

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

DIEGO MANICA

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA:  
DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM ÁGUAS –  
MÉTODO TITULOMÉTRICO DO EDTA –  
COMPLEXOMETRIA**

Porto Alegre, 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

DIEGO MANICA

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA:  
DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM ÁGUAS –  
MÉTODO TITULOMÉTRICO DO EDTA –  
COMPLEXOMETRIA**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso – QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química

Prof. Dr. Celso Camilo Moro  
Orientador

Porto Alegre, 2011

## RESUMO

A NBR ISO/IEC 17025 (INMETRO, 2005), norma que acredita a confiabilidade de um resultado emitido por laboratórios de ensaios e calibração, evidencia que modificações e alterações em metodologias normalizadas sejam validadas. A validação de um método normalizado garante confiabilidade analítica. Este trabalho apresenta os testes realizados a fim de validar as alterações realizadas no método titulométrico para o ensaio de cálcio em águas, descrito segundo a metodologia nº 3500 Ca B descrita no livro *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

Segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009) e ratificado pelo INMETRO (2010) os passos necessários para a Validação de Métodos Laboratoriais incluem o estudo dos seguintes parâmetros de desempenho, requeridos como evidência objetiva deste processo: Seletividade; Linearidade; Sensibilidade; Precisão; Exatidão; Estabilidade; Robustez; Incerteza de Medição.

A avaliação dos parâmetros de desempenho requer diversos ensaios analíticos, através de titulações de padrões e/ou amostras reais fortificadas com padrões de valores conhecidos e posterior análise estatística.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>5</b>
<b>1.1 O ELEMENTO QUIMICO CÁLCIO</b>	<b>5</b>
1.1.1 Cálcio em águas	6
<b>1.2 DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM ÁGUA</b>	<b>6</b>
1.2.1 Titulometria de complexação (método do EDTA)	7
<b>1.3 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS E A NBR ISO/IEC 17025:2005</b>	<b>8</b>
<b>1.4 PARÂMETROS DE DESEMPENHO</b>	<b>10</b>
1.4.1 Seletividade	10
1.4.2 Linearidade	10
1.4.3 Sensibilidade	11
1.4.4 Precisão	11
1.4.5 Exatidão	12
1.4.6 Estabilidade	12
1.4.7 Robustez	12
1.4.8 Incerteza de medição	13
<b>2. OBJETIVO</b>	<b>14</b>
<b>3. METODOLOGIA</b>	<b>15</b>
<b>3.1 SELETIVIDADE</b>	<b>16</b>
<b>3.2 LINEARIDADE</b>	<b>17</b>
<b>3.3 SENSIBILIDADE</b>	<b>19</b>
<b>3.4 PRECISÃO</b>	<b>19</b>
3.4.1 Estudo da repetitividade	20
3.4.2 Estudo da reprodutibilidade	21
<b>3.5 EXATIDÃO</b>	<b>22</b>
3.5.1 Estudo do percentual de recuperação	22
3.5.2 Estudo do Z-score interlaboratorial	23
3.5.3 Estudo do Z-score intralaboratorial	23
<b>3.6 ESTABILIDADE</b>	<b>25</b>
3.6.1 Estudo da carta de controle para valores individuais	25
3.6.2 Estudo da carta de controle para amplitude móvel	26
3.6.3 Estudo da carta de controle para média	27
3.6.4 Estudo da carta de controle para desvio padrão	28
<b>3.7 ROBUSTEZ</b>	<b>29</b>
<b>3.8 INCERTEZA DE MEDIÇÃO</b>	<b>30</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>32</b>
<b>4.1 SELETIVIDADE</b>	<b>32</b>
<b>4.2 LINEARIDADE</b>	<b>35</b>

<b>4.3 SENSIBILIDADE</b>	<b>38</b>
<b>4.4 PRECISÃO</b>	<b>39</b>
4.4.1 Estudo da repetitividade	39
4.4.2 Estudo da reprodutibilidade	40
<b>4.5 EXATIDÃO</b>	<b>43</b>
4.5.1 Estudo do percentual de recuperação	43
4.5.2 Estudo do Z-score interlaboratorial	44
4.5.3 Estudo do Z-score intralaboratorial	45
<b>4.6 ESTABILIDADE</b>	<b>46</b>
4.6.1 Estudo da carta de controle para valores individuais	47
4.6.2 Estudo da carta de controle para amplitude móvel	49
4.6.3 Estudo da carta de controle para média	51
<b>4.7 ROBUSTEZ</b>	<b>55</b>
<b>4.8 INCERTEZA DE MEDIÇÃO</b>	<b>56</b>
<b>CONCLUSÃO</b>	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>59</b>
<b>ANEXO 1 – PROCEDIMENTO DE ENSAIO DE CÁLCIO EM ÁGUAS UTILIZADO NA CORSAN</b>	<b>61</b>
<b>ANEXO 2 – TABELA DE DISTRIBUIÇÃO F – ALFA DE 0,050 (95 % DE CONFIANÇA)</b>	<b>64</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 O ELEMENTO QUÍMICO CÁLCIO

O elemento químico cálcio (Ca), do latim *calcium*, é um metal de baixa dureza, prateado, que reage facilmente com o oxigênio do ar e com a água. Na natureza ele não é encontrado isolado, como metal, estando disponível, principalmente, como constituinte de rochas, como calcários, como *mármore* ( $\text{CaCO}_3$ ), *gipso* ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) e *fluorita* ( $\text{CaF}_2$ ). Ocorre também em dentes, nas cascas de ovos, em pérolas e nas conchas de muitos animais marinhos.

Muitos compostos de cálcio já eram conhecidos na antiguidade pelos indianos, egípcios, gregos e romanos. No século I, os romanos já preparavam a *cal*, ou *calx*, (óxido de cálcio). Em 975 d.C., o *gipso* desidratado (gesso) já era citado na literatura, sendo utilizado para “engessar” pernas e braços quebrados; tanto o gesso como o óxido de cálcio, *cal virgem*, já eram usados para a fabricação de argamassas para revestimento e fixação de tijolos.

Porém, o elemento químico cálcio, foi somente isolado em 1808, sob uma forma impura, pelo químico inglês Humphry Davy ao eletrolisar uma mistura dos óxidos de cálcio ( $\text{CaO}$ ) e de mercúrio ( $\text{HgO}$ ) (PEIXOTO, 2004).

O cálcio é o quinto elemento mais abundante da Terra. Sua abundância média na crosta terrestre é de 4,9%; em solos está entre 0,07 e 1,7%; nos córregos é próxima de 15 mg  $\text{L}^{-1}$  e em águas subterrâneas está na faixa de 1 mg  $\text{L}^{-1}$  a valores maiores que 500 mg  $\text{L}^{-1}$ , (APHA, 2005).

O cálcio é um elemento essencial para todos os seres vivos, sendo o elemento metálico mais abundante no corpo humano. Ele é vital para o crescimento e manutenção dos ossos e dos dentes e ajuda na coagulação do sangue e na contração muscular. Uma dieta diária que inclua vegetais verdes, leites e seus derivados, peixe e um pouco de sol já garante o suprimento de cálcio que o ser humano necessita para as suas atividades normais (PEIXOTO, 2004).

Número Atômico:  $Z = 20$

Massa Molar:  $M = 40,078 \text{ g/mol}$

Isótopos Naturais:  $^{40}\text{Ca}$  (96,941% –  $M = 39,9626 \text{ g/mol}$ )

$^{44}\text{Ca}$  (2,086% –  $M = 43,9555 \text{ g/mol}$ )

$^{42}\text{Ca}$  (0,647% –  $M = 41,9586 \text{ g/mol}$ )

$^{48}\text{Ca}$  (0,187% –  $M = 47,9525 \text{ g/mol}$ )

$^{43}\text{Ca}$  (0,135% – M = 42,9588 g/mol)

$^{46}\text{Ca}$  (0,004% – M = 45,9537 g/mol)

Ponto de Fusão:  $T_f = 839\text{ }^\circ\text{C}$

Ponto de Ebulição:  $T_e = 1484\text{ }^\circ\text{C}$  (PEIXOTO, 2004)

### 1.1.1 Cálcio em águas

O íon cálcio é um dos cátions comumente encontrado em sistemas de água doce. É oriundo predominantemente de minerais tais como  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$  e  $\text{CaCO}_3$  em diferentes formas minerais.

O íon cálcio, juntamente com o magnésio, contribui para o parâmetro “dureza total” definido como o somatório da concentração dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ . Este parâmetro muitas vezes é usado como uma medida da qualidade da água potável.

O efeito mais conhecido da presença de cálcio e/ou magnésio na água de consumo é a formação de sais insolúveis com os ânions dos sabões, formando uma espécie de “nata” na água de lavagem ou incrustações em tubulações.

Tratamento químico de amaciamento, osmose reversa, eletrodialise ou troca iônica são exemplos de técnicas usadas para reduzir o cálcio e a dureza em águas (APHA, 2005).

## 1.2 DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM ÁGUA

Segundo o livro *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, editado pela *American Public Health Association* (APHA, 2005) há três metodologias para determinação de cálcio em água. As mais conhecidas e difundidas são: titulometria de complexação, a espectroscopia de absorção atômica e o método do plasma indutivamente acoplado. Os métodos de absorção atômica (3111 B, D e E) e o método do plasma indutivamente acoplado (3120) são meios precisos de determinação do cálcio. O método da titulação com EDTA (3500 Ca B) apresenta bons resultados para aplicações de controle e rotina. Porém, amostras com elevadas contaminações de fósforo (valores superiores a  $50\text{ mg P L}^{-1}$ ) somente métodos de absorção ou emissão atômica são recomendados, devido as interferências, muitas vezes encontradas, com os indicadores (APHA, 2005).

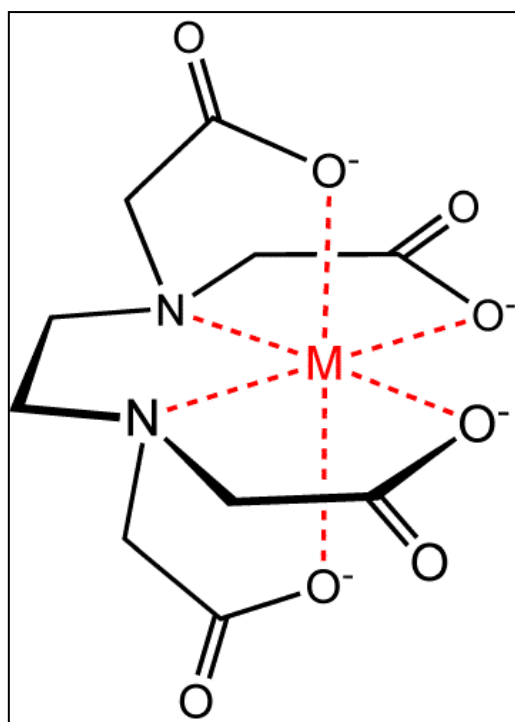
A grande vantagem da técnica titulométrica frente às instrumentais é o fato de não ser necessário construir uma curva analítica, pois a concentração do íon cálcio na amostra está

diretamente relacionada ao volume gasto de titulante, tornando a determinação mais rápida e eficiente no controle deste parâmetro em águas para consumo humano.

### 1.2.1 Titulometria de complexação (método do EDTA)

O método titulométrico do EDTA é baseado na reação do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou seus sais de sódio que formam complexos solúveis (quelatos) com certos cátions metálicos (OLIVEIRA e FERNANDES, 2009).

O EDTA é um ácido cristalino de fórmula molecular  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ , que atua como um agente quelante. A Figura 1 apresenta o arranjo espacial do EDTA atuando como quelante de um metal.



**Figura 1:** Visão espacial do EDTA atuando como quelante de um metal<sup>1</sup>.

A reação de complexação entre o EDTA e os íons cálcio ocorre em um pH na faixa de 8 a 13, porém o ensaio titulométrico para determinação de cálcio em águas deve ser realizado na faixa de 12 a 13 afim de precipitar o magnésio presente na amostra evitando, assim, a sua interferência. O ensaio também necessita de um indicador (murexida, por exemplo) para assinalar o ponto final da reação (APHA, 2005).

<sup>1</sup> Imagem disponível em: <<http://mundonovomeu.blogspot.com/2010/10/edta.html>>. Acesso em 09 Set. 2011.



Uma solução padrão de EDTA com concentração de  $0,0100 \text{ mol L}^{-1}$  é utilizada como titulante e o seu volume gasto está diretamente proporcional a concentração de íons cálcio presentes na amostra, como apresentado na equação (1):

$$mg \text{ Ca}^{2+} \text{ L}^{-1} = \frac{40,08 \times \text{Volume EDTA (mL)} \times \text{Concentração EDTA} \times 1000}{\text{Volume de amostra (mL)}} \quad (1)$$

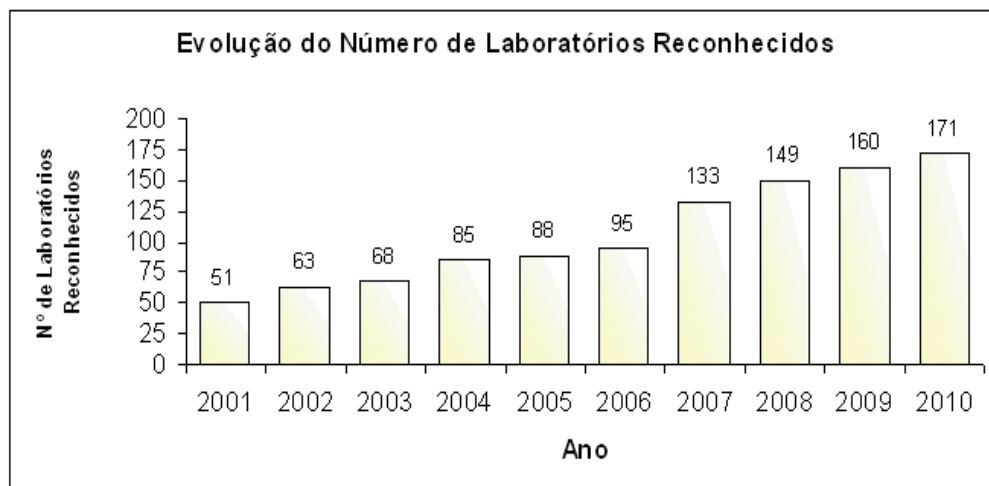
Como possíveis interferentes da técnica temos que no pH da titulação o ortofosfato precipita o cálcio. Os metais estrôncio e bário promovem uma interferência positiva e alcalinidade acima de  $300 \text{ mg L}^{-1}$  pode causar um ponto final indistinto em águas duras. A Tabela 1 apresenta os possíveis interferentes desta metodologia analítica.

**Tabela 1:** Possíveis interferentes na determinação de cálcio pelo método titulométrico do EDTA (APHA, 2005)

Interferente	Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ )
$\text{Cu}^{2+}$	2
$\text{Fe}^{2+}$	20
$\text{Fe}^{3+}$	20
$\text{Mn}^{2+}$	10
$\text{Zn}^{2+}$	5
$\text{Pb}^{2+}$	5
$\text{Al}^{3+}$	5
$\text{Sn}^{4+}$	5

### 1.3 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS E A NBR ISO/IEC 17025:2005

A preocupação com a qualidade dos ensaios/resultados apresentados pelos laboratórios analíticos é eminente, devido às exigências de mercado e/ou para garantir confiabilidade dos mesmos. Este contexto promove aumento de instituições que almejam serem “reconhecidas” através da implantação de normas internacionais de qualidade, como a NBR ISO/IEC 17025:2005. A Figura 2 mostra a evolução de laboratórios gaúchos reconhecidos junto a Rede Metrológica do Rio Grande do Sul (RMRS).



**Figura 2:** Evolução do número de laboratórios reconhecidos junto a Rede Metrológica do Rio Grande do Sul (RMRS, 2011c).

Um dos procedimentos que promove a garantia da qualidade dos serviços prestados por laboratórios analíticos é a validação de métodos, ou seja, “a confirmação por exames e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos” (NBR ISO/IEC 17025, 2005).

Recentemente o órgão acreditador brasileiro (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO) sugere aos laboratórios acreditados à norma NBR ISO/IEC17025 a necessidade de validar métodos analíticos reconhecidos internacionalmente, por exemplo: métodos publicados pela *US Environmental Protection Agency* (EPA) e bibliografias como o *Standard Methods*, quando se evidencia pequenas alterações de metodologia ou para confirmar o comportamento de um processo. Assim, “com o objetivo de confirmar que os métodos são apropriados para o uso pretendido, o laboratório deve validar (...) métodos normalizados usados fora dos seus escopos para os quais foram concebidas, ampliações e modificações de métodos normalizados” (NBR ISO/IEC 17025, 2005).

Segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009) e ratificado por INMETRO (2010) os passos necessários para a Validação de Métodos Laboratoriais incluem o estudo dos seguintes parâmetros de desempenho, requeridos como evidência objetiva deste processo:

- Seletividade;
- Linearidade;
- Sensibilidade (Limites de Detecção e Quantificação);
- Precisão (Repetitividade e Reprodutibilidade);

- Exatidão (Percentual de Recuperação, Z-score Intralaboratorial e Z-score Interlaboratorial);
- Estabilidade (Cartas de Controle para: Valores Individuais, Amplitude Móvel, Médias e Desvio Padrão);
- Robustez;
- Incerteza de Medição.

A avaliação dos parâmetros de desempenho requer diversos ensaios analíticos, através de titulações de padrões e/ou amostras reais fortificadas com padrões de valores conhecidos e posterior análise estatística.

## 1.4 PARÂMETROS DE DESEMPENHO

### 1.4.1 Seletividade

A matriz da amostra pode conter componentes que interferem no desempenho da medição. Os interferentes podem aumentar ou reduzir o sinal, e a magnitude do efeito também pode depender da concentração (INMETRO, 2010). Assim, a seletividade de um método analítico pode ser definida como a capacidade do mesmo ser indiferente à presença de interferentes na amostra que possam vir a mascarar a determinação do analito em estudo (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

Uma das maneiras de avaliar a seletividade é através da construção de curva analítica utilizando a matriz de trabalho como solvente. Este método é utilizado quando não é possível obter a matriz isenta da substância de interesse. Neste caso é feita uma curva analítica com adição da substância de interesse na matriz a qual é comparada com uma curva analítica sem a presença da matriz.

### 1.4.2 Linearidade

A linearidade do procedimento analítico é a capacidade de produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analisado na amostra, em uma faixa de concentração. A faixa linear é definida como a faixa de concentrações na qual a sensibilidade pode ser considerada constante e é, normalmente, expressa nas mesmas unidades do resultado obtido pelo método analítico (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

A linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real. A equação da reta que relaciona as duas variáveis é descrita na equação (2):

$$y = ax \pm b \quad (2)$$

Onde:  $y$  = resposta medida (absorbância, altura ou área do pico, etc.);

$x$  = concentração;

$a$  = coeficiente angular, inclinação da curva analítica = sensibilidade;

$b$  = interseção com o eixo  $y$ , quando  $x = 0$  (INMETRO, 2010).

O coeficiente de correlação linear ( $R^2$ ) é frequentemente usado para indicar a adequabilidade da curva como modelo matemático. Um valor maior que 0,99 é, usualmente, requerido (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

### 1.4.3 Sensibilidade

A sensibilidade de um método pode ser avaliada através das seguintes ferramentas: Cálculo do Limite de Detecção do Método (LDM) e Cálculo do Limite de Quantificação do Método (LQM).

O LDM é a concentração do constituinte que, quando submetida a uma determinada metodologia, produz uma resposta que com 99% de probabilidade dista do branco, ou seja, representa a mais baixa concentração do analito em ensaio que pode ser detectada com uma dada confiabilidade, porém não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas. Enquanto, LQM é a concentração de constituinte que produz uma resposta com o mínimo de precisão e exatidão para a reprodução de uma metodologia (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

### 1.4.4 Precisão

A precisão expressa o grau de dispersão entre as medições independentes a partir de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões sobre condições definidas. A precisão contempla dois níveis: a repetitividade e a reprodutibilidade.

A repetitividade é o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo mensurando efetuada sob as mesmas condições de medição, ou seja, mesmo

procedimento, mesmo observador (analista), mesmo instrumento (equipamento), mesmo local e repetições em curto período de tempo. Enquanto que a reprodutibilidade é o grau de concordância entre os resultados de medições de um mesmo mensurando efetuada sob condições variadas, que podem incluir condições alteradas de analista, equipamento, local, tempo (dia da análise), marca e/ou lotes dos padrões (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

#### **1.4.5 Exatidão**

Exatidão é o grau de concordância entre o resultado de uma medição e um valor verdadeiro do mensurando (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

A exatidão pode ser avaliada pelos seguintes testes: percentual de recuperação, Z-score interlaboratorial e Z-score intralaboratorial.

No teste de percentual de recuperação (%R) se avalia, percentualmente, quão próximo está o resultado obtido ao se analisar um material de referência (MR). O Z-score interlaboratorial é obtido através da participação em programas de ensaios de proficiência organizados por órgãos voltados a qualidade laboratorial. Já o Z-score intralaboratorial pode ser considerado um programa de ensaio de proficiência realizado internamente, onde diferentes analistas podem ser avaliados como se fossem diferentes laboratórios de ensaio.

#### **1.4.6 Estabilidade**

Estabilidade é o quanto um determinado analito varia ao longo de um determinado período de tempo. A estabilidade do analito deve ser determinada de modo a reproduzir as reais condições de armazenamento, manuseio e análise (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

#### **1.4.7 Robustez**

Robustez é a susceptibilidade de um método analítico em responder a pequenas alterações das condições experimentais as quais podem ser: condições de armazenamento, ambientais, preparo de amostra ou outra pequena alteração (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009). Convém salientar que quanto maior for a robustez de um método, maior será a confiança desse relacionamento à sua precisão (INMETRO, 2010).

#### **1.4.8 Incerteza de medição**

Incerteza de medição é um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão de valores que poderiam ser razoavelmente atribuídas ao mensurando.

A incerteza de medição compreende, em geral, muitos componentes. Alguns desses componentes podem ser estimados com base na distribuição estatística dos resultados das séries de medições e podem ser caracterizados por desvios padrão experimentais. Os outros componentes, que também podem ser caracterizados por desvios padrão, são avaliados por meio de distribuição de probabilidades assumidas, baseadas na experiência ou em outras informações (EURACHEM, 2002).

## 2. OBJETIVO

Realizar, por meio do rigor metrológico, a validação da metodologia para a Determinação de Cálcio em Águas (*Standard Methods* 3500 Ca B), com a seguinte alteração no método original:

- Uso de solução padrão de EDTA 0,00500 mol L<sup>-1</sup>.

Esta modificação foi sugerida, pois torna o método mais seletivo para a faixa de concentrações encontradas nas amostras normalmente analisadas pelo laboratório.

### 3. METODOLOGIA

O Departamento de Ensaio e Apoio Laboratorial (DEAL) da Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN) possui acreditação junto a Norma NBR ISO/IEC 17025 desde o ano de 2003, logo todos os controles previstos na mesma estão em pleno funcionamento, como: utilização de procedimentos operacionais padrões (POPs) nos ensaios, controle de documentos, monitoramento das condições ambientais, limpeza e umidade dos laboratórios, controle de materiais de referência e reagentes primários, controle de vidrarias e materiais rastreados e certificados. Os certificados dos reagentes e das vidrarias se encontram no Grupo de Planejamento da Qualidade (GPQ). A temperatura foi observada ao longo do estudo e a mesma manteve-se em  $20 \pm 6$  °C.

Como descrito anteriormente, o DEAL utiliza como referência para o ensaio de cálcio em águas a metodologia nº 3500 Ca B descrita no livro *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), porém, com a alteração na concentração do padrão titulante (EDTA), coube aos funcionários do laboratório validar esta modificação na metodologia e cumprir o previsto na NBR ISO/IEC 17025, item nº 5.4.5.2. A descrição de parte do procedimento de ensaio da metodologia que está sendo validada encontra-se no Anexo 1.

Como o DEAL é um laboratório de análises complementares as realizadas nas estações de tratamentos de água (ETAs) da CORSAN, houve a necessidade de realizar os testes nas matrizes de trabalho de laboratório (água bruta, água tratada e água subterrânea – poço). As amostras necessárias para o estudo foram coletadas nos locais descritos na Tabela 2, em quantidade suficiente para que os testes previstos fossem realizados com a mesma matriz, e foram preservadas, no momento da coleta, com ácido nítrico concentrado até  $\text{pH} < 2$ .

**Tabela 2:** Locais das coletas das amostras das diferentes matrizes

<b>Tipo de Matriz</b>	<b>Local da Coleta</b>
<b>Água Bruta</b>	ETA da cidade de Torres (RS)
<b>Água Tratada</b>	ETA da cidade de Osório (RS)
<b>Água Subterrânea – Poço</b>	Poço TRM 04 da cidade de Tramandaí (RS)

Nas análises titulométricas foram utilizados dois tituladores automáticos marca SCHOTT modelo Titronic Basic com certificados de calibração nº RBC 3758/09 e RBC 0350/10. Os dados foram tratados no Microsoft Office Excel 2007. As seções 3.1 a 3.8



apresentam a metodologia aplicada no estudo dos parâmetros de desempenho realizados para esta validação.

### 3.1 SELETIVIDADE

A seletividade foi avaliada segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009) para as três matrizes de trabalho do laboratório (água bruta, água tratada e água subterrânea – poço) no intervalo de 1 a 80 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>. O ensaio foi conduzido para toda a faixa<sup>2</sup> sendo analisadas 05 (cinco) alíquotas de 25, 50 ou 100 mL dos padrões preparados, para cada concentração da faixa a ser utilizada. O procedimento utilizado no estudo da seletividade está descrito a seguir.

- Selecionar uma amostra (água bruta, poço e tratada), previamente preservada, com volume, mínimo, de 5000 mL.
- Preparar os pontos da curva analítica, conforme a Tabela 3.

**Tabela 3:** Preparo dos pontos necessários para o estudo da seletividade

Ponto <sup>3</sup> (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Balão Volumétrico (mL)	Alíquota do Padrão de 1000 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> (mL)	HNO <sub>3</sub> Concentrado (mL) <sup>4</sup>	Volume de Solvente (mL)
PaCa001AX	1	1000	1,2	997,8
PaCa005AX	5	1000	1,2	993,8
PaCa010AX	10	500	0,6	494,4
PaCa020AX	20	500	0,6	489,4
PaCa050AX	50	500	-	475,0
PaCa080AX	80	250	-	230,0

- Preparar os pontos com dois tipos de solventes: amostra (bruta, poço e tratada) e água deionizada. Na amostra será avaliada a curva analítica com a presença da matriz.
- Analisar 05 (cinco) vias de cada ponto por tipo de solvente. Registrar os resultados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.

<sup>2</sup> A faixa de concentração apresentada foi escolhida, pois é a que melhor representa a realidade de amostras analisadas no laboratório.

<sup>3</sup> Todos as amostras e padrões preparados para este estudo de validação foram nomeados com a codificação PaCa(valor da concentração)A(tipo de matriz), por exemplo: PaCa005AB = Padrão de Cálcio 5 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> em Água Bruta. AD = água deionizada; AP = água de poço; AT = água tratada.

<sup>4</sup> Faz-se necessária a adição de HNO<sub>3</sub> concentrado apenas para concentrações menores do que 50 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> e apenas para o solvente água deionizada, pois as amostras (B, P e T) já foram preservadas no momento da coleta.

- A partir dos resultados, plotar as duas curvas analíticas no mesmo gráfico “Seletividade”, considerando a concentração do padrão analisado no eixo “x” e a resposta analítica [concentração calculada pela equação (1)] no eixo “y” para cada matriz.
- Calcular a regressão linear e o  $R^2$  (coeficiente de determinação) para as duas curvas. Considera-se o  $R^2$  igual ao coeficiente de correlação (r), ao quadrado.
- Comparar as duas curvas analíticas e caso elas sejam paralelas e com resultados muito próximos, pode-se dizer que não há interferência da matriz na determinação da substância de interesse.
- Caso a resposta seja afirmativa, seguir para o “Teste F”, caso a resposta seja negativa, deve-se avaliar os resultados e proceder novas análises.
- Calcular a média dos resultados, o desvio padrão (s) entre os resultados e a sua respectiva variância ( $s^2$ ), sempre considerando cada ponto de cada curva analítica separadamente.
- Calcular o F calculado (Fcal) pela divisão entre as médias das variâncias, ou seja, Fcal é o quociente entre o maior valor de  $s^2$  pelo menor valor de  $s^2$ .
- Comparar com o F tabelado (Ftab) encontrado na “Tabela de Distribuição F” (Anexo 2) com (n – 1) graus de liberdade. No caso, cinco vias equivalem a quatro graus de liberdade, logo Ftab = 6,388 com 95 % de confiança. Se Fcal < Ftab, a precisão das duas curvas, com diferentes substâncias/matrizes, não possui diferença significativa.
- Conclusão: Se as duas curvas analíticas forem paralelas e Fcal < Ftab, pode-se considerar que o método é seletivo e não há interferência da matriz na determinação da substância de interesse.

### 3.2 LINEARIDADE

A linearidade foi avaliada segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009) em água deionizada no intervalo de 1 a 100 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>. O ensaio foi conduzido para toda a faixa sendo analisadas 03 (três) alíquotas de 25, 50 ou 100 mL dos padrões preparados, para cada concentração da faixa a ser utilizada. O procedimento utilizado no estudo da linearidade foi realizado da seguinte forma:

- Preparar os pontos da curva analítica, conforme Tabela 4, considerando a água deionizada como solvente.

**Tabela 4:** Preparo dos pontos necessários para o estudo da linearidade

<b>Ponto (mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Balão Volumétrico (mL)</b>	<b>Aliquota do Padrão de 1000 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> (mL)</b>	<b>HNO<sub>3</sub> Concentrado (mL)</b>	<b>Volume de Solvente (mL)</b>	
<b>PaCa001AD</b>	<b>1</b>	1000	1,0	1,2	997,8
<b>PaCa005AD</b>	<b>5</b>	1000	5,0	1,2	993,8
<b>PaCa010AD</b>	<b>10</b>	500	5,0	0,6	494,4
<b>PaCa020AD</b>	<b>20</b>	500	10,0	0,6	489,4
<b>PaCa050AD</b>	<b>50</b>	500	25,0	-	475,0
<b>PaCa080AD</b>	<b>80</b>	250	20,0	-	230,0
<b>PaCa100AD</b>	<b>100</b>	200	20,0	-	180,0

- Analisar 03 (três) vias de cada ponto. Registrar os resultados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.
- A partir dos resultados, plotar a curva analítica no gráfico “Linearidade”, considerando a concentração do padrão analisado no eixo “x” e a resposta analítica [concentração calculada pela equação (1)] no eixo “y”.
- Calcular a regressão linear e o R<sup>2</sup> (coeficiente de determinação) para a curva. Considera-se o R<sup>2</sup> igual ao coeficiente de correlação (r), ao quadrado.
- Avaliar o R<sup>2</sup>, que deve ser maior do que 0,99 e o r, que também deverá ser maior que 0,9.
- Calcular os resíduos da regressão, que são obtidos através das diferenças entre os valores medidos e os valores esperados. Plotar estes valores no gráfico “Perfil dos Resíduos de Regressão”.
- Analisar o gráfico de “Perfil dos Resíduos de Regressão”, que deve possuir uma ordem aleatória na sua distribuição.
- Conclusão: Se o coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) for maior que 0,99 e o gráfico de “Perfil dos Resíduos de Regressão” possuir uma ordem aleatória na distribuição, pode-se considerar o método linear.

### 3.3 SENSIBILIDADE

Os cálculos do LDM e LQM foram realizados conforme metodologia interna do laboratório (PGQ 013 – Revisão 04) através do ensaio de uma solução padrão<sup>5</sup> de 0,10 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>. O procedimento utilizado no cálculo do LDM e LQM está descrito a seguir.

- Preparar 2000 mL de Solução Padrão de Cálcio 0,10 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.
- Analisar 07 (sete) alíquotas de 100 mL desta solução em período de, no mínimo, 03 (três) dias para garantir que a determinação do LDM seja mais representativa do que se fosse obtida através de medições realizadas sequencialmente.
- Calcular a média ( $\bar{x}$ ) dos resultados e o desvio padrão (s) amostral das concentrações obtidas.
- Calcular o LDM multiplicando o valor do desvio padrão calculado por 3,14 e somando ao valor da média, ou seja:

$$\text{LDM} = \bar{x} + (3,14 * s) \quad (3)$$

Onde o valor 3,14 foi obtido de uma tabela de distribuição “t” de student unilateral para 6 graus de liberdade a um nível de confiança de 99 %.

- Calcular o LQM multiplicando o valor do desvio padrão calculado por 10 e somando ao valor da média, ou seja:

$$\text{LQM} = \bar{x} + (10 * s) \quad (4)$$

### 3.4 PRECISÃO

A repetitividade e a reprodutibilidade foram avaliadas, segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009) (Repetitividade – Decisão 657; Reprodutibilidade Intralaboratorial – Diretiva 657) através de fortificações de 1,0; 2,0 e 3,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> nas três matrizes de trabalho do laboratório. As variações das características ocorridas no teste de

---

<sup>5</sup> A solução padrão de cálcio na concentração de 0,10 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> foi escolhida para o cálculo de LDM e LQM pois é menor concentração possível de ser preparada a fim de se conseguir respostas analíticas viáveis para o cálculo dos limites de detecção e quantificação tanto para o ensaio de cálcio, quanto para os ensaios dureza (titulométrica) e magnésio (calculado). O resultado para o ensaio de magnésio é obtido através de um cálculo onde é necessária a informação dos valores gastos nas titulações para os ensaios de cálcio e dureza, logo volumes muito baixos gastos para o ensaio de cálcio inviabilizariam o cálculo do LDM e LQM para o ensaio de magnésio.

reprodutibilidade foram: variação de analista e variação de equipamento (titulador automático).

### 3.4.1 Estudo da repetitividade

- Selecionar uma amostra (bruta, poço e tratada), previamente preservada, com volume, mínimo, de 3000 mL.
- Preparar os pontos para análise, conforme Tabela 5.

**Tabela 5:** Preparo dos pontos necessários para o estudo da repetitividade

Ponto (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Balão Volumétrico (mL)	Alíquota do Padrão de 1000 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> (mL)	Volume de Solvente (mL)
PaCa001AX	1	1000	999
PaCa002AX	2	1000	998
PaCa003AX	3	1000	997

- Analisar 06 (seis) alíquotas de 50 mL de cada ponto. Registrar os resultados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.
- Calcular a média ( $\bar{x}$ ) dos resultados, o desvio padrão (s) amostral e o coeficiente de variação (CV) das amostras fortificadas, através da equação (5):

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} * 100 \quad (5)$$

- Realizar todo o procedimento de ensaio 03 (três) vezes.
- Calcular o limite máximo de variação aceitável pelo Coeficiente de Horwitz (CV<sub>H</sub>), equação (6). Atenção: a concentração da amostra, na fórmula de Horwitz, deve ser em mg Ca<sup>2+</sup> mL<sup>-1</sup>, a conversão se dá através da divisão da concentração em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> por 1000.

$$CV_H = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (6)$$

Onde C = Concentração da amostra em mg Ca<sup>2+</sup> mL<sup>-1</sup>.

- Posteriormente deve-se calcular a concentração média global (considerar todas as dezoito vias de cada concentração) e o desvio das

médias (médias dos três testes). Além disso, calculam-se os CV para as amostras fortificadas.

- Comparar os CV obtidos no estudo com os  $CV_H$  calculados pela fórmula de Horwitz.
- Conclusão: se o  $CV < CV_H$  a repetitividade é satisfatória.

### 3.4.2 Estudo da reprodutibilidade

- Selecionar uma amostra (bruta, poço e tratada), previamente preservada, com volume, mínimo, de 6000 mL.
- Preparar os pontos para análise, conforme Tabela 6.

**Tabela 6:** Preparo dos pontos necessários para o estudo da reprodutibilidade

Ponto (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Balão Volumétrico (mL)	Alíquota do Padrão de 1000 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> (mL)	Volume de Solvente (mL)
PaCa001AX	1	2,0	1998
PaCa002AX	2	4,0	1996
PaCa003AX	3	6,0	1994

- Analisar 06 (seis) alíquotas de 50 mL de cada ponto. Registrar os resultados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> (Analista 1 no Equipamento A).
- Repetir o ensaio em outro equipamento (Analista 1 no Equipamento B).
- Outro analista deverá repetir o mesmo ensaio nos dois Equipamentos (Analista 2 no Equipamento A e Analista 2 no Equipamento B). Todas os resultados devem ser registrados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.
- Para cada conjunto “Analista + Equipamento” deve-se calcular a média, desvio padrão e coeficiente de variação das amostras fortificadas.
- Tabular todos os resultados das médias. Calcular a média das médias, o desvio padrão da reprodutibilidade e o CV da reprodutibilidade.
- Calcular a amplitude dos resultados de cada analista para cada via dos conjuntos: “Concentração / Equipamento”.
- Calcular a Amplitude Média e o Desvio da Medição ( $\sigma_m$ ) para cada conjunto: “Concentração / Equipamento”.

- Calcular a Média dos Desvios de Medição ( $\overline{\sigma_m}$ ). Isto dará o Desvio da Reprodutibilidade ( $\overline{\sigma_m}$ ), o qual será futuramente usado no cálculo da Robustez.
- Conclusão: Segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009), para a faixa de concentração trabalhada, considera-se que exista uma boa reprodutibilidade intralaboratorial quando todos os valores dos CVs são menores que 10%.

Conclusão da Precisão: Se a repetitividade e a reprodutibilidade forem satisfatórias, pode-se concluir que o ensaio é preciso.

### 3.5 EXATIDÃO

A exatidão foi avaliada nos estudos de percentual de recuperação (%R), com a utilização de material de referência (MR) com concentrações conhecidas; Z-score interlaboratorial, com a participação de programas de comparação interlaboratorial; Z-score intralaboratorial, também com a utilização de MR.

#### 3.5.1 Estudo do percentual de recuperação

O percentual de recuperação foi avaliado através do preparo de soluções padrão de cálcio, material de referência (MR), em um total de 03 (três) soluções, com concentrações crescentes do MR, no intervalo de 1 a 100 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>. Foi analisado um total de 03 (três) alíquotas do padrão, para cada concentração. O procedimento utilizado no estudo do %R consiste em:

- Preparar os pontos para o estudo, conforme Tabela 7, considerando a água deionizada como solvente.

**Tabela 7:** Preparo dos pontos necessários para o estudo do percentual de recuperação

Ponto (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Balão Volumétrico (mL)	Alíquota do Padrão de 1000 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> (mL)	HNO <sub>3</sub> Concentrado (mL)	Volume de Solvente (mL)
<b>PaCa001AD</b>	<b>1</b>	1000	1,2	997,8
<b>PaCa010AD</b>	<b>10</b>	500	0,6	494,4
<b>PaCa100AD</b>	<b>100</b>	200	-	180,0

- Analisar 03 (três) alíquotas de 25, 50 ou 100 mL de cada ponto. Registrar os resultados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.
- Calcular o percentual de recuperação (%R) do analito pela equação (7).

$$\%R = \frac{\text{Concentração Obtida}}{\text{Concentração Teórica}} * 100 \quad (7)$$

- Comparar o resultado da recuperação com o critério de aceitação previsto pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2002), que é apresentado na Tabela 8.

**Tabela 8:** Critérios de aceitação para percentual de recuperação segundo a AOAC

Concentração (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Recuperação Média (%)	Limites (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )
1,0	80 – 110	0,8 – 1,1
10,0	80 – 110	8,0 – 11,0
100,0	90 – 107	90,0 – 107,0

- Conclusão: caso todas as recuperações atendam aos limites estabelecidos na Tabela 8 o método cumpre uma etapa do critério de exatidão.

### 3.5.2 Estudo do Z-score interlaboratorial

Avaliar as participações em programas de proficiência de ensaio, onde será comparado o resultado do DEAL frente a média e o desvio padrão robustos obtidos no programa.

Conclusão: caso o desempenho para Z-score tenha sido menor ou igual ao limite estabelecido pelo provedor do programa de proficiência a participação é considerada satisfatória para o analito, cumprindo uma etapa do critério de exatidão.

### 3.5.3 Estudo do Z-score intralaboratorial

A avaliação do Z-score intralaboratorial foi realizada segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009), considerando que não existe valor de referência conhecido. Três analistas analisaram 06 (seis) alíquotas de 50 mL de uma solução padrão com aproximadamente 10 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> e seus resultados foram confrontados frente aos resultados



de um analista de referência, através da comparação com a média e desvio padrão do analista de referência. Eis o procedimento utilizado no estudo do Z-score intralaboratorial:

- Preparar o ponto para o estudo, conforme Tabela 9, considerando a água deionizada como solvente.

**Tabela 9:** Preparo do ponto necessário para o estudo do Z-score intralaboratorial

Ponto (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Balão Volumétrico (mL)	Alíquota do Padrão de 1000 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> (mL)	HNO <sub>3</sub> Concentrado (mL)	Volume de Solvente (mL)	
<b>PaCa010AD</b>	<b>10</b>	2000	20,0	2,4	1977,6

- Escolher um analista (analista de referência) para designar o valor de referência, através da análise de 07 (sete) alíquotas de 50 mL deste ponto. Registrar os resultados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.
- Calcular a média dos valores obtidos e o desvio padrão dos dados (excluir os valores dispersos, quando houver).
- A média dos valores (VR) e o desvio padrão (DR) desde analista serão considerados como “Valores de Referência” e que serão utilizados na comparação dos ensaios realizados por outros três analistas.
- Outros três analistas deverão realizar o ensaio de 06 (seis) alíquotas de 50 mL deste mesmo ponto. Registrar os resultados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> para os analistas 1, 2 e 3.
- Aplicar a equação (8) para os diferentes analistas verificando o seu desempenho.

$$Z - score \text{ Intralaboratorial} = \frac{VA - VR}{DR} \quad (8)$$

Onde: VA = Valor obtido pelo analista (1, 2 ou 3).  
 VR = Valor de referência, obtido pelo analista de referência.  
 DR = Desvio padrão, obtido pelo analista de referência.

- Avaliar criticamente o desempenho encontrado pelos diferentes técnicos através do seguinte critério do Z-score:
  - Z-score ≤ | 2,00 | – Resultado Satisfatório
  - | 2,00 | < Z-score ≤ | 3,00 | – Resultado Questionável
  - | 3,00 | < Z-score – Resultado Insatisfatório

- Plotar os resultados do Z-score no “Gráfico Z-score Intralaboratorial”, considerando as alíquotas do ensaio no eixo “x” e o valor do Z-score no eixo “y”.
- Conclusão: caso o desempenho para Z-score intralaboratorial tenha sido menor ou igual a  $|2,00|$  a participação é considerada satisfatória para o analito, cumprindo uma etapa do critério de exatidão.

Conclusão do estudo de exatidão: Para que um método seja considerado exato as condições abaixo deverão ser atendidas:

- Percentual de recuperação, dentro da faixa estabelecida na Tabela 8;
- Z-score interlaboratorial satisfatório;
- Z-score intralaboratorial satisfatório.

### 3.6 ESTABILIDADE

A estabilidade pode ser avaliada através de cartas de controle. A carta de controle serve para acompanhar o processo de análise do laboratório ao longo do tempo, verificando sua estabilidade. Ela sinaliza as causas especiais de variação do processo (pontos fora dos limites de controle, sete pontos ascendentes, sete pontos descendentes, sete pontos acima ou abaixo da linha central). Sempre que forem identificadas causas especiais, os laboratórios devem fazer uma análise crítica e verificar o que ocasionou a variação e sanar o problema, buscando a melhoria contínua dos seus processos (ALBANO e RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

Os quatro modelos de carta de controle (Carta de Controle para Valores Individuais, Carta de Controle para Amplitude Móvel, Carta Controle para Médias, Carta de Controle para Desvio Padrão) foram construídas segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009) para soluções padrão de cálcio com concentrações de 5,0 e 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.

#### 3.6.1 Estudo da carta de controle para valores individuais

Este tipo de carta é indicada para os ensaios que são realizados sem repetições.

- Preparar, a partir de um MR, os padrões de cálcio na concentração 5,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> e 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.

- Analisar uma via de cada padrão ao dia, até completar 20 pontos, ou seja, 20 dias diferentes. Registrar os resultados em  $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ .
- Calcular a média ( $\bar{x}$ ) destes 20 valores, que nos dará a linha central da carta de controle.
- Calcular a amplitude móvel de cada ponto. Dado através da diferença entre o valor da leitura realizada no momento e o valor obtido no ensaio realizado anteriormente. Exemplo: Valor 5 – Valor 4 = Amplitude 5.
- Calcular a amplitude móvel média ( $\bar{R}$ ).
- Calcular a variabilidade da carta controle (calculada com base na amplitude móvel média), definindo os pontos de limite de controle superior (LCS) e limite de controle inferior (LCI), através das equações (9) e (10):

$$LCS = \bar{x} + (E_2 * \bar{R}) \quad (9)$$

$$LCI = \bar{x} - (E_2 * \bar{R}) \quad (10)$$

Onde:  $E_2$  é uma constante tabelada, que pode variar em função do número de dados que foram considerados no cálculo da amplitude. Na carta dos valores individuais, este valor vai ser, normalmente, igual a 2 ( $n = 2$  para se estipular a constante  $E_2$ ), pois a amplitude é calculada a cada dois pontos plotados na carta. Neste caso,  $E_2 = 2,66$  (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

- Plotar a carta de controle e verificar a existência de pontos com grandes variações, que serão excluídos e os limites recalculados.

### 3.6.2 Estudo da carta de controle para amplitude móvel

A carta de amplitude móvel é complementar à carta de valores individuais dos ensaios, sendo utilizada para calcular a variabilidade do processo de maneira indireta, pois trabalha com a amplitude entre as análises realizadas (ALBANO e RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

- Preparar, a partir de um MR, os padrões de cálcio na concentração  $5,0 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$  e  $50,0 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ .

- Analisar uma via de cada padrão ao dia, até completar 20 pontos, ou seja, 20 dias diferentes. Registrar os resultados em  $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ .
- Calcular a média ( $\bar{x}$ ) destes 20 valores.
- Calcular a amplitude móvel de cada ponto. Dado através da diferença entre o valor da leitura realizada no momento e o valor obtido no ensaio realizado anteriormente. Exemplo: Valor 5 – Valor 4 = Amplitude 5.
- Calcular a amplitude móvel média ( $\bar{R}$ ), que nos dará a linha central da carta de controle.
- Calcular a variabilidade da carta controle (calculada com base na amplitude móvel média), definindo os pontos de limite de controle superior (LCS) e limite de controle inferior (LCI), através das equações (11) e (12):

$$LCS = (D_4 * \bar{R}) \quad (11)$$

$$LCI = (D_3 * \bar{R}) \quad (12)$$

Onde:  $D_4$  e  $D_3$  são constantes tabeladas, que podem variar em função do número de dados que foram considerados no cálculo da amplitude. Na carta dos valores individuais, este valor vai ser, normalmente, igual a 2 ( $n = 2$  para se estipular a constante  $D_4$  e  $D_3$ ), pois a amplitude é calculada a cada dois pontos plotados na carta. Neste caso,  $D_4 = 3,27$  e  $D_3 = 0,00$  (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

- Plotar a carta de controle e verificar a existência de pontos com grandes variações, que serão excluídos e os limites recalculados.

### 3.6.3 Estudo da carta de controle para média

A carta controle para média verifica a variabilidade entre os diferentes dias de realização do ensaio.

- Preparar, a partir de um MR, os padrões de cálcio na concentração  $5,0 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$  e  $50,0 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ .
- Analisar três alíquotas de 50 mL de cada padrão ao dia, até completar 20 pontos, ou seja, 20 dias diferentes. Registrar os resultados em  $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ .

- Calcular a média de cada ponto de triplicata.
- Calcular a média das médias (média global) das triplicatas ( $\bar{x}$ ), que nos dará a linha central da carta de controle.
- Calcular o desvio padrão (s) da média global.
- Calcular o limite de controle superior (LCS) e limite de controle inferior (LCI), através das equações (13) e (14):

$$LCS = \bar{x} + (3 * s) \quad (13)$$

$$LCI = \bar{x} - (3 * s) \quad (14)$$

- Plotar a carta de controle e verificar a existência de pontos com grandes variações, que serão excluídos e os limites recalculados.

### 3.6.4 Estudo da carta de controle para desvio padrão

A carta de controle para desvio padrão deve ser utilizada em conjunto com a carta de controle para média. O objetivo desta carta é avaliar a variação dos ensaios dentro da data de análise (no dia ou momento que foi efetuado o ensaio).

- Preparar, a partir de um MR, os padrões de cálcio na concentração 5,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> e 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.
- Analisar três alíquotas de 50 mL de cada padrão ao dia, até completar 20 pontos, ou seja, 20 dias diferentes. Registrar os resultados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.
- Calcular a média de cada ponto de triplicata.
- Calcular o desvio padrão das triplicatas (s).
- Calcular a média dos desvios [Desvio Global ( $\bar{D}$ )], que nos dará a linha central da carta de controle.
- Calcular o limite de controle superior (LCS) e limite de controle inferior (LCI), através das equações (15) e (16):

$$LCS = (B_4 * \bar{D}) \quad (15)$$

$$LCI = (B_3 * \bar{D}) \quad (16)$$

Onde: B<sub>4</sub> e B<sub>3</sub> são constantes tabeladas, que podem variar em função do número de replicatas que foram considerados no cálculo do desvio padrão. Na carta de controle para

desvio padrão, este valor vai ser, normalmente, igual a 3 ( $n = 3$  para se estipular a constante  $B_4$  e  $B_3$ ), pois o desvio padrão é calculado a cada triplicata. Neste caso,  $B_4 = 2,57$  e  $B_3 = 0,00$  (ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ, 2009).

- Plotar a carta de controle e verificar a existência de pontos com grandes variações, que serão excluídos e os limites recalculados.

Conclusão: Para que um método seja considerado estável nenhuma característica abaixo citada pode ocorrer em nenhuma das quatro cartas de controle construídas:

- Pontos fora dos limites de controle;
- Sete pontos ascendentes consecutivos;
- Sete pontos descendentes consecutivos;
- Sete pontos consecutivos acima ou abaixo da linha central.

Quaisquer destas características indicam causas especiais de variação do processo, logo devem ser avaliadas e sanadas.

### 3.7 ROBUSTEZ

A robustez será avaliada segundo ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009) que sugere duas alterações em dois níveis. Neste caso, ocorreu a variação do lote do padrão e a variação do instrumento para a medida da amostra (pipeta volumétrica e proveta, ambas calibradas e de 50 mL). Eis o procedimento utilizado no estudo da robustez:

- Preparar, a partir de um MR, o padrão de cálcio na concentração  $5,0 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$  com dois lotes diferentes do MR.
- Medir 06 (seis) alíquotas de 50 mL do padrão lote A utilizando uma proveta de 50 mL calibrada. Registrar os resultados em  $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$  (Lote A + Instrumento A).
- Repetir o ensaio usando uma pipeta volumétrica de 50 mL calibrada (Lote A + Instrumento B).
- Repetir todo o procedimento para o padrão lote B (Lote B + Instrumento A e Lote B + Instrumento B).
- Para cada conjunto “Lote + Instrumento de Medida” deve-se calcular a média.
- Calcular efeito dos fatores Lote e Instrumento, pela equação (17):

$$Fator = \left( \frac{AA + AB}{2} \right) - \left( \frac{BA + BB}{2} \right) \quad (17)$$

- Elevar os fatores ao quadrado.
- Somar os fatores elevados ao quadrado e fazer a média (M).
- Calcular o Desvio da Robustez (Sr), pela equação (18):

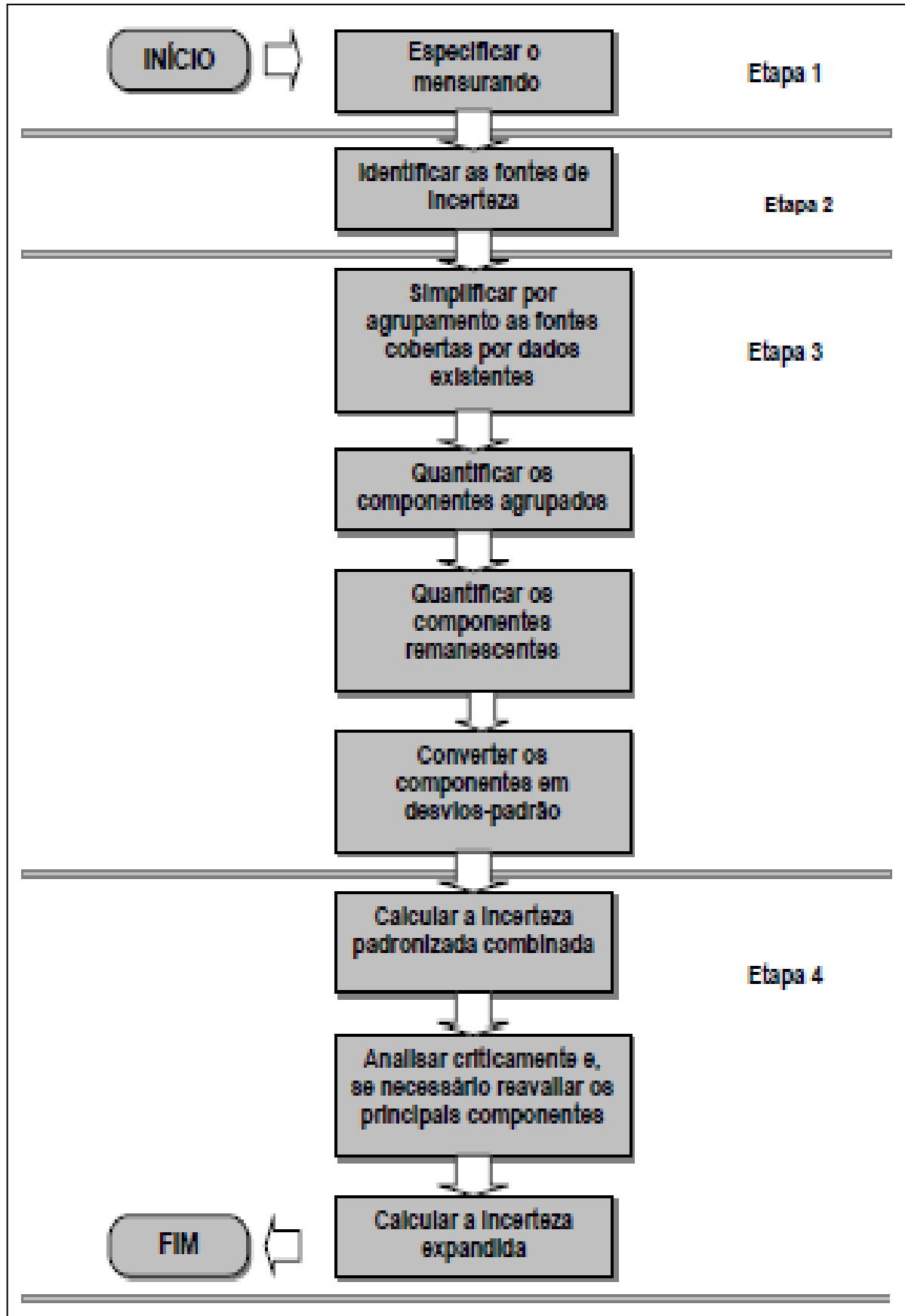
$$Sr = \sqrt{2 \times M} \quad (18)$$

- Comparar o valor do desvio da robustez (Sr) com o desvio da reprodutibilidade ( $\overline{\sigma}_m$ ), o qual foi obtido no item 3.4.2.
- Conclusão: se o desvio da robustez (Sr) for menor do que o maior desvio da reprodutibilidade ( $\overline{\sigma}_m$ ) (matriz água bruta, tratada ou poço) o método pode ser considerado robusto.

### 3.8 INCERTEZA DE MEDIÇÃO

O cálculo para estimativa da incerteza de medição foi realizado segundo procedimento interno do laboratório seguindo critérios dispostos no *Standard Methods* (APHA, 2005), INMETRO (2003) e no guia EURACHEM (2002).

A Figura 2 pode resumir as etapas a serem seguidas no cálculo da estimativa da incerteza de medição.



**Figura 2:** Fluxograma com as etapas do processo de estimativa da incerteza de medição (EURACHEM, 2002).



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 SELETIVIDADE

Na seletividade deve-se avaliar se as curvas analíticas são paralelas entre e si, se possuem  $R^2$  (coeficiente de determinação) maior que 0,99 e se o  $F_{cal} < F_{tab}$ .

Para a construção das curvas analíticas, nas quatro matrizes de trabalho (água deionizada, bruta, poço e tratada) ensaiou-se 05 (cinco) alíquotas de 25, 50 ou 100 mL dos padrões preparados conforme Tabela 3. Os resultados expressos em  $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$  são apresentados na Tabela 10.

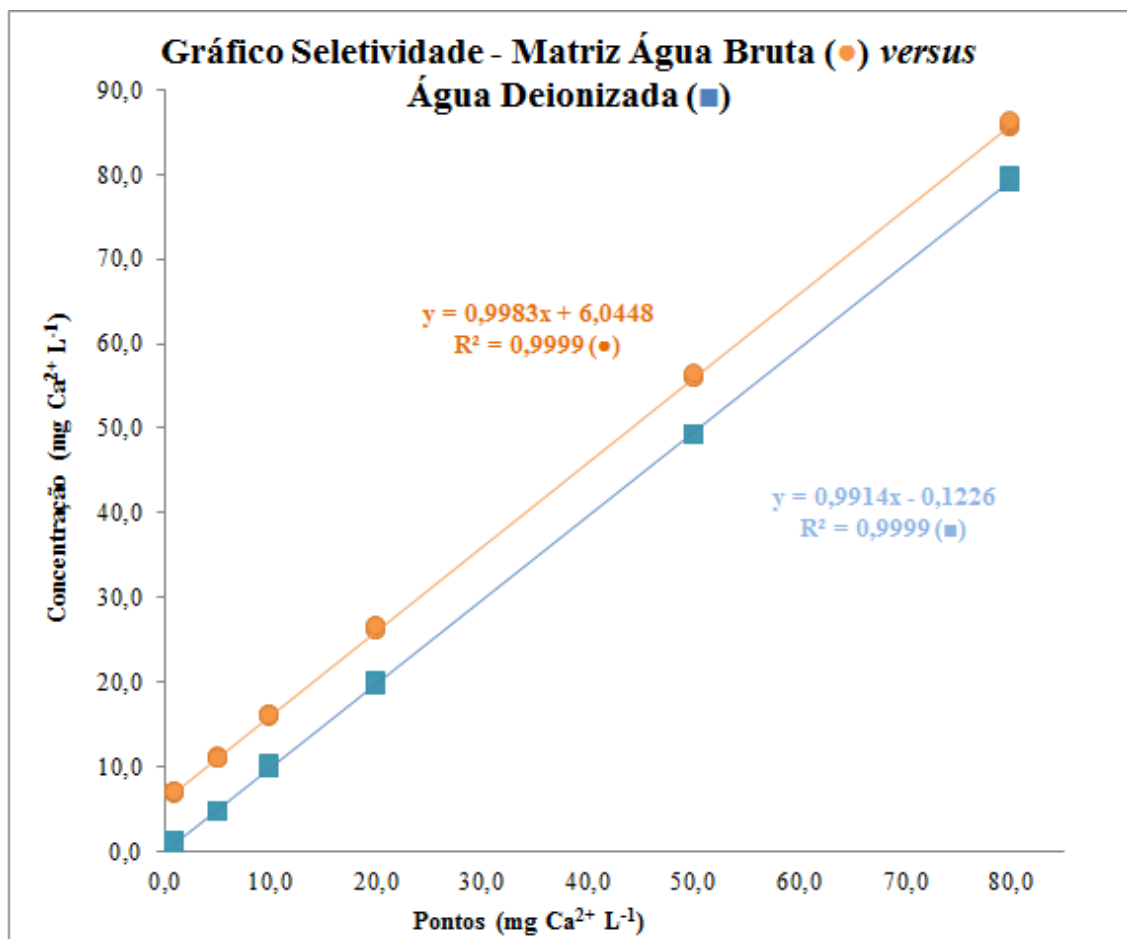
**Tabela 10:** Resultados obtidos no estudo da seletividade nas quatro matrizes de trabalho

Ponto ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )	Água Deionizada ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )	Água Bruta ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )	Água de Poço ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )	Água Tratada ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )
1,0	0,98	6,88	26,12	23,24
1,0	1,02	6,80	26,04	23,16
1,0	1,04	6,92	26,20	23,52
1,0	1,00	6,92	26,04	23,12
1,0	1,00	7,00	26,08	23,28
5,0	4,66	11,00	30,56	27,08
5,0	4,68	11,00	30,20	27,00
5,0	4,58	11,08	30,48	26,96
5,0	4,58	10,88	30,40	27,12
5,0	4,60	10,96	30,12	26,92
10,0	9,68	16,04	35,28	31,80
10,0	9,92	15,96	35,36	32,00
10,0	10,12	16,08	35,16	32,08
10,0	9,92	15,92	35,32	31,96
10,0	10,04	15,96	35,16	31,80
20,0	19,92	26,08	45,48	41,32
20,0	19,80	26,28	45,76	41,36
20,0	19,72	26,48	45,44	41,16
20,0	19,56	25,96	45,76	41,04
20,0	19,80	26,52	45,84	41,20
50,0	49,12	56,12	75,36	72,44
50,0	49,28	55,88	75,32	73,00
50,0	49,24	55,96	75,20	73,04
50,0	49,08	55,88	75,56	72,92
50,0	49,16	56,32	75,28	73,20

**Tabela 10:** Resultados obtidos no estudo da seletividade nas quatro matrizes de trabalho. (Cont.)

Ponto (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Água Deionizada (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Água Bruta (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Água de Poço (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Água Tratada (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )
80,0	79,84	85,52	105,36	98,16
80,0	79,12	85,60	105,12	97,52
80,0	79,04	85,76	104,96	97,84
80,0	79,44	86,00	105,60	97,44
80,0	79,28	86,16	104,88	97,76

A partir dos resultados obtidos na Tabela 10 foi possível construir as curvas analíticas considerando o efeito da matriz (água bruta, poço e tratada) *versus* curva sem o efeito da matriz (água deionizada). Cada tipo de matriz deve ser avaliado separadamente, sempre sendo comparada com a curva em água deionizada. As Figuras 3, 4 e 5 apresentam as curvas analíticas plotadas no gráfico “Seletividade”.

**Figura 3:** Gráfico seletividade comparando o efeito da matriz água bruta frente à água deionizada.

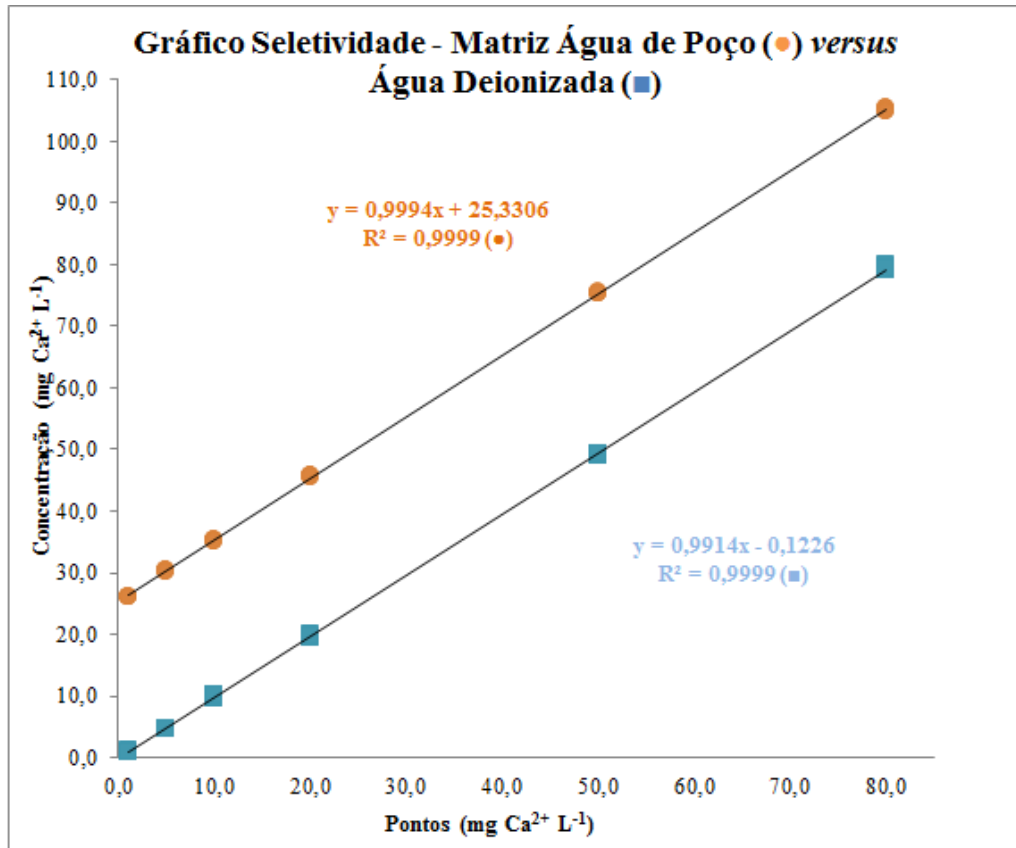


Figura 4: Gráfico seletividade comparando o efeito da matriz água de poço frente à água deionizada.

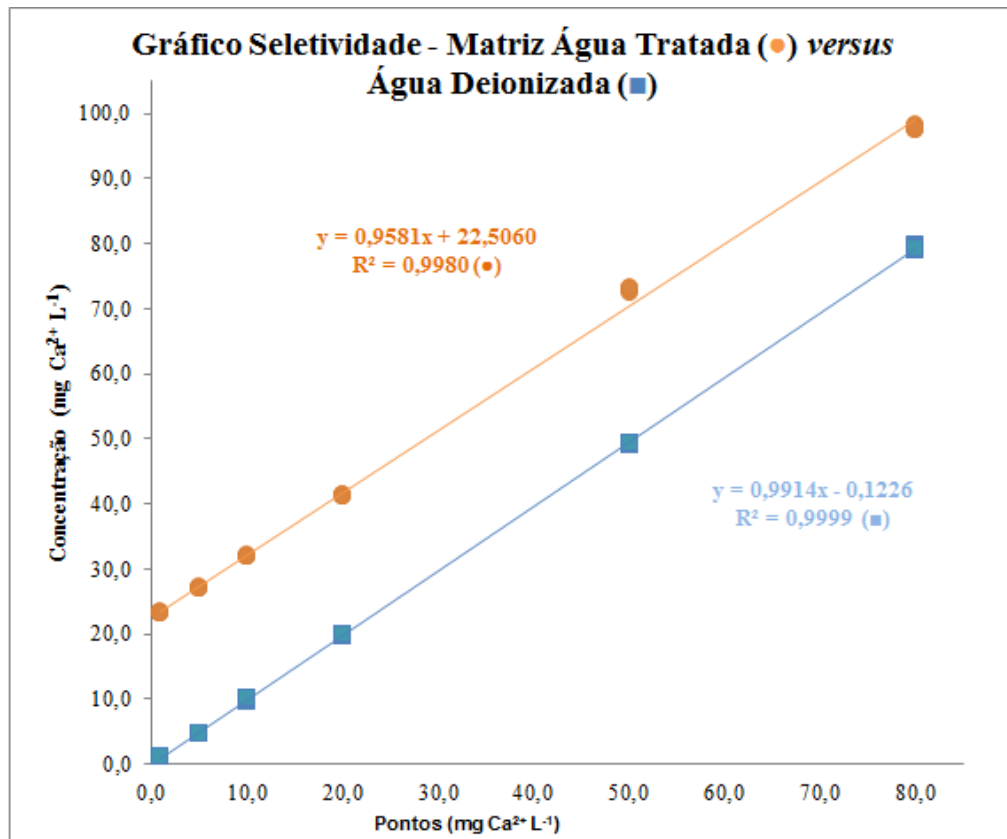


Figura 5: Gráfico seletividade comparando o efeito da matriz água tratada frente à água deionizada.

A partir dos gráficos de seletividade podemos verificar que as curvas analíticas nas três matrizes são paralelas quando comparadas com a curva analítica da água deionizada.

Também a partir dos resultados obtidos na Tabela 10, podem ser calculados os valores para  $F_{cal}$  das matrizes de trabalho do laboratório. O  $F_{cal}$  é obtido pela equação (19).

$$F_{cal} = \frac{\text{Média do } s^2_{maior}}{\text{Média do } s^2_{menor}} \quad (19)$$

A média das variâncias ( $s^2$ ) maior e menor é obtida através do cálculo da média, desvio padrão e variância de cada ponto da curva analítica com e sem o efeito da matriz. A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos para  $F_{cal}$ .

**Tabela 11:** Resultados obtidos para o  $F_{cal}$  nas diferentes matrizes de trabalho

<b>Matriz</b>	<b>F calculado</b>
<b>Água Bruta</b>	1,1740
<b>Água Subterrânea – Poço</b>	1,2019
<b>Água Tratada</b>	1,4614

Sabendo que o  $F_{tab}$  para 05 (cinco) vias (quatro graus de liberdade) na construção da curva analítica é igual a 6,388, conforme coluna 06 (seis) linha 06 (seis) do Anexo 2 [Tabela de Distribuição F – Alfa de 0,050 (95 % de Confiança)], pode-se afirmar que para as três matrizes de trabalho do DEAL, o  $F$  calculado é menor que o  $F$  tabelado para o estudo da seletividade realizado.

Assim, avaliando que as três curvas analíticas com a presença do efeito da matriz quando comparadas com a curva analítica sem o efeito da matriz são paralelas e que o  $F_{cal} < F_{tab}$  para as três matrizes, demonstra que o método é seletivo.

## 4.2 LINEARIDADE

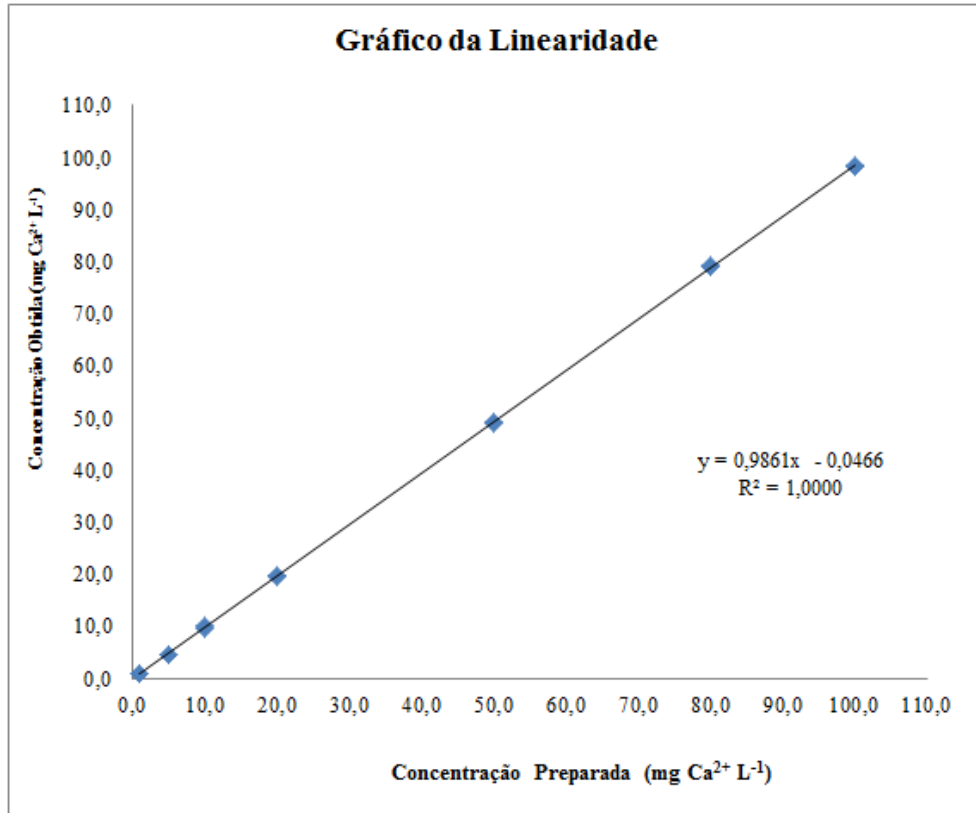
Na linearidade deve-se avaliar se o  $R^2$  (coeficiente de determinação) é maior que 0,99 e se gráfico de “Perfil dos Resíduos” possui uma ordem aleatória na distribuição dos resíduos de regressão.

Para a construção da curva analítica, ensaiou-se 03 (três) alíquotas de 25, 50 ou 100 mL dos padrões preparados conforme Tabela 4. Os resultados expressos em  $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$  são apresentados na Tabela 11.

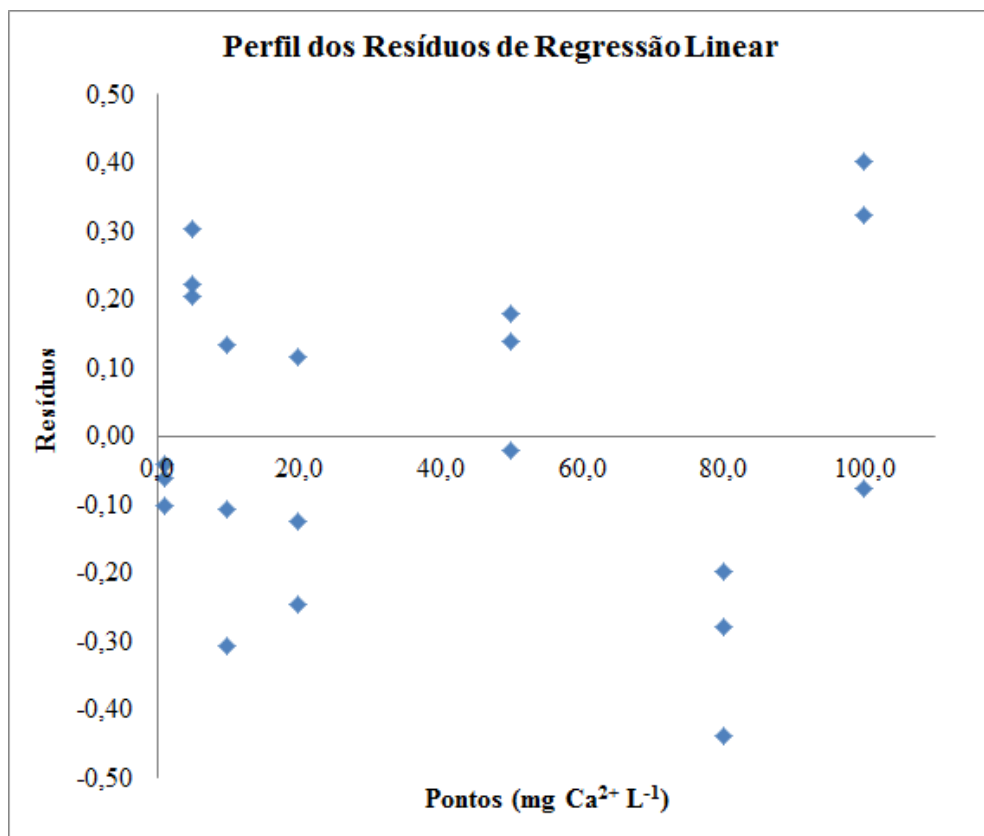
**Tabela 11:** Resultados obtidos no estudo da linearidade

<b>Ponto</b> <b>(mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Resultado Obtido</b> <b>(mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Resultado Esperado</b> <b>(mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Resíduo (Res. Esp. – Res. Obtido)</b>
1,0	0,98	0,94	- 0,04
1,0	1,00	0,94	- 0,06
1,0	1,04	0,94	- 0,10
5,0	4,68	4,88	0,20
5,0	4,58	4,88	0,30
5,0	4,66	4,88	0,22
10,0	9,92	9,81	- 0,11
10,0	10,12	9,81	- 0,31
10,0	9,68	9,81	0,13
20,0	19,80	19,68	- 0,12
20,0	19,56	19,68	0,12
20,0	19,92	19,68	- 0,24
50,0	49,12	49,26	0,14
50,0	49,28	49,26	- 0,02
50,0	49,08	49,26	0,18
80,0	79,28	78,84	- 0,44
80,0	79,04	78,84	- 0,20
80,0	79,12	78,84	- 0,28
100,0	98,64	98,56	- 0,08
100,0	98,16	98,56	0,40
100,0	98,24	98,56	0,32

A partir dos resultados obtidos na Tabela 11, pode-se construir a curva analítica e obter a regressão linear da curva analítica. Pela equação da reta, se obtêm os valores esperados para os referidos pontos de ensaio. E a subtração do valor esperado pelo valor obtido nos apresenta o resíduo de regressão linear. A Figura 6 apresenta a curva analítica no gráfico “Linearidade” e a Figura 7 apresenta o perfil dos resíduos de regressão linear.



**Figura 6:** Curva analítica obtida no estudo da linearidade.



**Figura 7:** Perfil dos resíduos de regressão linear.

Como demonstrado nas Figuras 6 e 7, a metodologia se mostrou linear em toda a faixa estudada, com um  $R^2$  igual a 1,0000 e os resíduos de regressão foram aleatórios, com variações inferiores a  $|0,50| \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ .

#### 4.3 SENSIBILIDADE

Na sensibilidade devem ser avaliados os valores obtidos para os limites de detecção e de quantificação do método (LDM e LQM).

Para a obtenção destes limites, ensaiou-se 07 (sete) alíquotas de 100 mL de uma solução padrão de cálcio com concentração de  $0,10 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$  preparada com material de referência (MR). Para que os valores registrados possam ser utilizados no cálculo devem satisfazer os seguintes critérios:

- Cada valor individual deve se situar dentro do intervalo compreendido por 80 e 120 % de recuperação do valor verdadeiro convencional do padrão preparado, ou seja, entre  $0,08$  e  $0,12 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ ;
- Pela equação (5) se obtêm o coeficiente de variação (CV) das determinações, o qual deve ser menor ou igual a 15%.

**Tabela 12:** Resultados obtidos no estudo da sensibilidade

Via	Data do Ensaio	Resultado ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )
1	Dia 1	0,12
2	Dia 1	0,12
3	Dia 1	0,12
4	Dia 2	0,12
5	Dia 2	0,10
6	Dia 3	0,10
7	Dia 3	0,12

A partir dos valores obtidos na Tabela 12 é possível verificar que as sete vias do ensaio apresentam percentuais de recuperação dentro do critério previsto, logo é possível calcular a média e o desvio padrão dos resultados. A média e o desvio padrão são utilizados nas equações (3), (4) e (5) a fim de se obter os seguintes valores para LDM, LQM e CV:

- $\text{LDM} = 0,14 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ ;
- $\text{LQM} = 0,21 \text{ mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ ;
- $\text{CV} = 8,54 \%$ .

## 4.4 PRECISÃO

### 4.4.1 Estudo da repetitividade

O critério de aceitação para a repetitividade é  $CV < CV_H$ , onde  $CV$  é o coeficiente de variação e  $CV_H$  é o coeficiente de variação de Horwitz, ambos expressos em valores percentuais.

Para obtermos o coeficiente de variação e o coeficiente de variação de Horwitz, ensaiou-se 06 (seis) alíquotas de 50 mL das matrizes de trabalho do laboratório fortificadas preparadas conforme Tabela 5 em três repetições (1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> vez). Os resultados expressos em  $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$  para as três matrizes de trabalho são apresentados na Tabelas 13, 14 e 15.

**Tabela 13:** Resultados obtidos no estudo da repetitividade para a matriz água bruta

Vias	1 <sup>a</sup> Vez – Fort. ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )			2 <sup>a</sup> Vez – Fort. ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )			3 <sup>a</sup> Vez – Fort. ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )		
	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0
1	6,76	7,96	9,00	6,92	7,88	8,68	6,76	8,08	8,76
2	6,92	7,92	8,88	7,00	7,84	8,64	6,88	7,96	8,84
3	6,84	7,80	9,08	7,04	8,00	8,68	6,88	8,12	8,68
4	6,76	8,12	8,84	6,76	8,04	8,88	6,84	8,28	8,64
5	6,84	7,88	8,76	7,00	8,12	9,08	6,76	8,00	8,68
6	7,00	8,12	8,60	6,76	7,92	8,92	6,80	7,84	8,88
$\bar{x}$	6,853	7,967	8,860	6,913	7,967	8,813	6,820	8,047	8,747
s	0,094	0,130	0,171	0,125	0,106	0,175	0,055	0,151	0,097
CV	1,36	1,63	1,93	1,81	1,33	1,98	0,81	1,87	1,11

**Tabela 14:** Resultados obtidos no estudo da repetitividade para a matriz água de poço

Vias	1 <sup>a</sup> Vez – Fort. ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )			2 <sup>a</sup> Vez – Fort. ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )			3 <sup>a</sup> Vez – Fort. ( $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ )		
	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0
1	26,00	26,72	28,28	26,04	26,76	27,88	25,96	26,88	28,04
2	26,04	26,88	28,08	26,12	26,60	28,04	26,16	26,92	27,88
3	26,00	26,88	28,04	26,04	26,76	27,84	26,00	26,80	27,92
4	25,96	27,00	28,16	26,00	26,80	27,88	25,92	26,68	27,92
5	25,92	26,80	28,04	25,92	26,88	28,12	26,08	26,92	28,00
6	26,08	26,72	27,96	25,88	26,88	28,00	26,04	26,60	28,00
$\bar{x}$	26,000	26,833	28,093	26,000	26,780	27,960	26,027	26,800	27,960
s	0,057	0,109	0,112	0,088	0,104	0,110	0,086	0,134	0,062
CV	0,22	0,40	0,40	0,34	0,39	0,39	0,33	0,50	0,22



**Tabela 15:** Resultados obtidos no estudo da repetitividade para a matriz água tratada

Vias	1ª Vez – Fort. (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )			2ª Vez – Fort. (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )			3ª Vez – Fort. (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )		
	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0
1	23,28	23,88	24,72	23,40	24,00	24,68	23,36	23,80	24,84
2	23,36	24,00	24,60	23,16	23,88	24,64	23,40	24,04	24,80
3	22,96	23,96	24,68	23,36	23,84	24,48	23,16	24,28	24,56
4	23,20	24,08	24,96	22,96	24,00	24,80	23,08	24,24	24,68
5	23,12	23,84	24,68	22,92	23,76	24,84	23,20	23,96	24,76
6	23,12	23,80	24,76	23,20	24,12	24,60	23,08	24,24	24,68
$\bar{x}$	23,173	23,927	24,733	23,167	23,933	24,673	23,213	24,093	24,720
s	0,140	0,106	0,123	0,198	0,131	0,132	0,138	0,192	0,101
CV	0,60	0,44	0,50	0,86	0,55	0,54	0,59	0,80	0,41

A partir dos dados obtidos nas Tabelas 13, 14 e 15 é possível calcular o coeficiente de variação para cada matriz, faixa de concentração e seus respectivos limites aceitáveis, ou seja, o coeficiente de variação de Horwitz. A Tabela 16 apresenta os resultados obtidos para o CV e CV<sub>H</sub> para as três matrizes de trabalho nas diferentes faixas de concentração.

**Tabela 16:** Resultados obtidos para CV e CV<sub>H</sub> no estudo da repetitividade

Tipo de Matriz	Faixa de Concentração		CV (%)	CV <sub>H</sub> (%)
	(mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )			
Água Bruta	6,862		0,69	4,23
	7,993		0,58	4,14
	8,807		0,65	4,08
Água Subterrânea – Poço	26,009		0,06	3,46
	26,804		0,10	3,45
	28,004		0,27	3,43
	23,184		0,11	3,52
Água Tratada	23,984		0,39	3,51
	24,709		0,13	3,49

Assim, como em todas as faixas de concentração e nas três matrizes de trabalho o CV é menor que o CV<sub>H</sub>, evidenciando que a repetitividade do método é satisfatória.

#### 4.4.2 Estudo da reprodutibilidade

No estudo da reprodutibilidade é necessário fazer alguma alteração nas condições do ensaio, como: mudança do analista, equipamento, local e data do ensaio.

Como variações, consideramos a realização do ensaio por dois analistas diferentes e em dois tituladores automáticos (equipamentos) diferentes. Dessa forma, no estudo da reprodutibilidade foram avaliados os conjuntos “Analista + Equipamento”.

Como critério de aceitação todos os conjuntos “Analista + Equipamento” devem possuir um coeficiente de variação (CV) menor que 10%. Para a obtenção do CV, cada analista ensaiou 06 (seis) alíquotas de 50 mL das matrizes de trabalho fortificadas conforme Tabela 6 em cada um dos dois equipamentos. As Tabelas 17, 18 e 19 apresentam os resultados obtidos pelos dois analistas nos diferentes tituladores automáticos para as três fortificações realizadas nas três matrizes de trabalho do laboratório.

**Tabela 17:** Resultados obtidos para estudo da reprodutibilidade na matriz água bruta

Vias	“Analista 1 + Equipamento A”			“Analista 1 + Equipamento B”		
	Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )			Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )		
	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0
1	7,56	8,96	9,64	7,84	8,88	9,96
2	7,76	8,60	9,76	7,80	9,04	9,64
3	7,92	9,12	9,80	7,76	8,76	9,68
4	7,88	8,84	9,92	7,72	8,72	9,64
5	7,84	8,68	10,00	7,72	8,76	9,76
6	7,92	8,64	9,96	7,92	8,88	9,88
$\bar{x}$	7,81	8,81	9,85	7,79	8,84	9,76
s	0,1378	0,2046	0,1372	0,0776	0,1187	0,1339
CV (%)	1,76	2,32	1,39	1,00	1,34	1,37
Vias	“Analista 2 + Equipamento A”			“Analista 2 + Equipamento B”		
	Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )			Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )		
	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0
1	7,80	8,96	9,88	7,76	8,92	9,76
2	7,72	9,08	9,84	7,60	8,96	9,68
3	7,76	8,72	9,72	7,56	8,80	9,68
4	7,84	8,80	9,80	7,72	8,88	9,60
5	7,60	8,84	9,92	7,76	8,72	9,64
6	7,64	8,76	9,84	7,68	8,68	9,72
$\bar{x}$	7,73	8,86	9,83	7,68	8,83	9,68
s	0,0927	0,1356	0,0689	0,0839	0,1122	0,0566
CV (%)	1,20	1,53	0,70	1,09	1,27	0,58

**Tabela 18:** Resultados obtidos para estudo da reprodutibilidade na matriz água de poço

Vias	“Analista 1 + Equipamento A”			“Analista 1 + Equipamento B”		
	Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )			Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )		
	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0
1	26,12	27,08	28,12	26,00	27,00	28,08
2	26,12	27,04	28,12	25,92	27,04	28,00
3	26,12	27,12	28,16	26,04	27,00	28,04
4	26,16	27,04	28,20	26,04	27,04	27,96
5	26,20	27,04	28,16	26,00	27,00	28,08
6	26,20	27,04	28,12	26,04	27,00	28,04
$\bar{x}$	26,15	27,06	28,15	26,01	27,01	28,03
s	0,0393	0,0335	0,0327	0,0468	0,0207	0,0468
CV (%)	0,15	0,12	0,12	0,18	0,08	0,17
Vias	“Analista 2 + Equipamento A”			“Analista 2 + Equipamento B”		
	Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )			Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )		
	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0
1	25,84	26,60	28,04	25,84	26,60	27,92
2	25,92	26,60	28,12	26,16	27,00	27,88
3	26,08	26,80	27,88	25,88	26,68	27,88
4	26,04	26,76	27,84	25,80	26,80	27,84
5	26,00	26,60	28,04	26,16	26,92	27,84
6	25,92	26,60	27,88	25,80	26,60	27,76
$\bar{x}$	25,97	26,66	27,97	25,94	26,77	27,85
s	0,0891	0,0938	0,1143	0,1730	0,1686	0,0547
CV (%)	0,34	0,35	0,41	0,67	0,63	0,20

**Tabela 19:** Resultados obtidos para estudo da reprodutibilidade na matriz água tratada

Vias	“Analista 1 + Equipamento A”			“Analista 1 + Equipamento B”		
	Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )			Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )		
	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0
1	23,32	24,32	25,60	23,20	24,28	25,56
2	23,52	24,32	25,48	23,28	24,24	25,64
3	23,40	24,32	25,52	23,20	24,04	25,60
4	23,60	24,40	25,60	23,24	24,16	25,56
5	23,60	24,28	25,52	23,00	24,20	25,60
6	23,56	24,40	25,36	23,00	24,08	25,52
$\bar{x}$	23,50	24,34	25,51	23,15	24,17	25,58
s	0,1152	0,0490	0,0891	0,1224	0,0927	0,0420
CV (%)	0,49	0,20	0,35	0,53	0,38	0,16

**Tabela 19:** Resultados obtidos para estudo da reprodutibilidade na matriz água tratada (Continuação)

Vias	“Analista 2 + Equipamento A”			“Analista 2 + Equipamento B”		
	Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )			Fortificações (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )		
	1,0	2,0	3,0	1,0	2,0	3,0
1	23,12	24,00	24,76	23,20	24,00	24,80
2	22,96	24,08	24,68	22,92	24,00	24,48
3	23,12	23,84	24,96	22,96	23,84	24,84
4	23,28	23,96	24,68	23,36	23,76	24,64
5	23,20	23,88	24,72	23,16	23,88	24,60
6	23,36	23,80	24,60	23,40	24,12	24,68
$\bar{x}$	23,17	23,93	24,73	23,17	23,93	24,67
s	0,1401	0,1056	0,1231	0,1983	0,1306	0,1325
CV (%)	0,60	0,44	0,50	0,86	0,55	0,54

Como nas três matrizes de trabalho o CV é menor que 10 % podemos considerar que há uma boa reprodutibilidade intralaboratorial e evidenciar que a metodologia é precisa.

Com os dados obtidos nas Tabelas 17, 18 e 19 é possível calcular a amplitude entre os resultados de cada analista em cada via de ensaio, seguida do cálculo da amplitude média e do desvio padrão das medições ( $\sigma_m$ ) e com a média entre os ( $\sigma_m$ ) se obtêm o desvio da reprodutibilidade ( $\overline{\sigma_m}$ ) para cada tipo de matriz. Este valor é importante, pois faz parte do critério de aceitação do estudo da robustez do método. A Tabela 20 apresenta os resultados do desvio da reprodutibilidade.

**Tabela 20:** Resultados obtidos para o desvio da reprodutibilidade

Matriz	Desvio da Reprodutibilidade ( $\overline{\sigma_m}$ )
Água Bruta	0,1120
Água de Poço	0,1951
Água Tratada	0,4043

## 4.5 EXATIDÃO

Na exatidão se avaliou os testes de percentual de recuperação, Z-score interlaboratorial e Z-score intralaboratorial.

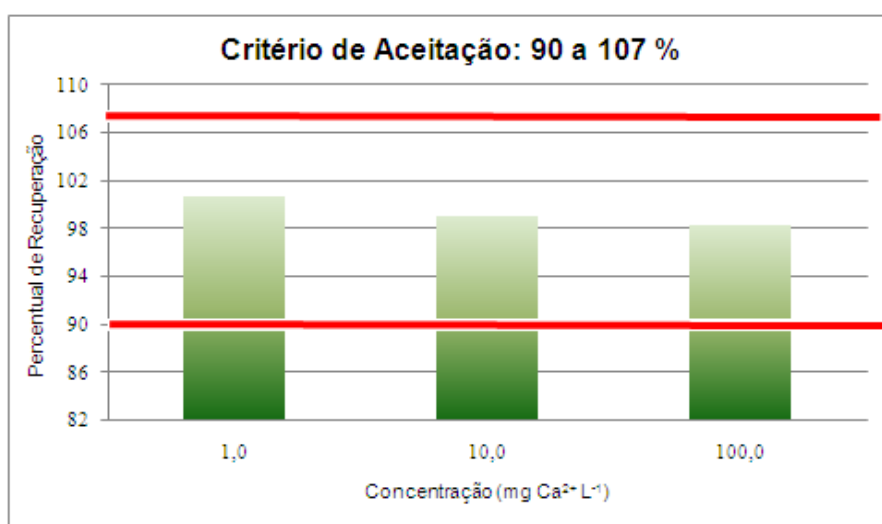
### 4.5.1 Estudo do percentual de recuperação

O critério de aceitação para o teste de percentual de recuperação (%R) está previsto na Tabela 8 para faixas de concentração, porém o laboratório preferiu tornar este critério mais

restritivo, utilizando para as três faixas de concentração o critério mais limitante:  $90 \leq \%R \leq 107$ . A Tabela 21 e a Figura 8 apresentam os resultados obtidos para o estudo do %R.

**Tabela 21:** Resultados obtidos para o estudo do percentual de recuperação

Padrão (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Resultado (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	%R (%)
1,0	0,98	98,00
1,0	1,00	100,00
1,0	1,04	104,00
10,0	9,92	99,20
10,0	10,12	101,20
10,0	9,68	96,80
100,0	98,64	98,64
100,0	98,16	98,16
100,0	98,24	98,24



**Figura 8:** Resultados do estudo do percentual de recuperação.

Como todas as alíquotas dos padrões analisados apresentaram uma recuperação dentro do faixa utilizada como critério de aceitação, à metodologia cumpre o primeiro critério para ser considerada exata.

#### 4.5.2 Estudo do Z-score interlaboratorial

Para o teste de Z-score interlaboratorial foi analisado as participações nas duas rodadas do Programa de Ensaio de Proficiência em Análises Ambientais promovido pela RMRS ao longo do ano de 2010, onde o parâmetro cálcio foi avaliado em efluentes (RMRS, 2010) e também as duas rodadas deste mesmo programa promovido no ano de 2011, onde o

parâmetro foi avaliado em matriz sintética (RMRS, 2011a e RMRS, 2011b). A Tabela 22 apresenta os resultados de Z-score obtidos pelo laboratório.

**Tabela 22:** Resultados obtidos para o estudo do Z-score interlaboratorial

Rodada (Ano)	Z-score
Primeira (2010)	0,647
Terceira (2010)	- 0,146
Primeira (2011) – Amostra X	0,141
Primeira (2011) – Amostra Y	- 0,082
Terceira (2011) – Amostra X	- 0,270
Terceira (2011) – Amostra Y	- 0,389

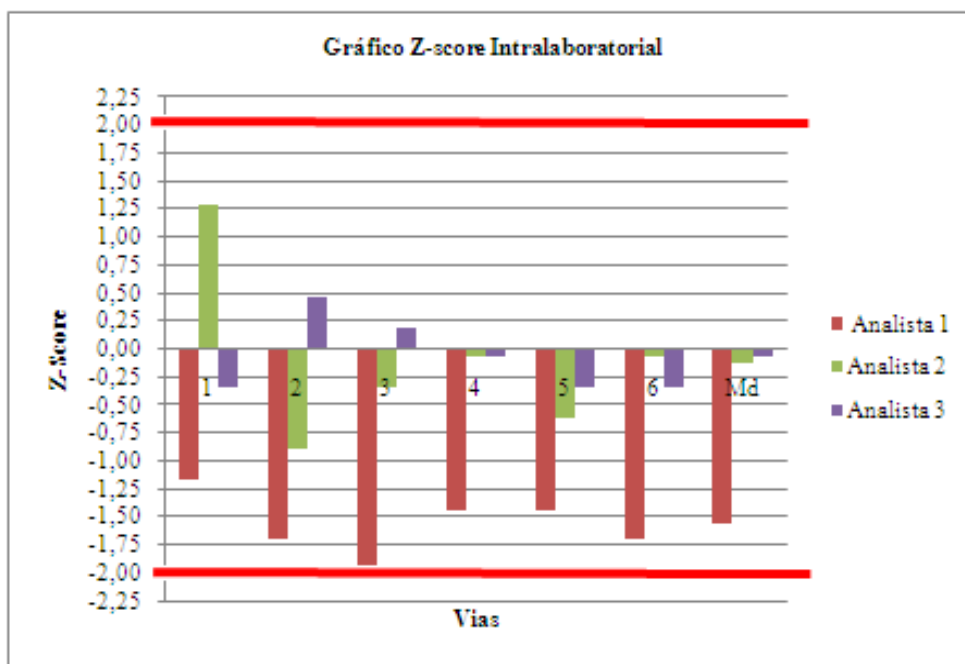
Como as participações nos programas de ensaio de proficiência apresentaram resultados satisfatórios ( $Z\text{-score} \leq |2,00|$ ) a metodologia cumpre o mais um critério para ser considerada exata.

#### 4.5.3 Estudo do Z-score intralaboratorial

No estudo de Z-score intralaboratorial o critério de aceitação foi o mesmo utilizado pelo provedor de programas de proficiência RMRS ( $Z\text{-score} \leq |2,00|$ ). A Tabela 23 e a Figura 9 apresentam os resultados obtidos no estudo do Z-score intralaboratorial para o analista de referência (sete alíquotas, média e desvio padrão dos resultados) e para os demais analistas (seis alíquotas e Z-score calculado).

**Tabela 23:** Resultados obtidos para o estudo do Z-score intralaboratorial

Vias	Analista de Ref.	Analista 1		Analista 2		Analista 3	
	mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>	mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>	Z-score	mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>	Z-score	mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>	Z-score
1	10,00	9,64	-1,16	10,00	1,28	9,76	-0,35
2	9,84	9,56	-1,71	9,68	-0,89	9,88	0,47
3	9,72	9,52	-1,98	9,76	-0,35	9,84	0,19
4	9,88	9,60	-1,43	9,80	-0,08	9,80	-0,08
5	9,64	9,60	-1,43	9,72	-0,62	9,76	-0,35
6	9,64	9,56	-1,71	9,80	-0,08	9,76	-0,35
7	9,96	-	-	-	-	-	-
$\bar{x}$	9,81	9,58	-1,57	9,79	-0,12	9,80	-0,08
s	0,1474	-	-	-	-	-	-



**Figura 9:** Resultados do estudo do Z-score intralaboratorial.

Como as avaliações do Z-score dos três analistas apresentaram resultados satisfatórios ( $Z\text{-score} \leq |2,00|$ ) a metodologia cumpre o último critério para ser considerada exata.

Como os resultados para os testes de percentual de recuperação, Z-score intralaboratorial e interlaboratorial foram satisfatórios pode-se afirmar que o método é exato.

#### 4.6 ESTABILIDADE

Na estabilidade se avaliou os quatro modelos de cartas de controle previstos por ALBANO E RAYA-RODRIGUEZ (2009) para padrões de cálcio preparados com material de referência (MR) nas concentrações de 5,0 e 50,0 mg  $\text{Ca}^{2+} \text{L}^{-1}$ .

O critério de aceitação no estudo de estabilidade é o seguinte: nenhuma característica abaixo citada pode ocorrer em nenhuma das quatro cartas de controle construídas:

- Pontos fora dos limites de controle;
- Sete pontos ascendentes consecutivos;
- Sete pontos descendentes consecutivos;
- Sete pontos consecutivos acima ou abaixo da linha central.

#### 4.6.1 Estudo da carta de controle para valores individuais

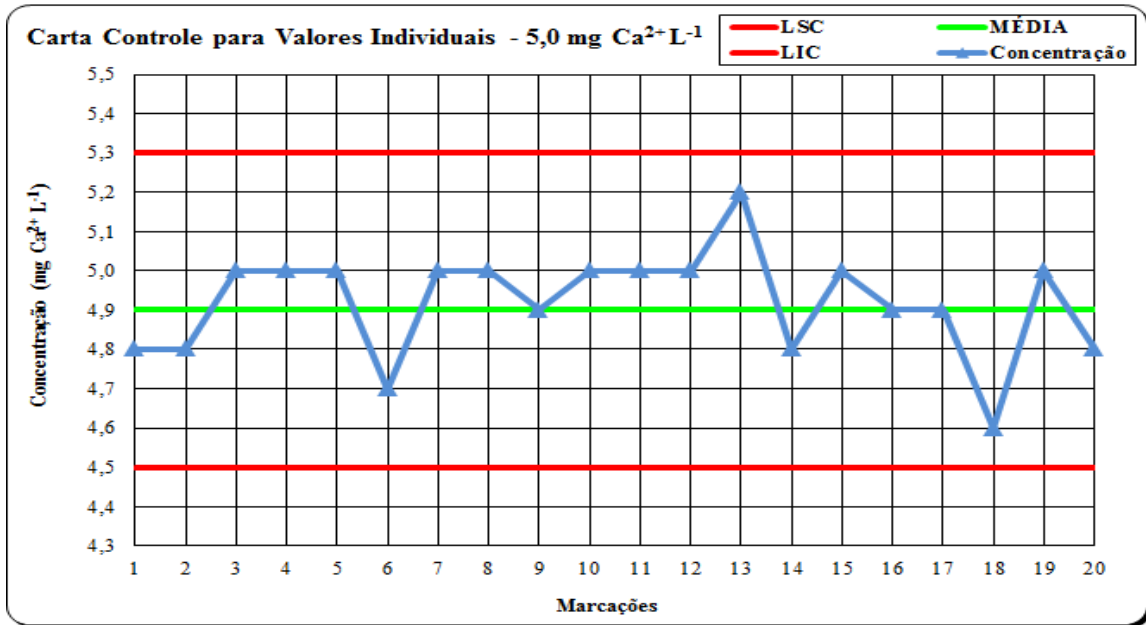
No estudo da carta de controle para valores individuais três analistas analisaram vinte alíquotas únicas de 50 mL de padrões de cálcio preparados com MR nas concentrações de 5,0 e 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> em dias diferentes ao longo de aproximadamente três meses, ou seja, cada analista, em dias diferentes, ensaiava uma única alíquota de cada padrão, até a obtenção de 20 pontos. A Tabela 24 apresenta os resultados obtidos em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> para os 20 pontos necessários para a construção desta carta.

**Tabela 24:** Resultados obtidos para o estudo da carta de controle para valores individuais

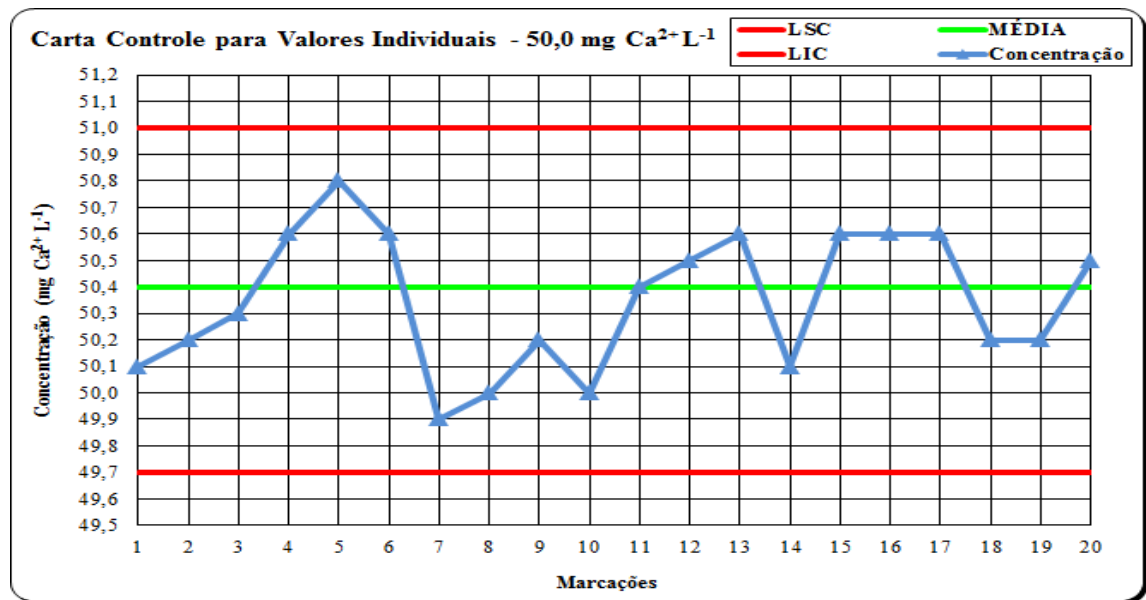
Padrão 5,0 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>				Padrão 50,0 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>			
Ponto	Data	Valor (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Amplitude	Ponto	Data	Valor (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Amplitude
1	30/11/09	4,8	-	1	30/11/09	50,1	-
2	01/12/09	4,8	0,0	2	01/12/09	50,2	0,1
3	07/12/09	5,0	0,2	3	07/12/09	50,3	0,1
4	11/12/09	5,0	0,0	4	11/12/09	50,6	0,3
5	14/12/09	5,0	0,0	5	14/12/09	50,8	0,2
6	16/12/09	4,7	0,3	6	16/12/09	50,6	0,2
7	22/12/09	5,0	0,3	7	22/12/09	49,9	0,7
8	30/12/09	5,0	0,0	8	30/12/09	50,0	0,1
9	06/01/10	4,9	0,1	9	06/01/10	50,2	0,2
10	14/01/10	5,0	0,1	10	14/01/10	50,0	0,2
11	10/02/10	5,0	0,0	11	10/02/10	50,4	0,4
12	18/02/10	5,0	0,0	12	18/02/10	50,5	0,1
13	24/02/10	5,2	0,2	13	24/02/10	50,6	0,1
14	02/03/10	4,8	0,4	14	02/03/10	50,1	0,5
15	05/03/10	5,0	0,2	15	05/03/10	50,6	0,5
16	08/03/10	4,9	0,1	16	08/03/10	50,6	0,0
17	12/03/10	4,9	0,0	17	12/03/10	50,6	0,0
18	22/03/10	4,6	0,3	18	22/03/10	50,2	0,4
19	23/03/10	5,0	0,4	19	23/03/10	50,2	0,0
20	26/03/10	4,8	0,2	20	26/03/10	50,5	0,3
<b>Média dos Resultados (<math>\bar{x}</math>)</b>			4,92	<b>Média dos Resultados (<math>\bar{x}</math>)</b>			50,35
<b>Amplitude Média Móvel (R)</b>			0,15	<b>Amplitude Média Móvel (R)</b>			0,23
<b>Limite Superior de Controle</b>			5,3	<b>Limite Superior de Controle</b>			51,0
<b>Limite Inferior de Controle</b>			4,5	<b>Limite Inferior de Controle</b>			49,7



Os limites superior e inferior de controle (LSC e LIC) foram obtidos pelas equações (9) e (10). A partir dos dados expressos na Tabela 24 pode-se construir a carta de controle para valores individuais, a qual é apresentada nas Figuras 10 e 11.



**Figura 10:** Carta de controle para valores individuais padrão de 5,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.



**Figura 11:** Carta de controle para valores individuais padrão de 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.

A partir das Figuras 10 e 11 pode-se verificar que os critérios de aceitação previstos para os quatro modelos de carta de controle foram atendidos. Assim, a metodologia atendeu o primeiro passo do estudo de estabilidade.

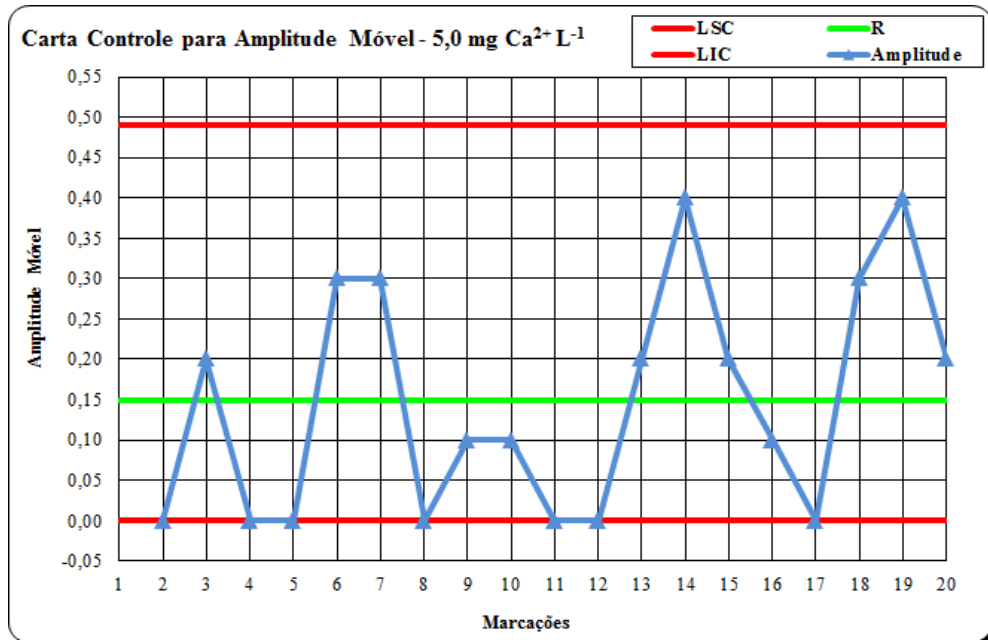
#### 4.6.2 Estudo da carta de controle para amplitude móvel

No estudo da carta de controle para amplitude móvel três analistas analisaram vinte alíquotas únicas de 50 mL de padrões de cálcio preparados com MR nas concentrações de 5,0 e 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> em dias diferentes ao longo de aproximadamente três meses, ou seja, cada analista, em dias diferentes, ensaiava uma única alíquota de cada padrão, até a obtenção de 20 pontos. A Tabela 25 apresenta os resultados obtidos em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> para os 20 pontos necessários para a construção desta carta.

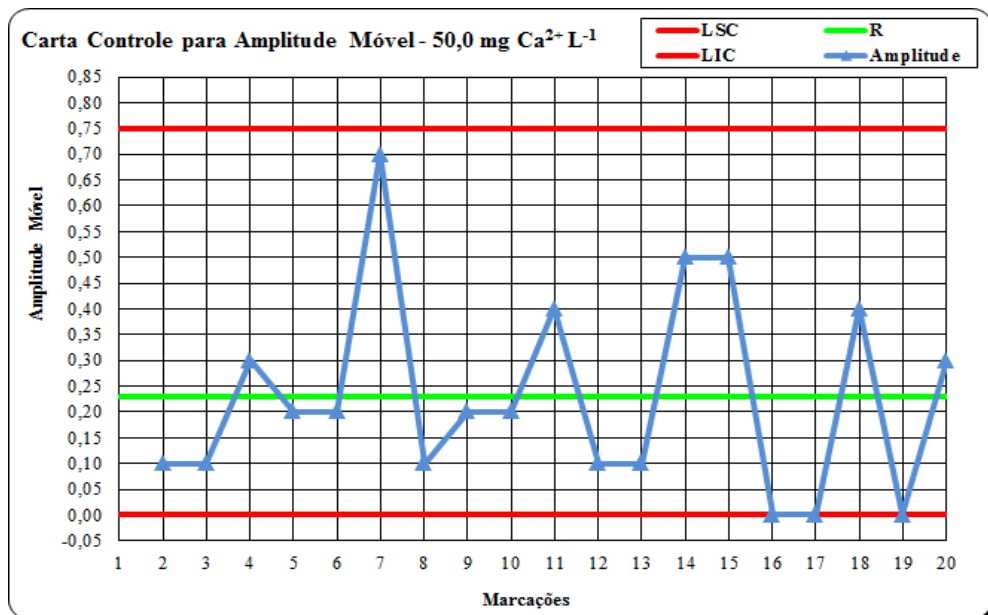
**Tabela 25:** Resultados obtidos para o estudo da carta de controle para amplitude móvel

Padrão 5,0 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>				Padrão 50,0 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>			
Ponto	Data	Valor (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Amplitude	Ponto	Data	Valor (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Amplitude
1	30/11/09	4,8	-	1	30/11/09	50,1	-
2	01/12/09	4,8	0,0	2	01/12/09	50,2	0,1
3	07/12/09	5,0	0,2	3	07/12/09	50,3	0,1
4	11/12/09	5,0	0,0	4	11/12/09	50,6	0,3
5	14/12/09	5,0	0,0	5	14/12/09	50,8	0,2
6	16/12/09	4,7	0,3	6	16/12/09	50,6	0,2
7	22/12/09	5,0	0,3	7	22/12/09	49,9	0,7
8	30/12/09	5,0	0,0	8	30/12/09	50,0	0,1
9	06/01/10	4,9	0,1	9	06/01/10	50,2	0,2
10	14/01/10	5,0	0,1	10	14/01/10	50,0	0,2
11	10/02/10	5,0	0,0	11	10/02/10	50,4	0,4
12	18/02/10	5,0	0,0	12	18/02/10	50,5	0,1
13	24/02/10	5,2	0,2	13	24/02/10	50,6	0,1
14	02/03/10	4,8	0,4	14	02/03/10	50,1	0,5
15	05/03/10	5,0	0,2	15	05/03/10	50,6	0,5
16	08/03/10	4,9	0,1	16	08/03/10	50,6	0,0
17	12/03/10	4,9	0,0	17	12/03/10	50,6	0,0
18	22/03/10	4,6	0,3	18	22/03/10	50,2	0,4
19	23/03/10	5,0	0,4	19	23/03/10	50,2	0,0
20	26/03/10	4,8	0,2	20	26/03/10	50,5	0,3
<b>Média dos Resultados (<math>\bar{x}</math>)</b>			4,92	<b>Média dos Resultados (<math>\bar{x}</math>)</b>			50,35
<b>Amplitude Média Móvel (R)</b>			0,15	<b>Amplitude Média Móvel (R)</b>			0,23
<b>Limite Superior de Controle</b>			0,49	<b>Limite Superior de Controle</b>			0,75
<b>Limite Inferior de Controle</b>			0,00	<b>Limite Inferior de Controle</b>			0,00

Os limites superior e inferior de controle (LSC e LIC) foram obtidos pelas equações (11) e (12). A partir dos dados expressos na Tabela 25 pode-se construir a carta de controle para amplitude móvel, a qual é apresentada nas Figuras 12 e 13.



**Figura 12:** Carta de controle para amplitude móvel padrão de 5,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.



**Figura 13:** Carta de controle para amplitude móvel padrão de 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.

A partir das Figuras 12 e 13 se verificou que os critérios de aceitação previstos para os quatro modelos de carta de controle foram atendidos. A metodologia atendeu o segundo passo do estudo de estabilidade.

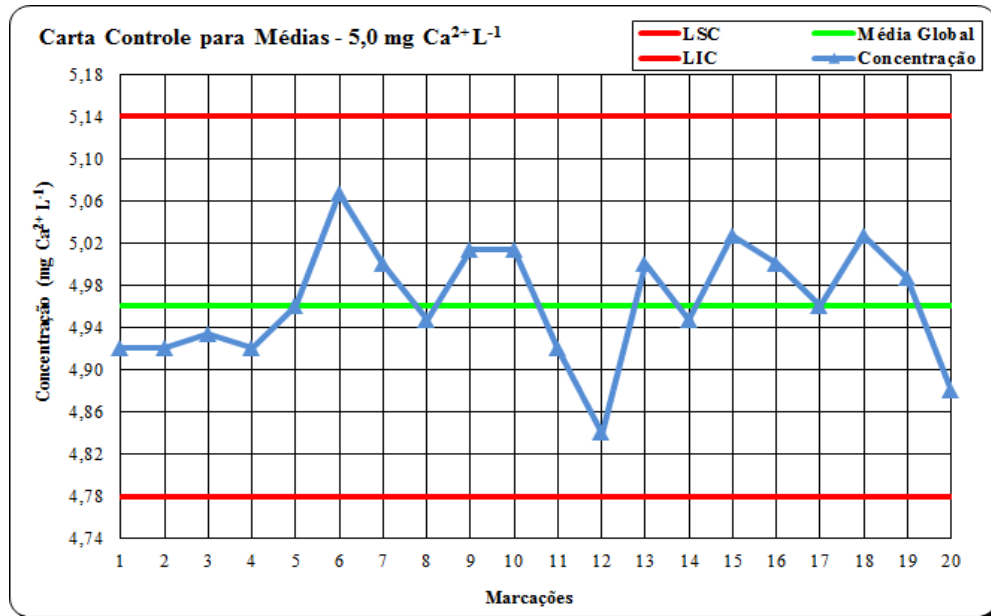
#### 4.6.3 Estudo da carta de controle para média

No estudo da carta de controle para média três analistas analisaram vinte alíquotas em triplicata de 50 mL de padrões de cálcio preparados com MR nas concentrações de 5,0 e 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> em dias diferentes ao longo de aproximadamente um mês, ou seja, cada analista, em dias diferentes, ensaiava três alíquotas de cada padrão, até a obtenção de 20 pontos. A Tabela 26 apresenta os resultados obtidos em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> para os 20 pontos necessários para a construção desta carta.

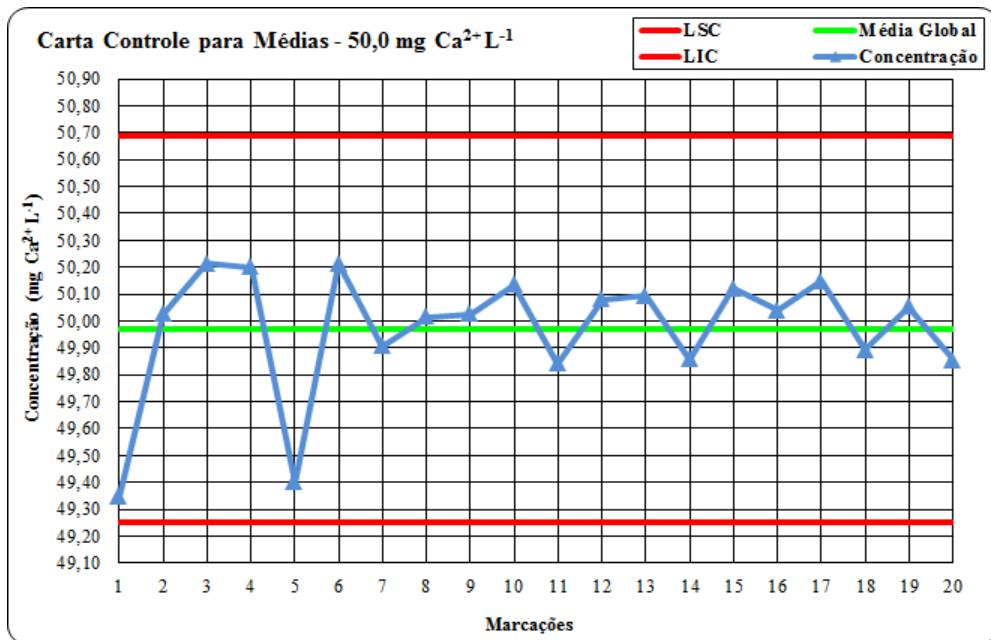
**Tabela 26:** Resultados obtidos para o estudo da carta de controle para média

Ponto	Data	Padrão 5,0 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>		Padrão 50 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>	
		Valores (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Média mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>	Valores (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Média mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>
1	25/05/10	4,96 / 4,88 / 4,92	4,92	49,36 / 49,40 / 49,28	49,35
2	26/05/10	4,88 / 4,96 / 4,92	4,92	50,00 / 50,00 / 50,08	50,03
3	27/05/10	4,80 / 5,08 / 4,92	4,93	50,16 / 50,28 / 50,20	50,21
4	28/05/10	4,88 / 4,92 / 4,96	4,92	50,24 / 50,24 / 50,12	50,20
5	31/05/10	4,92 / 4,96 / 5,00	4,96	49,40 / 49,48 / 49,32	49,40
6	01/06/10	5,20 / 4,96 / 5,04	5,07	50,00 / 49,76 / 49,96	50,21
7	02/06/10	4,96 / 5,04 / 5,00	5,00	50,24 / 50,08 / 50,32	49,91
8	04/06/10	4,92 / 4,92 / 5,00	4,95	50,20 / 49,88 / 49,96	50,01
9	07/06/10	5,00 / 4,96 / 5,08	5,01	50,00 / 49,96 / 50,12	50,03
10	08/06/10	4,96 / 5,08 / 5,00	5,01	50,16 / 50,08 / 50,16	50,13
11	09/06/10	4,88 / 4,92 / 4,96	4,92	49,84 / 49,88 / 49,80	49,84
12	10/06/10	4,96 / 4,80 / 4,76	4,84	50,08 / 50,12 / 50,04	50,08
13	11/06/10	4,92 / 5,04 / 5,04	5,00	50,04 / 50,00 / 50,24	50,09
14	14/06/10	5,04 / 4,92 / 4,88	4,95	50,00 / 49,88 / 49,69	49,86
15	15/06/10	5,08 / 4,96 / 5,04	5,03	50,20 / 50,16 / 50,00	50,12
16	16/06/10	5,00 / 4,96 / 5,04	5,00	50,00 / 50,08 / 50,04	50,04
17	17/06/10	4,88 / 5,04 / 4,96	4,96	50,04 / 50,24 / 50,16	50,15
18	18/06/10	5,04 / 5,08 / 4,96	5,03	49,76 / 50,08 / 49,84	49,89
19	21/06/10	5,00 / 5,04 / 4,92	4,99	49,96 / 50,12 / 50,08	50,05
20	22/06/10	4,88 / 4,92 / 4,84	4,88	49,92 / 49,88 / 49,76	49,85
<b>Média Global (<math>\bar{x}</math>)</b>			4,96	$\bar{x}$	49,97
<b>Desvio Padrão da Média Global (s)</b>			0,06	s	0,24
<b>Limite Superior de Controle</b>			5,14	<b>LSC</b>	50,69
<b>Limite Inferior de Controle</b>			4,78	<b>LSI</b>	49,25

Os limites superior e inferior de controle (LSC e LIC) foram obtidos pelas equações (13) e (14). A partir dos dados expressos na Tabela 26 pode-se construir a carta de controle para média, a qual é apresentada nas Figuras 14 e 15.



**Figura 14:** Carta de controle para média padrão de 5,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.



**Figura 15:** Carta de controle para média padrão de 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.

A partir das Figuras 14 e 15 foi visualizado que os critérios de aceitação previstos para os quatro modelos de carta de controle foram atendidos. Assim, a metodologia atendeu o terceiro passo do estudo de estabilidade.

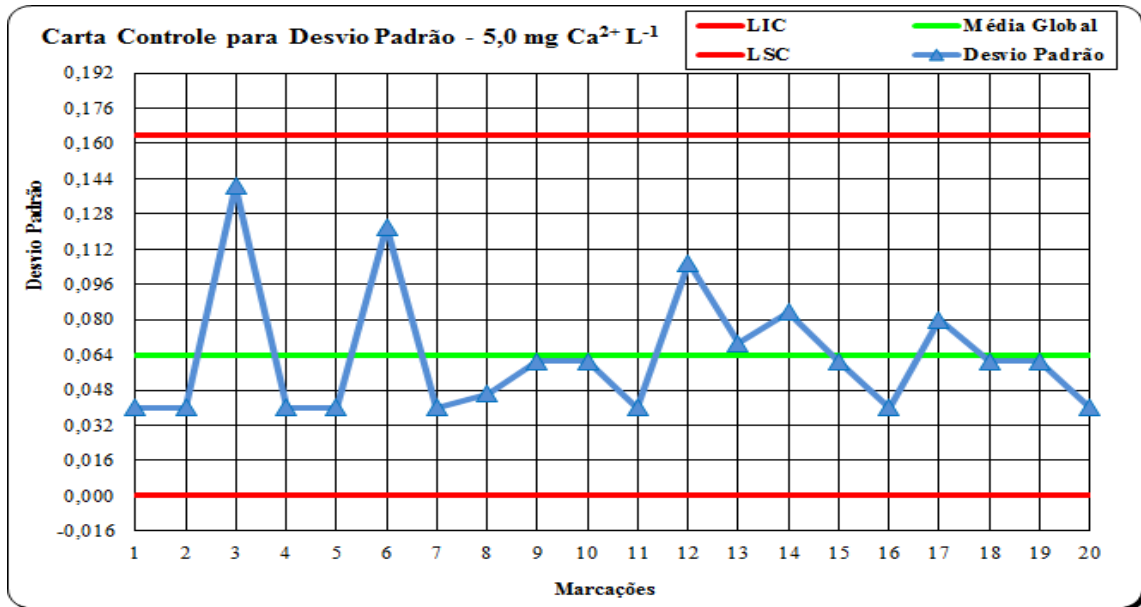
#### 4.6.4 Estudo da carta de controle para desvio padrão

No estudo da carta de controle para desvio padrão três analistas analisaram vinte alíquotas em triplicata de 50 mL de padrões de cálcio preparados com MR nas concentrações de 5,0 e 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> em dias diferentes ao longo de aproximadamente um mês, ou seja, cada analista, em dias diferentes, ensaiava três alíquotas de cada padrão, até a obtenção de 20 pontos. A Tabela 27 apresenta os resultados obtidos em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> para os 20 pontos necessários para a construção desta carta.

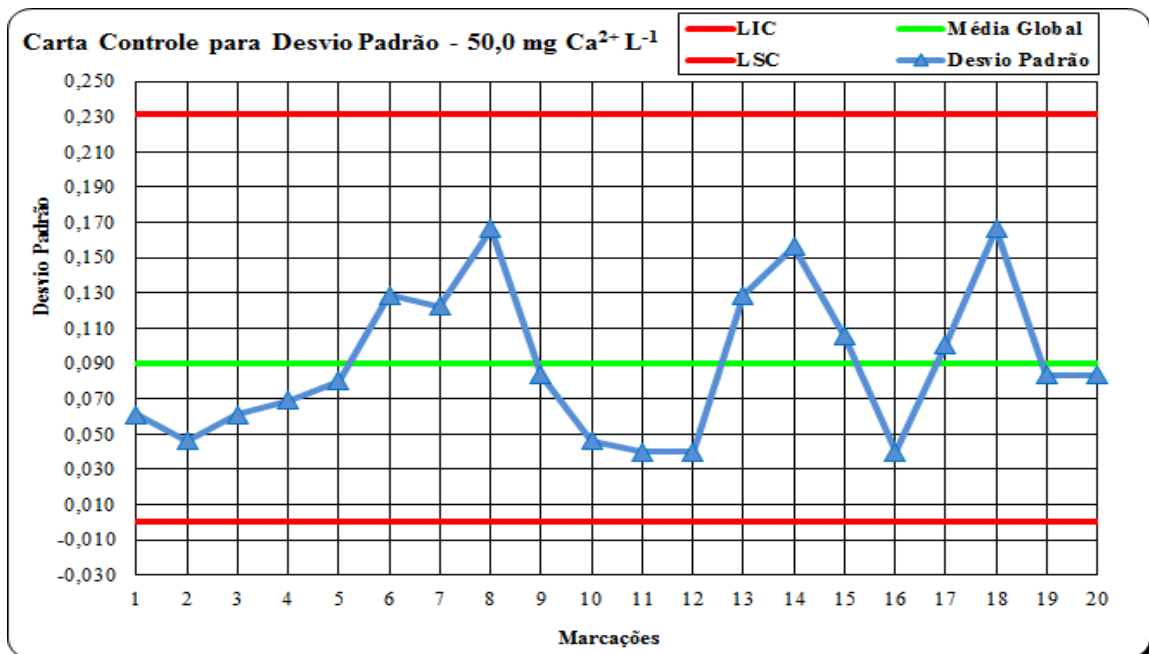
**Tabela 27:** Resultados obtidos para o estudo da carta de controle para desvio padrão

Ponto	Data	Padrão 5,0 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>		Padrão 50,0 mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup>	
		Valores (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão	Valores (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão
1	25/05/10	4,96 / 4,88 / 4,92	0,040	49,36 / 49,40 / 49,28	0,061
2	26/05/10	4,88 / 4,96 / 4,92	0,040	50,00 / 50,00 / 50,08	0,046
3	27/05/10	4,80 / 5,08 / 4,92	0,140	50,16 / 50,28 / 50,20	0,061
4	28/05/10	4,88 / 4,92 / 4,96	0,040	50,24 / 50,24 / 50,12	0,069
5	31/05/10	4,92 / 4,96 / 5,00	0,040	49,40 / 49,48 / 49,32	0,080
6	01/06/10	5,20 / 4,96 / 5,04	0,122	50,00 / 49,76 / 49,96	0,129
7	02/06/10	4,96 / 5,04 / 5,00	0,040	50,24 / 50,08 / 50,32	0,122
8	04/06/10	4,92 / 4,92 / 5,00	0,046	50,20 / 49,88 / 49,96	0,167
9	07/06/10	5,00 / 4,96 / 5,08	0,061	50,00 / 49,96 / 50,12	0,083
10	08/06/10	4,96 / 5,08 / 5,00	0,061	50,16 / 50,08 / 50,16	0,046
11	09/06/10	4,88 / 4,92 / 4,96	0,040	49,84 / 49,88 / 49,80	0,040
12	10/06/10	4,96 / 4,80 / 4,76	0,106	50,08 / 50,12 / 50,04	0,040
13	11/06/10	4,92 / 5,04 / 5,04	0,069	50,04 / 50,00 / 50,24	0,129
14	14/06/10	5,04 / 4,92 / 4,88	0,083	50,00 / 49,88 / 49,69	0,156
15	15/06/10	5,08 / 4,96 / 5,04	0,061	50,20 / 50,16 / 50,00	0,106
16	16/06/10	5,00 / 4,96 / 5,04	0,040	50,00 / 50,08 / 50,04	0,040
17	17/06/10	4,88 / 5,04 / 4,96	0,080	50,04 / 50,24 / 50,16	0,101
18	18/06/10	5,04 / 5,08 / 4,96	0,061	49,76 / 50,08 / 49,84	0,167
19	21/06/10	5,00 / 5,04 / 4,92	0,061	49,96 / 50,12 / 50,08	0,083
20	22/06/10	4,88 / 4,92 / 4,84	0,040	49,92 / 49,88 / 49,76	0,083
<b>Média dos Desvios [Desvio Global (D)]</b>			0,064	<b>D</b>	0,090
<b>Limite Superior de Controle (LSC)</b>			0,164	<b>LSC</b>	0,231
<b>Limite Inferior de Controle (LIC)</b>			0,000	<b>LIC</b>	0,000

Os limites superior e inferior de controle (LSC e LIC) foram obtidos pelas equações (14) e (15). A partir dos dados expressos na Tabela 27 pode-se construir a carta de controle para média, a qual é apresentada nas Figuras 16 e 17.



**Figura 16:** Carta de controle para desvio padrão do padrão de 5,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.



**Figura 17:** Carta de controle para desvio padrão do padrão de 50,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>.

A partir das Figuras 16 e 17 pode-se verificar que os critérios de aceitação previstos para os quatro modelos de carta de controle foram atendidos. Assim, a metodologia atendeu o

quarto passo do estudo de estabilidade, concluindo o estudo de estabilidade demonstrando que a metodologia é estável.

#### 4.7 ROBUSTEZ

Para se avaliar a robustez do método se fez necessário comparar o resultado do desvio da robustez (Sr) com o desvio da reprodutibilidade ( $\overline{\sigma}_m$ ), obtido anteriormente no item 4.4.2. Assim, o critério de aceitação para o estudo de robustez é  $Sr < (\overline{\sigma}_m)$ .

Para obtenção do desvio da robustez se preparou duas soluções padrões de cálcio com concentração de 5,0 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> a partir de dois lotes diferentes de um material de referência de cálcio. Seis alíquotas de 50 mL destes dois padrões foram ensaiados em um titulador automático utilizando-se dois tipos de instrumentos de medida (pipeta volumétrica e proveta, ambas de 50 mL e calibradas). A Tabela 28 apresenta os resultados em mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup> deste estudo.

**Tabela 28:** Resultados obtidos no estudo da robustez

Conjunto “Lote A + Instrumento A”		Conjunto “Lote A + Instrumento B”		Conjunto “Lote B + Instrumento A”		Conjunto “Lote B + Instrumento B”	
Vias	Valor	Vias	Valor	Vias	Valor	Vias	Valor
1	4,56	1	4,64	1	4,76	1	4,92
2	4,60	2	4,72	2	4,84	2	4,72
3	4,64	3	4,64	3	5,00	3	4,68
4	4,60	4	4,60	4	4,80	4	4,84
5	4,60	5	4,56	5	4,72	5	4,80
6	4,68	6	4,68	6	4,88	6	4,88
<b>Média</b>	4,61	<b>Média</b>	4,64	<b>Média</b>	4,83	<b>Média</b>	4,81

A partir dos dados obtidos na Tabela 28 é possível se calcular o desvio da robustez (Sr) e compará-lo com os desvios da reprodutibilidade ( $\overline{\sigma}_m$ ) para as três matrizes de trabalho. A Tabela 29 apresenta estes resultados comparativos.

**Tabela 29:** Comparativo entre o desvio da robustez (Sr) e os desvios da reprodutibilidade ( $\overline{\sigma}_m$ )

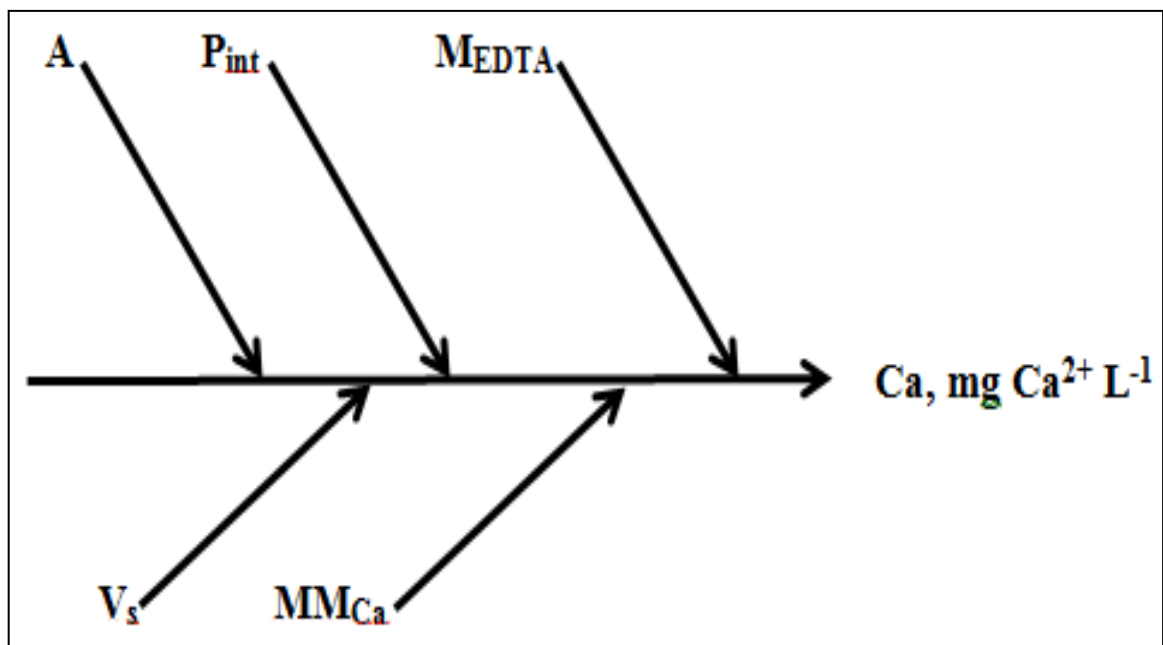
Tipo de Desvio	Resultado
Sr	0,1933
$(\overline{\sigma}_m)$ – Água Bruta	0,1120
$(\overline{\sigma}_m)$ – Água Subterrânea – Poço	0,1951
$(\overline{\sigma}_m)$ – Água Tratada	0,4043



Considerando o desvio da reprodutibilidade em água de poço e em água tratada como os piores casos, pois são as matrizes onde há maior concentração do analito presente, pode-se afirmar que o método é robusto para a faixa de concentração das matrizes estudadas.

#### 4.8 INCERTEZA DE MEDIÇÃO

Seguindo as instruções encontradas na literatura [*Standard Methods* (APHA, 2005), INMETRO (2003) e EURACHEM (2002)] pode-se criar um diagrama de causa e efeito para o ensaio titulométrico de cálcio em águas. A Figura 18 apresenta este diagrama com as cinco fontes de incerteza consideradas para o ensaio.



**Figura 18:** Diagrama causa e efeito para o ensaio titulométrico de cálcio em águas.

Sendo que estas fontes são combinadas de acordo com a equação (20).

$$Ca, mg Ca^{2+} L^{-1} = \frac{A * M_{EDTA} * MM_{Ca} * 1000}{V_s} \quad (20)$$

Onde:  $Ca, mg Ca^{2+} L^{-1}$  é a concentração ( $mg Ca^{2+} L^{-1}$ ) de cálcio na amostra;

$A$  é o volume (em mL) gasto de EDTA para titular a amostra;

$M_{EDTA}$  é a molaridade (em  $mol L^{-1}$ ) do EDTA;

$MM_{Ca}$  é a massa molecular (em  $g mol^{-1}$ ) do cálcio;

$V_s$  é o volume (em mL) medido da amostra;

$1000$  é o fator de conversão de miligrama (mg) para grama (g);

$P_{int}$  é o componente da incerteza do resultado considerada em função da variação das leituras de padrões de carta de controle (em  $\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}$ ).

Após levantamento das fontes de incerteza para o ensaio titulométrico de cálcio em águas, podem-se estimar os valores da incerteza expandida do ensaio, para um nível de confiança de 95%. A Tabela 30 apresenta os valores de incerteza de medição para diversas concentrações de cálcio em amostras reais.

**Tabela 30:** Valores obtidos para a estimativa da incerteza de medição do ensaio titulométrico de cálcio em águas

<b>Concentração (<math>\text{mg Ca}^{2+} \text{ L}^{-1}</math>)</b>	<b>Incerteza de Medição (<math>\pm</math>)</b>
1,0	0,39
5,0	0,78
10,0	1,03
20,0	1,70
50,0	3,96
80,0	6,43
100,0	7,97

## CONCLUSÃO

O método encontra-se validado, apresentando precisão e exatidão satisfatórias. Os resultados obtidos para os parâmetros considerados para a validação foram:

- *Seletividade*: o método se mostrou seletivo para as três matrizes em estudo;
- *Linearidade*: o método mostra-se linear para toda a faixa estudada, com  $R^2 = 1,0000$ ;
- *Sensibilidade*: o método apresentou limites de detecção e quantificação iguais a 0,14 e 0,21 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>, respectivamente;
- *Precisão*: o método apresentou repetitividade e reprodutibilidade satisfatórias;
- *Exatidão*: o método apresentou percentual de recuperação de  $96,80 \leq \%R \leq 104,00$ ; Z-score interlaboratorial e intralaboratorial  $\leq |2,00|$ ;
- *Estabilidade*: os quatro modelos de carta de controle do método não apresentaram tendências nem pontos fora dos limites de controle;
- *Robustez*: o método apresentou um desvio de robustez (Sr) de 0,1933, o qual é inferior aos desvios de reprodutibilidade ( $\overline{\sigma_m}$ ) para água de poço e tratada;
- *Incerteza de Medição*: o método apresenta contribuições próximas a 10% do valor verdadeiro quando está próxima dos limites de quantificação e tem seu impacto reduzido quando comparada a altas concentrações do analito.

Assim, pode-se concluir que a alteração na metodologia normalizada (35000 Ca B) do livro *Standard Methods* (APHA, 2005) não gerou resultados inválidos na determinação de cálcio em águas pelo método titulométrico do EDTA.

## REFERÊNCIAS

ALBANO, F. M., RAYA-RODRIGUEZ, M. T. **Validação e Garantia da Qualidade de Ensaios Laboratoriais – Guia Prático**. Porto Alegre, Rede Metrológica RS, 2009.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Método 3500 Ca B. In.: *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. Washington, 2005.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. Washington, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **Guia para a Expressão da Incerteza de Medição (GUM)**. 3. ed. Rio de Janeiro: ABNT, INMETRO, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR ISO/IEC 17025: Requisitos Gerais para Competência de Laboratórios de Ensaios e Calibração**. Rio de Janeiro: ABNT, INMETRO, 2005

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS *Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, Official Methods of Analysis of AOAC International*, 2002.

CORSAN / SUTRA / DEAL. **FQ 009 – Águas – Determinação de Cálcio – Método Titulométrico do EDTA – Complexometria – e Magnésio Calculado**. Revisão 06 – AGO/2010.

CORSAN / SUTRA / DEAL. **PGQ 013 – Procedimento para Cálculo do Limite de Detecção do Método (LDM) e do Limite de Quantificação do Método (LQM)**. Revisão 04 – SET/2009.

EURACHEM. **Guia EURACHEM / CITAC: Determinando a Incerteza na Medição Analítica**. Primeira Edição Brasileira. Sociedade Brasileira de Metrologia, 2002. Disponível em: <<http://www.farmacia.ufmg.br/lato/Guia%20Eurachem%20QUAM2000%20Ver%20Bras.pdf>>. Acesso em 07 Set. 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). **DOQ-CGCRE-008: Orientação sobre Validade de Métodos Analíticos**. Revisão 03 – FEV/2010. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8\\_03.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03.pdf)>. Acesso em 27 Ago. 2011.

OLIVEIRA, R., FERNANDES, C, **Determinação da Dureza Total (Dureza de Cálcio e Magnésio)**. Disponível em: <<http://www.dec.ufcg.edu.br/saneamento/Dureza.html>> Acesso em 30 Ago. 2011.

PEIXOTO, E. M. A., **CÁLCIO**. Química Nova na Escola, n° 20, Novembro 2004.

REDE DE METROLOGIA E ENSAIOS DO RIO GRANDE DO SUL (RMRS) – **1º Relatório Parcial de 2011 – Bloco A – Programa de Ensaios de Proficiência em Análises Ambientais**. Porto Alegre, 2011. Disponível em: <[http://www.redemetrologica.com.br/arquivo/laboratorial/ARQ\\_340.pdf](http://www.redemetrologica.com.br/arquivo/laboratorial/ARQ_340.pdf)>. Acesso em 20 Set. 2011.

REDE DE METROLOGIA E ENSAIOS DO RIO GRANDE DO SUL (RMRS) – **3º Relatório Parcial de 2011 – Bloco A – Programa de Ensaios de Proficiência em Análises Ambientais**. Porto Alegre, 2011. Disponível em: <[http://www.redemetrologica.com.br/arquivo/laboratorial/ARQ\\_381.zip](http://www.redemetrologica.com.br/arquivo/laboratorial/ARQ_381.zip)>. Acesso em 29 Out. 2011.

REDE DE METROLOGIA E ENSAIOS DO RIO GRANDE DO SUL (RMRS) – **Relatório de 2010 – Programa de Ensaios de Proficiência em Análises Ambientais**. Porto Alegre, 2010.

REDE DE METROLOGIA E ENSAIOS DO RIO GRANDE DO SUL (RMRS). Arquivo particular da RMRS. Porto Alegre, 2011.

## **ANEXO 1 – PROCEDIMENTO DE ENSAIO DE CÁLCIO EM ÁGUAS UTILIZADO NA CORSAN**

Transcrição de parte do procedimento utilizado pelo laboratório central de águas (DEAL) da CORSAN na determinação de cálcio em águas.

**Título:** Águas – Determinação de Cálcio – Método Titulométrico do EDTA – Complexometria – e Magnésio Calculado

**Código:** FQ 009 – Revisão 06 – Agosto/2010

### **SUMÁRIO**

1 Objetivo

2 Campo de Aplicação

3 Responsabilidades

4 Definições

5 Documentos Complementares

6 Aparelhagem

7 Reagentes e Soluções

8 Execução do Ensaio

9 Resultado

Anexos

A – Transformado no FOR 066 na Revisão 06

B – Referências

(...)

### **6 APARELHAGEM**

a) erlenmeyers de 200, 250 ou 300 mL

b) bureta de 25 mL ou titulador automático

c) proveta de 50 e 100 mL calibradas

d) espátula

e) termômetro de imersão total

f) termômetro de imersão parcial

- g) pipeta graduada 10 mL
- h) pipeta volumétrica 10 mL

## 7 REAGENTES E SOLUÇÕES

- a) Indicador murexida (I-8)
- b) Solução hidróxido de sódio 1 N (H-11)
- c) Solução padrão de EDTA 0,0050 M (G-3)

## 8 EXECUÇÃO DO ENSAIO

**Nota:** Analisar, na frequência e concentração estabelecidas no Anexo C do PGQ 006, padrão para acompanhamento de carta controle.

8.1 Verificar se a medida da temperatura do frasco de controle está na faixa de  $(20 \pm 6)$  °C.

### Notas:

- 1 A temperatura ambiente da sala onde será executado o ensaio deverá estar a  $(20 \pm 6)$  °C.
- 2 Caso a temperatura do frasco de controle estiver fora da faixa especificada, aguardar até que seja atingida. Só então começar o ensaio.

8.2 Medir, em proveta, 50 mL de água deionizada, transferindo-a para um erlenmeyer. Esta alíquota será utilizada como comparador para determinação do ponto final (PB).

8.3 Medir, em proveta, 50 mL de amostra previamente homogeneizada transferindo-a para o erlenmeyer.

8.4 Adicionar 2 mL da solução de hidróxido de sódio 1 N (H-11) ou volume suficiente para elevar o pH a 12-13.

8.5 Adicionar uma ponta de espátula (0,1 a 0,2 g) de indicador de murexida (I-8) e agitar.

8.6 Adicionar na PB 0,25 mL da solução padrão de EDTA 0,0050 M (G-3).

8.7 Titular com solução padrão de EDTA 0,0050 M (G-3), lentamente, com agitação constante, até a mudança de cor de toda solução para o roxo (coloração próxima à Prova em Branco).

8.8 Anotar o volume gasto de solução padrão de EDTA 0,0050 M (G-3) no FOR 066.

**Notas:**

- 1 Diluir a amostra caso sejam gastos mais de 20 mL de solução padrão de EDTA 0,0050 M (G-3), tituladas com titulador automático ou mais de 25 mL na bureta de vidro.
- 2 Titular imediatamente após a adição do álcali e indicador devido ao elevado pH usada na análise.
- 3 Usar 50 mL de amostra, ou uma porção menor diluída a 50 mL, de tal forma que o conteúdo do cálcio fique em torno de 5 mg a 10 mg na porção titulada (máximo de 2000 mg/L de Ca).
- 4 Para amostras com concentração menor do que 5 mg/L de  $\text{Ca}^{++}$ , tomar alíquota de 100 mL de amostra para titulação e adicionar quantidades proporcionais das soluções reagentes.

8.9 A limpeza da vidraria segue a técnica de limpeza para vidraria em uso do POP 013 – Procedimento para Limpeza de Vidrarias e Frascos.

(...)



**ANEXO 2 – TABELA DE DISTRIBUIÇÃO F – ALFA DE 0,050 (95 % DE CONFIANÇA)**

	$v_1$	1	2	3	4	5	6	7
$v_2$								
1	$\alpha =$ 0,050	161,446	199,499	215,707	224,583	230,160	233,988	236,767
2		18,513	19,000	19,164	19,247	19,296	19,329	19,353
3		10,128	9,552	9,277	9,117	9,013	8,941	8,887
4		7,709	6,944	6,591	<b>6,388</b>	6,256	6,163	6,094
5		6,608	5,786	5,409	5,192	5,050	4,950	4,876