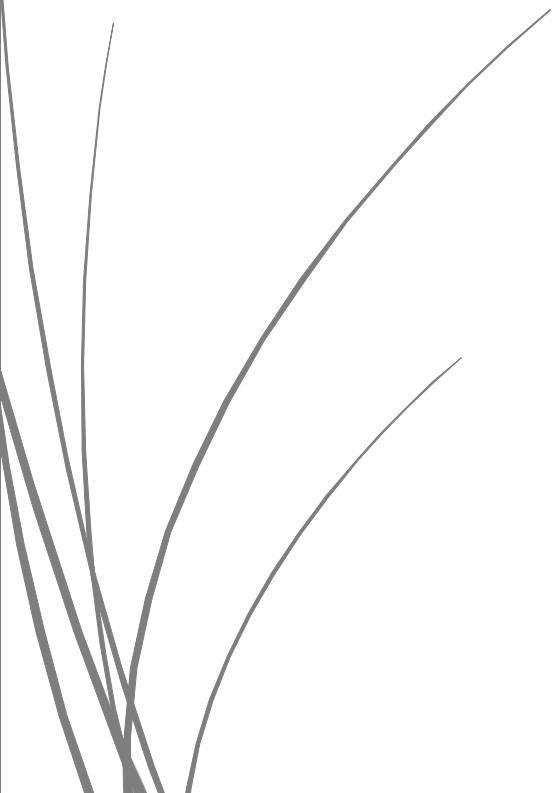
Apontamentos Fundamentos de
Estatística, Termos importantes,
Qualidade de resultados (Exatidão
e Precisão) e Métodos de
Calibração analítica

Métodos Instrumentais de Análise



BETTER MINDS

De estudantes para estudantes

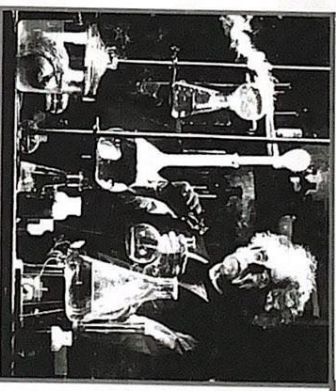


Métodos Instrumentais de Análise

2. Fundamentos de Estatística

Termos importantes
Qualidade de resultados (Exactidão e Precisão)

Os analistas querem sempre os resultados mais precisos e mais rigorosos



A precisão e a exactidão estão limitadas: pelos instrumentos pelas técnicas pelos métodos usados

Como lidar com os erros/incerteza?

Identificar os erros e a sua dimensão.

Minimizar a dimensão dos erros

Más Notícias...

Não importa que seja um ótimo analista... haverá sempre incertezas



A questão é... como lidar com as incertezas?

Estatística

Tem-nos de mais certeza dos resultados através de estatísticas

- Como ?
- Instrumentos melhores
 - Melhor "design" experimental
 - Recolher muitos dados
 - análises experimentais bem treinadas

todos os passos a elevar, como trata os amostra e como usa os instrumentos

Média

CALHA

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

Média aritmética para n medições da mesma quantidade

→ soma todos os dados e divide por n

↓ DPR
↑ precisão

Desvio padrão relativo e Coeficiente de variação

$DPR = \frac{s}{\bar{x}}$

Desvio padrão relativo

$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$

Coeficiente de variação

Possibilita a comparação da dispersão das medidas de valores de diferentes ordens de grandeza

Desvio padrão - Variância

CALHA

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

A medida mais usada para estimar a dispersão dos valores.

sendo o seu quadrado denominado por **variância** → tiramos a raíz

nº de dados que estamos a analisar

↑ dispersão de resultados
↑ desvio padrão

Método 1
 $\bar{x}_1 = 1,0 \pm 0,2$
↓
média desvio padrão

Método 2
 $x_2 = 1,2 \pm 0,2$

Se posso calcular o desvio padrão com grandeza igual (mas diferentes, uma é L10 e outra é L12), portanto, calculamos o desvio padrão relativo:
 $DPR = \frac{0,2}{1,2} = 0,16$
 $DPR = \frac{0,2}{1,0} = 0,2$
tem menor incerteza

Intervalos de Confiança

Intervalo de confiança (IC)

Intervalo à volta do valor médio, no qual é expectável encontrar o valor verdadeiro, com um certo nível de confiança (garantir com uma certa probabilidade).

$IC = \bar{x} \pm \frac{s}{\sqrt{n}}$

Se aumentar o intervalo, aumento a confiança

$(5,0 \pm 0,5)g$
 $\bar{x} \pm s$

significa que o valor está entre [4,5; 5,5]

Os limites do intervalo dependem da precisão das medidas

do número de medidas do nível de confiança e do número de graus de liberdade

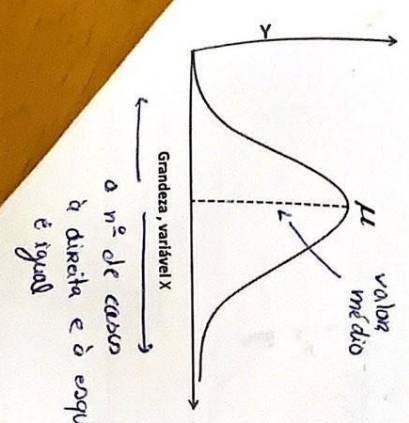
Ex: Graus de liberdade (n-1)

→ u>0 5 valores, logo 0 graus de liberdade → 5-1=4

$IC = 95\% - \text{nível de probabilidade do valor verdadeiro cair no intervalo}$

Distribuição Gaussiana

Quando a mesma análise é repetida muitas vezes, então os resultados tendem a se agrupar simetricamente em torno de um valor médio.



Y - probabilidade de ocorrência (relação entre o número de casos em que o resultado ocorre e o número total de resultados observados) de um valor X da variável X;
μ - é a média da população e σ é o desvio padrão da população (nº infinito)

s e o $\bar{x}$ são as estimativas daqueles valores quando uma amostra finita é usada

↑ amplitude → valores (±) apontados

Quando a curva é o mais fina possível μ, o desvio padrão é o mais pequeno possível.

Valores do teste t de Student

Intervalos de Confiança

Graus de liberdade	Nível de confiança (%)				
	50	90	95	98	99
1	1,000	6,314	12,706	31,821	63,656
2	0,816	2,920	4,303	6,965	9,925
3	0,765	2,353	3,182	4,541	5,841
4	0,741	2,132	2,776	3,747	4,604
5	0,727	2,015	2,571	3,365	4,032
6	0,718	1,943	2,447	3,143	3,707
7	0,711	1,895	2,365	2,998	3,500
8	0,706	1,860	2,306	2,896	3,355
9	0,703	1,833	2,282	2,821	3,250
10	0,700	1,812	2,258	2,764	3,169
15	0,691	1,753	2,131	2,602	2,947
20	0,687	1,725	2,086	2,528	2,845
25	0,684	1,708	2,061	2,485	2,787
30	0,683	1,697	2,042	2,457	2,750
40	0,681	1,684	2,021	2,423	2,704
60	0,679	1,671	2,000	2,390	2,660
120	0,677	1,658	1,981	2,358	2,617
∞	0,674	1,645	1,961	2,326	2,576



BETTER MINDS



Intervalos de Confiança

Graus de liberdade	Nível de confiança (%)				
	50	90	95	98	99
1	1,000	6,314	12,706	31,821	63,656
2	0,816	2,920	4,303	6,965	9,925
3	0,765	2,353	3,182	4,541	5,841
4	0,741	2,132	2,776	3,747	4,604
5	0,727	2,015	2,571	3,365	4,032
6	0,718	1,943	2,447	3,143	3,707
7	0,711	1,895	2,365	2,998	3,500
8	0,706	1,860	2,306	2,896	3,355
9	0,703	1,833	2,282	2,821	3,250
10	0,700	1,812	2,258	2,764	3,169
15	0,691	1,753	2,131	2,602	2,947
20	0,687	1,725	2,086	2,528	2,845
25	0,684	1,708	2,061	2,485	2,787
30	0,683	1,697	2,042	2,457	2,750
40	0,681	1,684	2,021	2,423	2,704
60	0,679	1,671	2,000	2,390	2,660
120	0,677	1,658	1,981	2,358	2,617
∞	0,674	1,645	1,961	2,326	2,576



Níveis de confiança 99%, 99% - [55,01; 105,93]
 $I_c = 100,5 \pm \frac{4,032 \times 3,3}{\sqrt{6}}$
 $\Rightarrow I_c = 100,5 \pm 5,4$ Desvio-padrão e probabilidade

Exercício 2.1

A concentração de sódio numa amostra de urina foi determinada usando um electródo selectivo de sódio. Os valores experimentais foram 102,0, 97,0, 99,0, 98,0, 101,0 e 106,0 mm.

Determine os limites de confiança da concentração de sódio, para níveis de confiança de 95% e de 99%

$$I_c = \bar{x} \pm \frac{t_{n-1, 95\%}}{\sqrt{n}}$$

$$\bar{x} = \frac{102 + 97 + 99 + 98 + 101 + 106}{6} = 99,5$$

$$\Rightarrow \bar{x} = 99,5$$

$$t_{n-1, 95\%} = 2,571$$

A concentração não unitária, logo em mg de 3,46

$$s = \sqrt{\frac{(102-99,5)^2 + (97-99,5)^2 + (99-99,5)^2 + (98-99,5)^2 + (101-99,5)^2 + (106-99,5)^2}{5}} = 3,3$$



$$\Rightarrow s = 3,3$$

Intervalos de Confiança

Exercício 2.1

A concentração de sódio numa amostra de urina foi determinada usando um electródo selectivo de sódio. Os valores experimentais foram 102,0, 97,0, 99,0, 98,0, 101,0 e 106,0 mm.

Determine os limites de confiança da concentração de sódio, para níveis de confiança de 95% e de 99%

$$\bar{x} = \frac{102 + 97 + 99 + 98 + 101 + 106}{6} = 99,5$$

$$t_{n-1, 95\%} = 2,571$$

$$I_c = \bar{x} \pm \frac{t_{n-1, 95\%} \times s}{\sqrt{n}} = 99,5 \pm 3,4$$

$$s = \sqrt{\frac{(102-99,5)^2 + (97-99,5)^2 + (99-99,5)^2 + (98-99,5)^2 + (101-99,5)^2 + (106-99,5)^2}{5}} = 3,3$$

$$\Rightarrow s = 3,3$$

$$[94,3; 106,7]$$

$$I_c 95\% = 100,5 \pm 6,2$$

Desvios das medições

A determinação do desvio das medições deve, por um lado, servir para aproximar o máximo possível do valor real e por outro lado, estimar (determinar) a confiabilidade de um método de medição. Uma diferenciação deve ser feita entre:

desvios aleatórios } desvio de medições
desvio sistemático }
erro grosseiro } os desvios aleatórios
 } costumam-se com
 } a precisão

Desvios aleatórios - Precisão

Existem em todas as medições, são inevitáveis e imprevisíveis, afectando a precisão. Podem ser minimizados, aumentando o número de medições e usando uma análise estatística adequada.

A precisão avalia a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos sobre a mesma amostra, em condições bem definidas. A precisão varia com a gama de concentrações.

Repetibilidade

Expressa pelo DP ou CV% de, no mínimo 6 determinações, da mesma amostra ou padrão, feitas nas mesmas condições de operação e num curto intervalo de tempo. Usando o mesmo procedimento, analista, equipamento, condições operatórias.

Normalmente, avalia-se em padrões, a 3 níveis de concentração, bem como em amostras de concentrações diferentes.

Precisão intermédia

Expressa pelo DP ou CV% de, no mínimo 6 determinações, da mesma amostra ou padrão, utilizando o mesmo método e o mesmo laboratório, fazendo variar pelo menos uma das condições: analista, equipamento, soluções, condições operatórias.

Normalmente, avalia-se em padrões, a 3 níveis de concentração, bem como em amostras de concentrações diferentes.

Qualidade dos resultados

Não nos basta apenas 3 valores, temo de fazer no mínimo 6-7 leituras para ter a certeza de que não foi apenas uma flutuação.

Desvios aleatórios - causas

Erros de natureza física: por ex., ruído induzido electronicamente
Influências externas - Ex. variações temperatura

Formas de exprimir a precisão

Existem três formas de exprimir a precisão, de acordo com o tipo de determinações efectuadas:

Repetibilidade } exprimir a precisão
Precisão intermédia }
Reprodutibilidade }

Reprodutibilidade

Expressa pelo CV% em percentagem
Exprime a precisão de medições feitas em condições de ensaio diferentes, utilizando o mesmo método, sobre uma mesma amostra.

Variação das condições de medição: diferentes laboratórios, diferentes equipamentos, diferentes analistas... etc.

Ensaio interlaboratoriais

há ensaios que trazem amostras cegas, de tudo e mais alguma coisa.
Logo, as medições obtidas vão ser diferentes.

Desvios das medições

A determinação do desvio das medições deve, por um lado, servir para aproximar o máximo possível do valor real e, por outro lado, estimar (determinar) a confiabilidade de um método de medição. Uma diferenciação deve ser feita entre:

- desvios aleatórios → preciso
- desvio sistemático**
- erro grosseiro

Desvios sistemáticos - Exatidão

Desvios sistemáticos afectam os resultados sempre no mesmo sentido, afectam a exatidão do resultado.
Podem em princípio ser compensados ou até eliminados, ou seja, a exatidão pode ser melhorada;

→ tenho que calcular a grau de impurezas, de não, obtenho valores mais elevados do que realmente tenho

Determinação dos Desvios sistemáticos

Análise de Materiais de Referência Certificados

Um MRC é uma amostra de referência cuja, com um valor de concentração conhecida do analito e que contém também outras substâncias existentes nesse tipo de amostra, passíveis de interferir.
O valor desta grandeza foi certificada por um processo tecnicamente válido, sendo acompanhado por um certificado.

Análises independentes usando outros métodos

comparação dos resultados obtidos a partir do método a validar com os obtidos por um método tomado como referência.

→ Padrão - se a concentração, portanto comparando tudo com o padrão.

Desvios sistemáticos - Causas

Erros instrumentais - ex. Alteração de parâmetros do dispositivo, contaminação, influência do equipamento
Influências do método - Ex utilização de uma técnica com selectividade insuficiente, incorrecções do branco

Padrões, por ex, valores de pureza incorrectas

Exatidão

Concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceite convencionalmente como verdadeiro

Erro absoluto

$$E = X_i - X_r$$

Erro Relativo

$$E_r = \frac{X_i - X_r}{X_r} \times 100\%$$

média de todos os laboros

• Não coloco em média pois quero que me dê-me informação sobre o valor possível de negativo; o valor médio é menor que o valor verdadeiro

Determinação dos Desvios sistemáticos

Testes de recuperação

A recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras às quais foram adicionadas quantidades conhecidas do mesmo (amostra fortificada).

Adições em pelo menos 3 níveis de concentrações diferentes.

• Quanto mais perto de 100%, melhor a exatidão;
• Passo ter amostras superiores a 100%.

$$\% \text{ recup} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

concentração que adicionamos

$$\% \text{ recup} = \left(\frac{20 - 10}{10} \right) \times 100$$

$$= 100\% \rightarrow \text{Exatidão elevada, não há interferências.}$$

Ex: 10 ppm + 10 ppm → 20 ppm
C2 - concentr. determinada na amostra fortificada
C3 - concentr. determinada da amostra não fortificada
C1 - concentr. adicionada
→ denominador deve quando adicionamos algo mais à amostra
• que obtenho amostra fortificada

Exercício 2.2

Testes de recuperação

Sabe-se que em uma amostra desconhecida existem 10,0 ppm de um analito. Uma adição intencional de 5,0 ppm foi feita numa porção da amostra desconhecida. A amostra modificada forneceu uma concentração de 14,6 ppm. Determine a percentagem de recuperação da substância intencionalmente adicionada.

$$\% \text{ recup} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

C1 - concent. da amostra fortificada

C2 - concent. da amostra não fortificada

C3 - concent. adicionada

$$\% \text{ recup} = \left(\frac{14,6 - 10,0}{5,0} \right) \times 100$$

$$\Rightarrow \% \text{ recup} = 92\%$$

Exercício 2.3

Diga se as seguintes afirmações estão relacionadas com desvios aleatórios, sistemáticos ou erros grosseiros

I. Avaria de um instrumento

→ **erro grosseiro**

II. Quando se usa uma pipeta de 25 mL que transfere de forma contínua 25,031 ± 0,009 mL

→ **desvio sistemático**

III. Quando se transferiu um volume de água de exactamente 0,00 até 2,00 mL, através de uma bureta de 10 mL, e a mesma transferência foi de 2,0001 g. Ao se repetir esta mesma operação, a massa transferida foi de 1,9900 g.

→ **desvio aleatório**

• 25 mL
25,00 mL
é o valor real
↓
devemos ver se a
pipeta está
equilibrada.

temos de
repetir novamente

Desvios das medições

A determinação do desvio das medições deve, por um lado, servir para aproximar o máximo possível do valor real e, por outro lado, estimar (determinar) a confiabilidade de um método de medição. Uma diferenciação deve ser feita entre:

desvios aleatórios

desvio sistemático

erro grosseiro

Erro Grosseiro

São erros que por serem elevados e evidentes indicam que o método deve ser imediatamente alterado. Por esta razão não influenciam os resultados porque devem ser eliminados.

Causas: Falta de conhecimentos, negligência, preguiça, falta de sorte

Exemplo de algumas causas:

→ usar colheres sujas;

→ deixar o balão volumétrico por tempo em H₂O a mais;

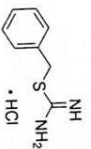
→ deixar o balão volumétrico por tempo em H₂O a mais;

Exercício 2.4

CALHA

Determinação de benzil-isotioureia

Benzil-isotioureia



Ácido nicotínico



Método Analítico:

1. Decomposição da amostra com H₂SO₄ conc., a quente.

2. O N existente na amostra é convertido em sulfato de amónia

3. Este composto é determinado no passo de medição

BETTER MINDS

BETTER MINDS

Exercício 2.5

Quais os analistas e que foram mais significativos os desvios

o aleatórios
o sistemático

Quando o erro absoluto é negativo, a concentração é menor que a verdadeira.
Quando o erro absoluto é positivo, a concentração é maior que a verdadeira.
Quando o erro relativo é negativo, a concentração é menor que a verdadeira.
Quando o erro relativo é positivo, a concentração é maior que a verdadeira.



Exercício 2.4

Método tem de distinguir valores próximos de concentrações. Como tal, quando maior a diferença, maior a facilidade de distinguir entre valores, logo, mais sensível a sensibilidade do método é maior, o método B é o mais sensível.

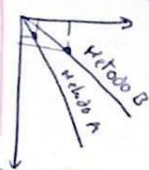
LIMITE DE DETECÇÃO - valor mínimo ao qual o analista pode ser detectado

Exercício 2.5

Este exercício tem que distinguir os parâmetros

as características dos dois métodos pode concluir-se

SENSIBILIDADE - capacidade que um método tem de distinguir valores próximos de concentrações.



le variação (%)	1	0,2
epetidos		
(%)		
com um material de	1	20

irração A = 2,500 c A = 4,000 c

tem maior desvio → sensibilidade

Qualidade dos resultados

detecção de valores anormais ou não.

Teste de Grubbs para valores discrepantes

Um dado que se apresenta afastado dos demais valores obtidos é chamado de valor discrepante.

Um determinado valor deve ser rejeitado antes de calcular a média dos demais dados ou deve ser mantido?

Responde-se a esta questão com, por exemplo, o Teste de Grubbs.

Primeiro calculamos a média e DP do conjunto completo de dados.

$$G_{calculado} = \frac{|\text{valor questionável} - \bar{x}|}{s}$$

Se $G_{calculado} > G_{tabelado}$, o valor em questão pode ser rejeitado com um nível de confiança de 95%.

LOD - não tem limite de detecção



Decretado n.º 152/2017
de 7 de dezembro
Parecer da República, I, série - V, 215 - de dezembro de 2017

Parte II - Parâmetros químicos

Parâmetro	Valor Parâmetro	Unidade	Condições
Acetilamida	11,10	µg/L	Nova I.
Antimónio	5,0	µg/L	Sp
Arsenio	10	µg/L	Ar

Os valores paramétricos estabelecidos para efeitos de verificação da conformidade da qualidade da água destinada ao consumo humano fornecida por redes de distribuição.

Alguns resultados analíticos ...
Comentar os seguintes resultados obtidos para o teor em arsénio em diferentes amostras de águas destinadas ao consumo humano.

- 5 µg/L (incerteza de 50%)
- 9,8±0,2 µg/L
- n.d. (limite de detecção de 2 µg/L)

nota: se confiável, pois o valor é muito superior aos valores paramétricos da tabela.
valor mínimo ao qual o analista pode ser detectado
encontra-se abaixo do limite de detecção, no entanto não que dizer que não existe.

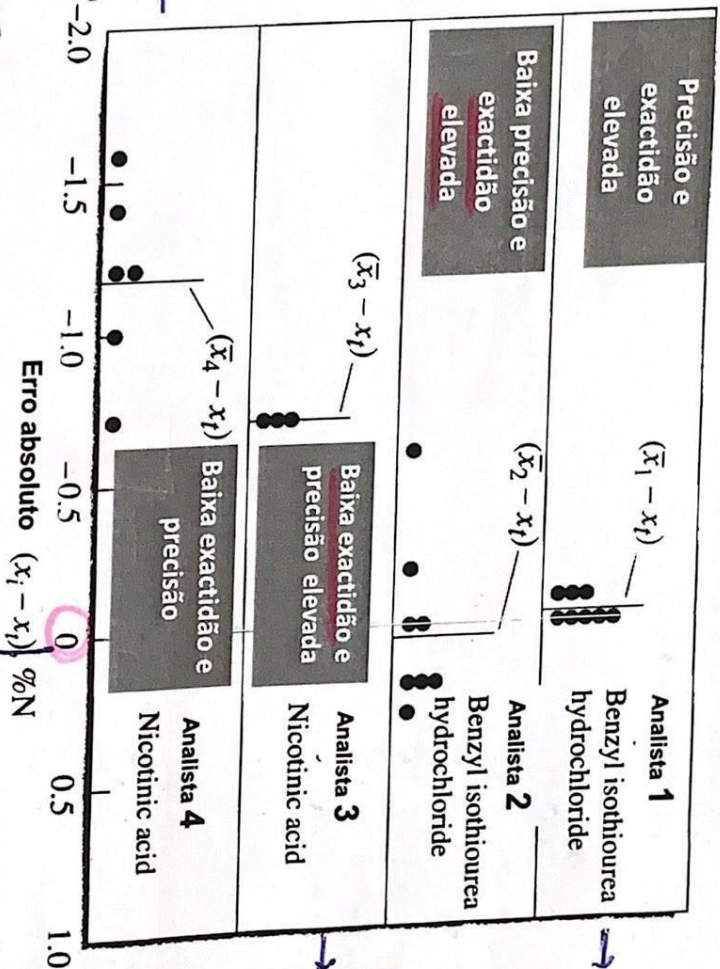


Exercício 2.4

CAHA

Quais os analistas em que foram mais significativos os desvios

- o aleatórios
- o sistemático



desvios
→ sistemáticos
e aleatórios
menores



Se a calha 2 o problema está no método, os materiais estão OK.

Erro aleatório → Adiciona-se a exatidão
↓ Er ↑ Exatidão

Quando o erro absoluto é negativo, a concentração da amostra foi baixa.
O H2SO4 não consegue queimar o anal benzidico, o que não no permitiu separar totalmente o Nitrogênio.

ERRO absoluto = 0 quando a média dos valores é igual ao valor real

Numero de observações	G (95% de confiança)
4	1,463
5	1,674
6	1,822
7	1,938
8	2,032
9	2,110
10	2,176
11	2,234
12	2,285
15	2,409
20	2,557

1ª) Para determinar o valor discrepante olhamos para os extremos (7,8 e 11,6)

2ª) Calcula a média:

$$\bar{x} = \frac{10,2 + 10,8 + 11,6 + 9,9 + 9,4 + 10,0 + 9,2 + 11,3 + 9,5 + 10,6 + 11,6}{12}$$

3ª) Calcula o desvio padrão dos valores:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{12 - 1}}$$

$$\bar{x} = 10,158$$

4ª) Número de observações e tabela de Grubbs:
 $n = 12$ logo $G_{tabelado} = 2,285$

Se $G_{calculado} > G_{tabelado}$, o valor em questão pode ser rejeitado com um nível de confiança de 95%.

Calculado = 2,11 < 2,285 logo, não podemos desprezar!

Teste de Grubbs para valores dispersos

Vários estudantes dissolveram o zinco de um prego galvanizado e mediram a perda de massa desse prego, para calcular qual o seu conteúdo de zinco. A seguir apresentamos-se os 12 resultados obtidos:

Perda de massa %	10,2	10,8	11,6	9,9	9,4	7,8	10,0	9,2	11,3	9,5	10,6	11,6
------------------	------	------	------	-----	-----	-----	------	-----	------	-----	------	------

Existente algum valor que seja discrepante e que deva ser desprezado.
 Valor discrepante: 7,8

$$G_{calculado} = \frac{|7,8 - 10,158|}{2,11} = 1,11$$

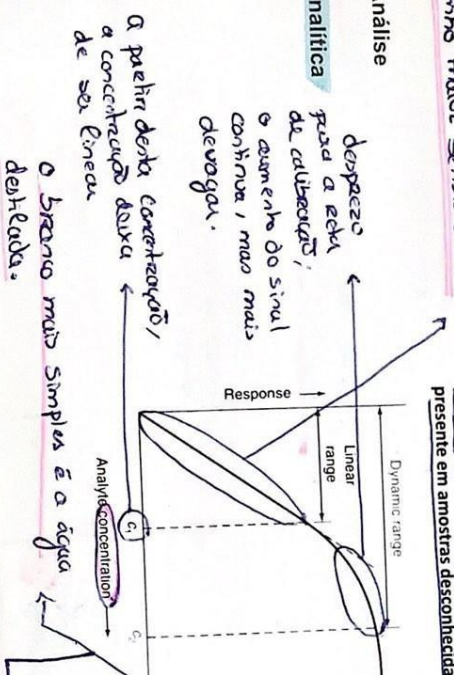
$$G_{tabelado} = 2,285$$

Métodos Instrumentais de Análise

3. Métodos de Calibração analítica

Padrões externos
 Adição padrão
 Padrões internos

Preferimos usar esta zona por causa da sensibilidade. Tenho maior sensibilidade!



Curva de calibração

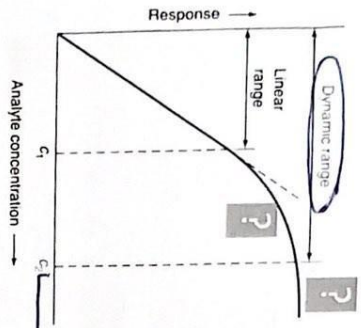
Método de Calibração de Padrões Externos

Procedimento

- Preparar um conjunto de soluções padrão do analito numa gama de concentrações de interesse (que deve diferir, no mínimo, de um factor de 10).
- Medidas do sinal instrumental para as soluções padrão e branco (5 níveis de concentração no mínimo).
- Subtrair a resposta média do branco (sem analito).
- Fazer um gráfico da resposta corrigida versus a concentração.
- Determinar a equação da recta que melhor se ajusta aos pontos experimentais.
- Usar o que contribui para o sinal, sem ser o analito, como que desmontar.

Método de Calibração de Padrões Externos

Usando a curva de calibração – Resposta Linear



Calibração com resposta linear é preferível

Intervalo de linearidade

Intervalo de concentração do analito em que o sinal é proporcional à concentração

Intervalo $[c_1, c_2]$??

Concentrações superiores a c_2 ??

o método deixa de responder à variação da concentração

MJP



Departamento de Química

Método de Calibração de Padrões Externos

Usando a curva de calibração

$$y = mx + b$$

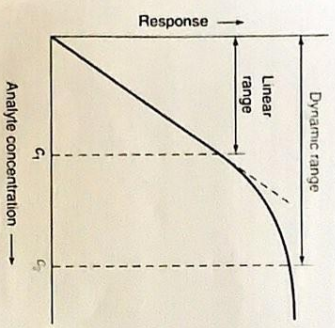
Normalmente os laboratórios de controlo de qualidade admitem uma recta de calibração como adequada para ser usada em análise se:

O desvio-padrão relativo do declive (razão entre o s_m e o m) for inferior a 5%;

Este critério nem sempre é cumprido, sobretudo se a gama de concentrações for baixa (erros instrumentais mais significativos)

O intervalo de confiança da ordenada na origem, $b \pm t_{s_b}$, contiver o zero.

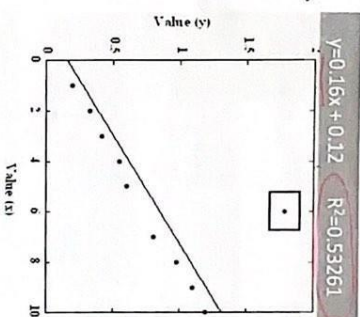
Coefficiente de correlação for superior a 0,995. $\rightarrow R^2 = 0,995$



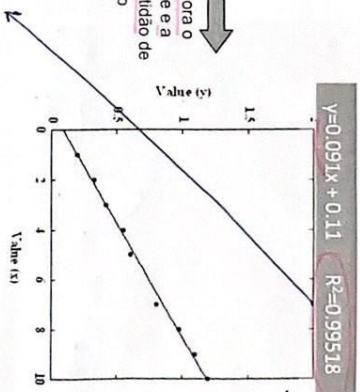
Departamento de Química

Método de Calibração de Padrões Externos

Usando a curva de calibração – Pontos anómalos



Melhora o ajuste e a exactidão de m e b



retiramos o ponto discrepante

coeficiente de correlação é aceitável a partir de $R^2 = 0,995$

Se $S_{\bar{N}O}$, o valor é elevado e podemos ter concentrações negativas $\rightarrow$ caso sistematico



Departamento de Química

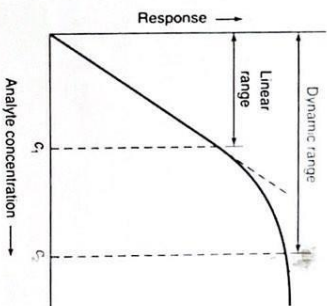
Método de Calibração de Padrões Externos

Usando a curva de calibração

Determinar a sensibilidade analítica:

É a capacidade de responder de forma confiável e mensurável às variações de concentração do analito. Também expressa a capacidade da resposta instrumental diferenciar dois valores de concentração próximos, assim a sensibilidade do método depende do declive da recta de calibração.

SENSIBILIDADE



MJP

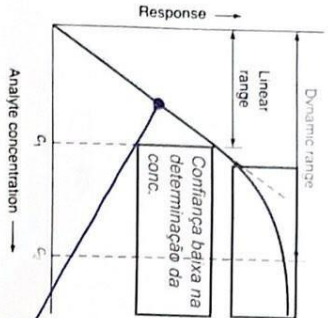
MJP

BETTER MINDS

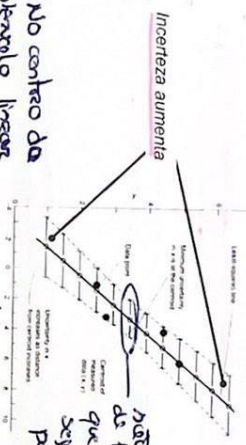
Método de Calibração de Padrões Externos

Usando a curva de calibração - Limitações

Limites da aplicação da curva de calibração para determinar uma concentração desconhecida.



- Limitado ao intervalo linear da curva
- Limitado ao intervalo de respostas determinadas experimentalmente para concentrações das soluções padrão usadas.



$$y = mx + b$$

$$\text{Sinal} = m \cdot c + b$$

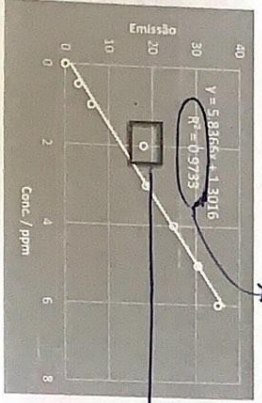
o controle da incerteza linear é onde tem a menor incerteza

Exercício 3.1



Procedimento

Balão	Conc. / ppm	Sinal de emissão atômica
1	0	0
2	0.50	3.05
3	1.00	6.05
4 (*)	2.00	18.0
5	3.00	18.6
6	4.00	24.8
7	5.00	30.4
8	6.00	34.5



$R^2 < 0,995$, logo não é aceitável

PROCEDIMENTO:

- Verifica se o R^2 é $R^2 > 0,995$, para ser aceitável

Exercício 3.1

Procedimento

Para a determinação da concentração de sódio numa amostra de soro foi usado o método de calibração de padrões externos.

Em balões de 50,0 mL foi adicionado volumes diferentes (ver tabela) de uma solução padrão de Na^+ com a concentração de 50,00 ppm, e os balões foram aferidos com água destilada.

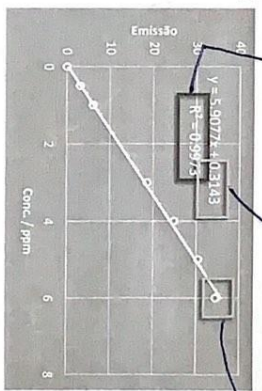
Balão	Conc. / ppm	Sinal de emissão atômica
1	0	0
2	0.50	3.05
3	1.00	6.05
4	2.00	18.0
5	3.00	18.6
6	4.00	24.8
7	5.00	30.4
8	6.00	34.5

PROCEDIMENTO

- Colocar os dados no excel

Exercício 3.1

Balão	Conc. / ppm	Sinal de emissão atômica
1	0	0
2	0.50	3.05
3	1.00	6.05
4 (*)	2.00	18.0
5	3.00	18.6
6	4.00	24.8
7	5.00	30.4
8	6.00	34.5



$R^2 > 0,995$ melhora o R^2 logo é aceitável

este ponto está em baixo da reta, mas é um valor normal, está no início da curva.

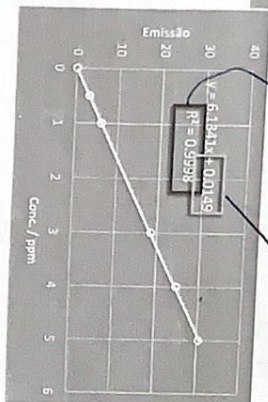
PROCEDIMENTO

- Deo poucas pontas para melhorar o R^2 .
- Melhorar o b de $y = mx + b$, desprezando o ponto que está no início da curva.

Procedimento

Exercício 3.1

Baño	Conc. / ppm	Sinal de emissão atômica
1	0	0
2	0.50	3.05
3	1.00	6.05
4(*)	2.00	18.0
5	3.00	18.6
6	4.00	24.8
7	5.00	30.4
8(*)	6.00	34.5



U² 20,895
 aceitável
 5 melhorado

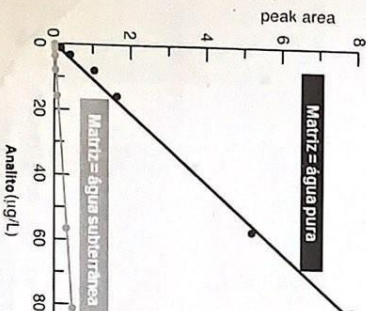
Método de Adição Padrão

Exemplo

O Perclorato (ClO_4^-) num nível acima de 18 $\mu\text{g/L}$ em água potável é um problema, pois pode reduzir a produção de hormonas da tireóide.

Curvas de calibração construídas com soluções padrão com a mesma concentração de perclorato preparados com:

- Água destilada
- Água que estava a ser analisada - água subterrânea



há algo que está a interferir na nossa amostra.

Procedimento

Na adição-padrão, quantidades conhecidas de analito são adicionados à amostra desconhecida. A partir do aumento do sinal, deduzimos quanto de analito estava presente na amostra original.

Quando deve ser usada

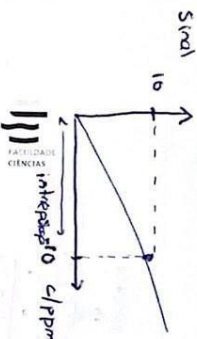
Deve ser usada quando a composição da amostra é desconhecida ou complexa e afecta o sinal analítico.

Define-se como Efeito de Matriz

EFEITO MATRIZ

Uma mudança no sinal analítico por qualquer coisa na amostra diferente do analito

Nota:



Se fizermos um sinal = 15, é maior do que nos é permitido determinar. Logo, temos que diluir a solução.
 • Fator de diluição!

Método de Adição Padrão

Exemplo

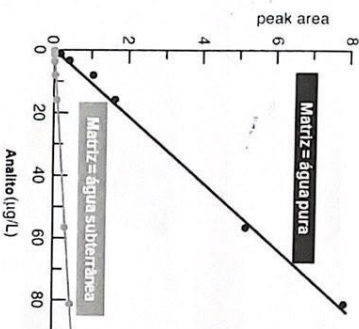
Os padrões preparados com a água que estava a ser analisada apresentam:

Uma resposta 15 x menor.

Esta redução do sinal do analito é devido ao efeito de matriz atribuído a outros iões presentes na água que está sendo analisada.

Método de adição padrão

Quando adicionamos um pequeno volume de padrão concentrado a uma amostra desconhecida, a concentração da matriz não muda muito.



Se contém a amostra

Método de Adição Padrão

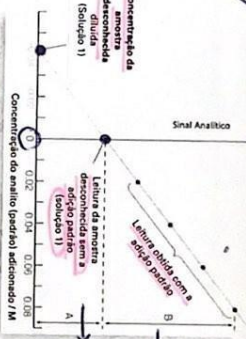
1ª colocamos a mesma quantidade de amostra

Método da adição padrão com volume total constante
Procedimento Experimental

Coloque 5 mL de amostra desconhecida em cada balão volumétrico

Adicione 0, 5, 10, 15 ou 20 mL de padrão

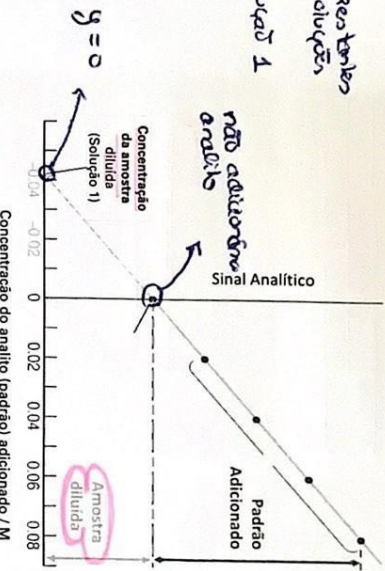
Encha cada balão volumétrico até à marca de 50 mL



A matriz afeta a magnitude do sinal analítico. Na adição padrão, todas as soluções padrão e amostra têm a mesma matriz.

Método da Adição Padrão

Nota: o sinal que feio tem influência de 2 curvas paralelas. o fator de diluição da 1ª amostra é 10.



$$y = mx + b$$

$x = \text{concentração}$

Concentração amostra diluída

Correção da diluição

$$C = \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{amostra}}} \times \text{Concentração amostra diluída}$$

Exercício 3.2

Exercício 3.2

PADRÕES EXTERNOS
Sinal = K (C_p + C_a)
S = K (C_p + C_a)
Padrões amostra

$$S = K C_p + K C_a$$

$$y = m x + b$$

$$\rightarrow m = K$$

$$\rightarrow b = K C_a$$

Determinação de Fe numa água e consumo humano - Método da adição padrão

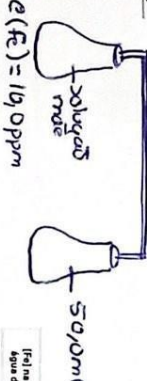
Determine a concentração de Fe na água de consumo humano.

Concentração da solução-padrão (solução-mãe) de Fe - 10,0 ppm

Todas as soluções foram diluídas para balões de 50,0 mL

Concentração PPM	Volume da amostra de água/mL	Volume da solução padrão / mL	Abs
0	10	0	0,215
4,00	10	5,00	0,424
8,00	10	10,0	0,685
3,00	10	15,0	0,925

solução mãe volume retirado



e(Fe) = 19,0 ppm

$$C_i V_{\text{inicial}} = C_f V_{\text{final}}$$

$$\Rightarrow 10,0 \text{ ppm} \times 5,00 = C_f \times 50,0 \text{ mL}$$

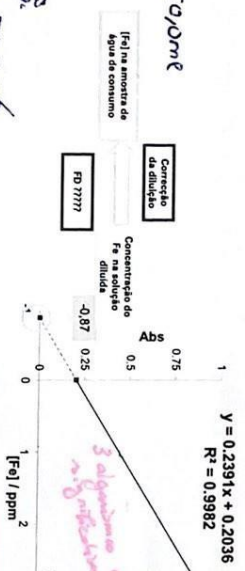
$$\Rightarrow C_f = \frac{10,0 \text{ ppm} \times 5,00}{50,0}$$

$$\Rightarrow C_f = 1,00 \text{ ppm}$$

$$\Rightarrow C_f = 1,00 \text{ ppm}$$

Determinação de Fe numa água e consumo humano - Método da adição padrão

Determine a concentração de Fe na água de consumo humano.



$$y = 0,2391x + 0,2036$$

$$R^2 = 0,9982$$

$$C_{Fe} = \frac{-b}{m} \times \frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{amostra}}}$$

$$\Rightarrow C_{Fe} = 0,85 \times \frac{50,0}{10}$$

$$\Rightarrow C_{Fe} = 4,25 \text{ ppm}$$

$$\Rightarrow C_{Fe} = 4,2 \text{ ppm}$$

Concentração da solução diluída!

$$x = \frac{-b}{m}$$

$$\Rightarrow x = \frac{-0,2036}{0,2391}$$

$$\Rightarrow x = 0,85 \text{ ppm}$$

Pré-requisitos

- o A matriz da amostra e dos padrões tem de ser comparável.
- o Existência de poucas fontes de desvios sistemáticos → temos que minimizar o erro sistemático
- o Reprodutibilidade elevada da análise dos padrões e da amostra.

Vantagens

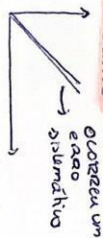
é o método mais utilizado devido à sua simplicidade e facilidade de interpretação.
Muitas amostras semelhantes podem ser analisadas sem esforço extra (análise de rotina)

Desvantagens

Desvios sistemáticos são difíceis de detectar, flutuações dos sistemas falsificam os valores medidos (por exemplo, em HPLC e GC)

Método de Padrões Externos - Resumo

recorremos quando temos uma matriz muito complexa



Como diminuir os desvios sistemáticos durante a calibração

Resumo

- o **Ajuste de matriz**
Ajustar de forma a que a matriz das soluções padrão e das amostras fiquem semelhantes.
A difículdade é o facto da matriz da amostra ser muitas vezes desconhecida
- o **Usar o método da adição padrão**
Todas as soluções ficam com a mesma matriz, porém o método geralmente consome grandes volumes de amostras e reagentes, além de requerer elevados tempos de análise, sendo mais conveniente para análise de um número pequeno de amostras
- o **Usar o padrão interno**
O padrão interno deve apresentar propriedades físico-químicas semelhantes às do analito, e não estar presente nas amostras.
O PI e o analito devem ser determináveis simultaneamente; a análise deve ser selectiva para ambas as substância

→ Para cada amostra tenho de preparar

Séries de soluções padrão

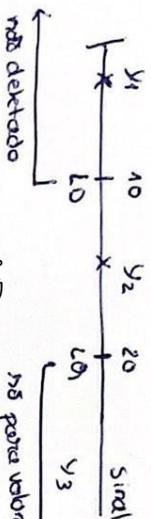
→ Se recorramos ao existência pequena

Limite de Detecção (LD)

O limite de detecção (x_{LD}) é a concentração mínima a partir da qual é possível detectar a presença do analito com uma certa estatística razoável. Este limiar analítico corresponde a uma pequena quantidade de substância a analisar que pode ser detectada numa amostra, mas não necessariamente quantificada como valor exacto.

Uma leitura inferior ao L.D. não significa, obviamente, a ausência do analito a medir. Apenas se pode afirmar com uma probabilidade definida, a concentração do componente em causa será inferior a x_{LD} .

Em termos quantitativos o conceito LD corresponde à concentração mínima que é possível distinguir do branco, ou seja, de uma amostra que contém a mesma matriz mas não contém o analito.



• $y_1 = 0,5$ não posso quantificar nem detectar
• $y_2 = 1,5$, posso quantificar mas não detectar
• $y_3 = 2,5$, posso quantificar e detectar

BETTER MINDS

Exercício 3.4

Procedimento - Resultados

Num determinado método, os sinais provenientes de 7 brancos foram os apresentados na tabela.

Considerando a seguinte recta de calibração:
 $y = 0,229 \text{ c}(\mu\text{M})$

Determine o LD e LQ.

Qual a concentração do analito em uma amostra que deu um sinal de 7,0 nA

Sinal/ nA
1,4
2,2
1,7
0,9
0,4
1,5
0,7

$$C_{LD} = \frac{3,306}{0,229} \mu\text{M}$$

$$\approx 14,4 \mu\text{M}$$

$$C_{LQ} = \frac{7,46}{0,229} \mu\text{M} \Leftrightarrow C_{LQ} = 32,6 \mu\text{M}$$

Média	Desvio-padrão
1.26	0.62

$$y = mx + b$$

$$x = \frac{y - b}{m}$$

$$C = \frac{y}{m}$$

Limite de Quantificação (LQ)

O limite de quantificação (x_{LQ}) é a concentração mínima a partir da qual é possível medir com uma certa estatística razoável.

Determinação do LD e LQ

Em termos quantitativos o LD e LQ é obtido por:
Leituras de brancos:

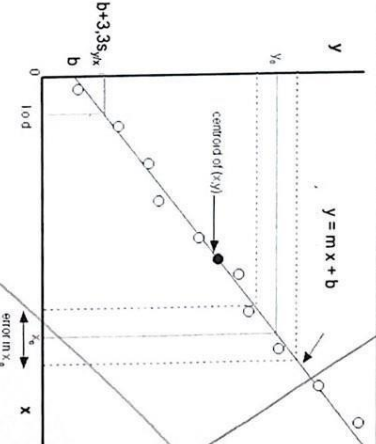
$x(\text{branco})$ (concentração) média aritmética do teor medido de uma série de brancos (entre 10 e 20 ensaios), preparados de forma independente e lidos ao longo de vários dias de trabalho; $y(\text{branco})$ (sinal instrumental).

$$y_0 = y(\text{branco}) + 3,3(\text{brancos})$$

$$y_{LQ} = y(\text{branco}) + 10(\text{brancos})$$

média dos valores quando o intervalo é 3,3 vezes superior, consigo detectar o sinal

Usando a curva de calibração - Determinação LD e LQ



Limite de detecção

$$y(LD) = b + 3,3s_y/x$$

$$C(LD) = \frac{3,3s_y/x}{m}$$

Limite de quantificação

$$y(LQ) = b + 10s_y/x$$

$$C(LQ) = \frac{10s_y/x}{m}$$

Verdadeiro ou Falso?

Um método instrumental de análise X que apresenta uma recta de calibração –

Sinal instrumental (y) versus Concentração (x , em mg/L) –

$y = 0,100x + 0,003$, com limite de detecção 0,03 mg/L,

é mais sensível que outro,

B, cuja recta é $y = 0,200x + 0,004$, com limite de detecção 0,10 mg/L.

$$y = 0,100x + 0,003$$

• O método B tem maior declive, logo tem maior sensibilidade, logo, é falso

MJP

