

6

Exemplos de Aplicação

Neste capítulo serão apresentados quatro exemplos numéricos a fim de tornar claros os procedimentos dos capítulos anteriores. O primeiro exemplo ilustra a avaliação das incertezas de medição através de componentes individuais do método analítico.

O segundo ilustra o uso da metodologia para a obtenção da curva de calibração e incerteza associada.

O terceiro avalia a especificidade do método analítico através de adição de padrão em amostras no domínio de abrangência do método.

O quarto apresenta um caso de avaliação da tendência do método analítico quando comparado a um método de referência, bem como os componentes de variância (repetitividade e precisão intermediária), obtidos pelo modelo hierárquico.

6.1

Exemplo 1 - Avaliação das incertezas de medição através de componentes individuais do método analítico

Esta seção ilustra a avaliação das incertezas de medição através de componentes individuais, aplicadas aos resultados obtidos na determinação de um composto químico.

O procedimento geral usado na combinação de componentes individuais consiste em preparar um modelo quantitativo detalhado do procedimento experimental, avaliar as incertezas padrão associadas aos parâmetros individuais e combiná-las usando a lei de propagação de incertezas.

6.1.1

Procedimento

O procedimento analítico, através de algumas etapas experimentais adotadas pelo procedimento operacional padrão de um laboratório é apresentado brevemente a seguir:

1. pesagem do composto químico de pureza 98%;
2. diluições para ajustar a concentração do elemento à faixa linear da curva de calibração;
3. leitura utilizando instrumento; e
4. cálculo do resultado final.

6.1.2

Identificação e análise das fontes de incerteza

Para o cálculo da incerteza dos resultados foram neste trabalho as seguintes fontes: dissolução da massa inicial, fator de diluição e incertezas para um dado valor observado. O diagrama de causa e efeito da Figura 6.1 mostra as principais fontes de incertezas.

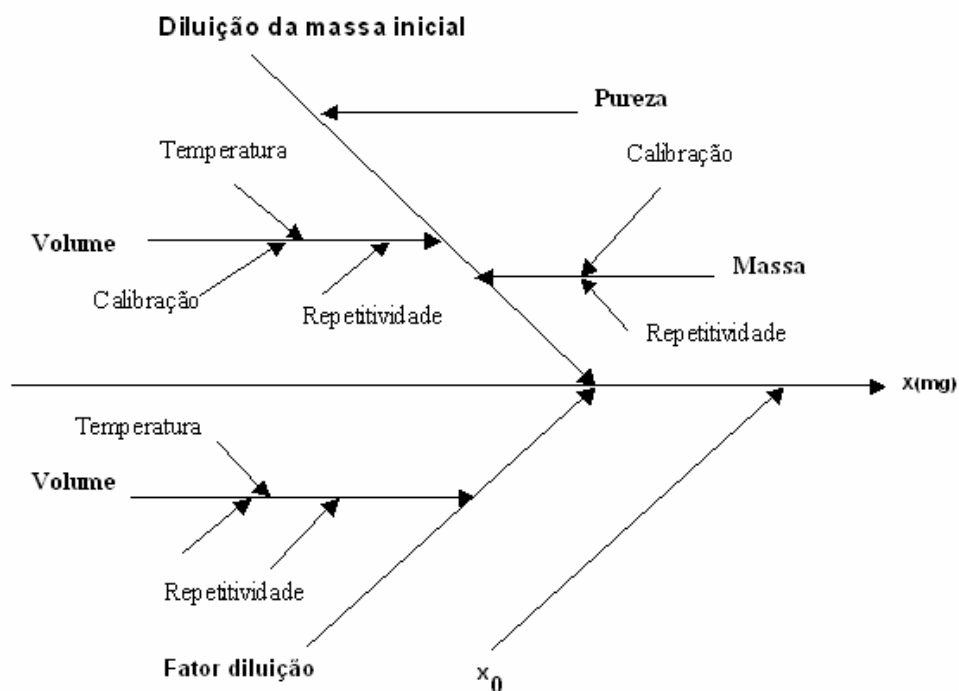


Figura 6.1. Principais fontes de incerteza dos resultados obtidos na determinação de um composto químico.

6.1.3 Vidraria volumétrica

Para calcular as incertezas devidas à dissolução da massa inicial e do fator de diluição, é necessário considerar as incertezas inerentes à vidraria volumétrica.

Para calcular as incertezas devidas às vidrarias volumétricas partiu-se da especificação ISO das vidrarias volumétricas (Queenie *et al.*, 2000), a qual determina que as principais fontes de incerteza do volume são: calibração, repetitividade e temperatura.

Utilizou-se uma vidraria calibrada de borossilicato, na classe A, tipo 1, de acordo com a American Society for Testing and Materials – ASTM, e baixo fator de expansão volumétrico ($32,5 \times 10^{-7} \text{ cm}^3/\text{cm}^3/^\circ\text{C}$) (Corning, Labware & Equipment catalog, 1998).

a) Calibração

A distribuição de probabilidade associada ao processo de calibração a 20°C do valor nominal do balão e da pipeta volumétrica tem maior densidade no centro do que nos extremos; sendo assim, é melhor representada pela distribuição triangular (EURACHEM, 2000), cujo divisor foi obtido da Tabela 2.1.

- Balão volumétrico $100 \pm 0,08 \text{ mL}$

$$u(V_{\text{BalãoCalibração} \cdot 100\text{mL}}) = \frac{0,08}{\sqrt{6}} = 0,032660 \text{ mL}$$

- Balão volumétrico $250 \pm 0,12 \text{ mL}$

$$u(V_{\text{BalãoCalibração} \cdot 250\text{mL}}) = \frac{0,12}{\sqrt{6}} = 0,048990 \text{ mL}$$

- Pipeta volumétrica $10 \pm 0,03 \text{ mL}$

$$u(V_{\text{PipetaCalibração} \cdot 10\text{mL}}) = \frac{0,03}{\sqrt{6}} = 0,012247 \text{ mL}$$

b) Temperatura

De acordo com os fabricantes da vidraria volumétrica, a mesma é calibrada a 20°C , com a temperatura do laboratório variando $\pm 3^\circ \text{C}$. A incerteza deste efeito pode ser calculada a partir da estimativa da variação da temperatura e do coeficiente de expansão do líquido, α . Para a água, $\alpha \approx 2,1 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ e para

líquidos orgânicos, $\alpha \approx 1 \times 10^{-3} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ (EURACHEM, 2000). Uma vez que a dilatação volumétrica do líquido é consideravelmente maior do que a do frasco, despreza-se o efeito deste último no cálculo (Chui *et al*, 2000).

Para o intervalo de 95% de confiança, a incerteza padrão do efeito da temperatura é calculada assumindo que a distribuição de probabilidade é retangular para variação da temperatura (EURACHEM, 2000), portanto:

$$u(V_{\text{Balão Temperatura } ^\circ 100\text{mL}}) = \frac{100 \times 3 \times 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 0,036373 \text{ mL}$$

$$u(V_{\text{Balão Temperatura } ^\circ 250\text{mL}}) = \frac{250 \times 3 \times 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 0,090933 \text{ mL}$$

$$u(V_{\text{Pipeta Temperatura } ^\circ 10\text{mL}}) = \frac{10 \times 3 \times 2,1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 0,0036373 \text{ mL}$$

c) Repetitividade

Os desvios-padrão associados à repetitividade foram estimados através de uma série de dez repetições.

$$u(V_{\text{Balão Repetitividade } ^\circ 100\text{mL}}) = 0,010 \text{ mL}$$

$$u(V_{\text{Balão Repetitividade } ^\circ 250\text{mL}}) = 0,020 \text{ mL}$$

$$u(V_{\text{Pipeta Repetitividade } ^\circ 10\text{mL}}) = 0,012 \text{ mL}$$

6.1.4

Dissolução da massa inicial

Para a dissolução da massa inicial deve-se considerar as incertezas na pesagem do composto e no volume utilizado do balão de 250mL.

6.1.4.1

Pesagem

Para a estimação da componente de incerteza devido à pesagem consideram-se a calibração e a repetitividade da balança analítica. Outras fontes de incerteza inerentes à balança, como linearidade e sensibilidade, serão consideradas desprezíveis.

a) *Calibração*

O certificado de calibração da balança mostrou que a massa pesada apresenta uma incerteza de $\pm 0,05$ mg:

$$u(m_{\text{Calibração}}) = 0,05 \text{ mg}$$

b) *Repetitividade*

O desvio-padrão da série de dez repetições para obtenção das massas foi estimado em $\pm 0,1$ mg:

$$u(m_{\text{Repetitividade}}) = 0,10 \text{ mg}$$

Combinando-se as duas componentes, obteve-se a incerteza devido à pesagem:

$$u(m) = \sqrt{(0,05)^2 + (0,1)^2} = 0,1118 \text{ mg}$$

6.1.4.2 Pureza

A pureza do composto é obtida do certificado como $0,98 \pm 0,02$, logo $P=0,98$. Como nenhuma informação adicional foi dada, assume-se uma distribuição retangular, e a incerteza padrão da pureza será:

$$u(P) = \frac{0,02}{\sqrt{3}} = 0,012 \text{ mg}$$

6.1.4.3 Vidraria volumétrica

A solução foi preparada em um balão volumétrico de 250 mL. Deve-se considerar como fontes de incerteza da vidraria volumétrica: a calibração, a temperatura e a repetitividade, (conforme seção 6.1.3). As contribuições de incerteza para a vidraria são combinadas para obtenção da $u(V)$:

$$u(V_{\text{Balão 250mL}}) = \sqrt{(0,048990)^2 + (0,09093)^2 + (0,020)^2} = 0,105206 \text{ mL}$$

Desta forma, a incerteza devido à diluição da massa inicial será obtida a partir de valores da sumariados da Tabela 6.1 como:

$$u_c(\text{Diluição massa inicial}) = \sqrt{\left(\frac{u(P)}{P}\right)^2 + \left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(V)}{V}\right)^2}$$

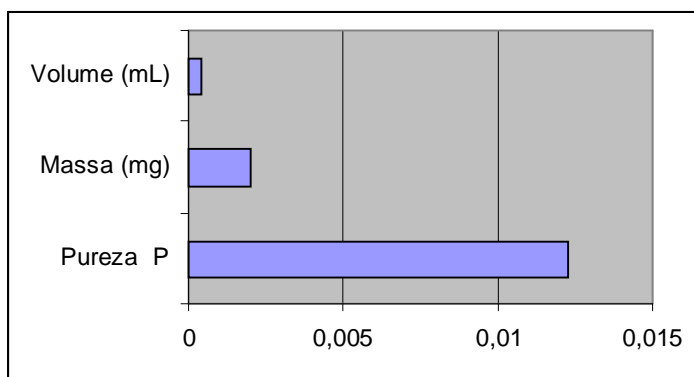
$$u_c(\text{Diluição massa inicial}) = \sqrt{(0,01225)^2 + (0,00199)^2 + (0,00042)^2}$$

$$u_c(\text{Diluição massa inicial}) = 0,01241$$

Tabela 6.1. Valores das grandezas de entrada y e incertezas respectivas

Descrição	Valor de y	$u_c(y)$	$u_c(y)/y$
Pureza P	0,98	0,01200	0,01225
Volume (mL)	250	0,10520	0,00042
Massa (mg)	56,30	0,11180	0,00199

A Figura 6.2 ilustra a contribuição das incertezas na diluição da massa inicial.

**Figura 6.2. Contribuição da incerteza na diluição da massa inicial**

6.1.5

Fator de diluição

Para se obter as concentrações da curva de calibração foram feitas duas diluições de dez vezes da solução anterior (diluição da massa inicial). Para diluição de dez vezes foram utilizadas balões volumétricos de 100 mL e pipeta volumétrica de 10mL, com as incertezas devido à calibração, temperatura e repetitividade dadas na seção 4.3.3.

a) Calibração

$$u(V_{\text{Balão Calibração } 100\text{mL}}) = 0,03266 \text{ mL}$$

$$u(V_{\text{Pipeta } 100\text{mL}}) = 0,01225 \text{ mL}$$

b) Temperatura

$$u(V_{\text{Balão Temperatura } 100\text{mL}}) = 0,03637 \text{ mL}$$

$$u(V_{\text{Pipeta Temperatura } 10\text{mL}}) = 0,00364 \text{ mL}$$

c) Repetitividade

$$u(V_{\text{Balão Repetitividade } 100\text{mL}}) = 0,010\text{mL}$$

$$u(V_{\text{Pipeta Repetitividade } 10\text{mL}}) = 0,012\text{mL}$$

Tabela 6.2. Cálculo da incerteza padrão combinada devido às diluições

Vidraria Volumétrica	Incerteza				
	Calibração	Temperatura	Repetitividade	Combinada	Relativa
Balão 100 mL	0,03266	0,03637	0,01000	0,04989	0,00050
Pipeta 10 mL	0,01225	0,00364	0,01200	0,01753	0,00175

Ao fator de diluição está associada a incerteza devida aos volumes iniciais e finais. Como o fator é calculado por divisão, a incerteza associada ao fator é dada por:

$$S(\text{Fator10})/\text{fator}.$$

Em seguida, a incerteza associada ao fator é calculada para diluição 1:10, usando pipeta de 10 mL e balão de 100 mL.

$$\frac{S(\text{Fator10})}{10} = \sqrt{[(0,00050)^2 + (0,00175)^2]} = 0,01820$$

Como foram feitas duas diluições de dez vezes da solução anterior, então a incerteza devido ao fator diluição será:

$$u_c(\text{Fator10}) = \sqrt{2(0,01820)^2} = 0,02574$$

6.1.6**Incerteza de medição de x em y com a função de calibração**

A incerteza para qualquer ponto dentro da faixa de trabalho estudada para valores individuais pode ser expressa por (3.37). Para uma medição ($n_b = 1$), obtida a resposta (sinal) $y_i = 0,280$ correspondendo à concentração $x_0 = 1,13017 \text{ mgL}^{-1}$, com $QM_r = 0,00002$; $t_{2,5\% (2; 58)} = 2,0017$;

$$S_Y = \sqrt{0,00002 + (0,0000008) + (0,0000006)(1,13017 - 0,95833)^2}$$

$$S_Y = 0,00405$$

$$u(y_i) = \pm(2,0017)(0,00405) = \pm 0,00811$$

E o intervalo de confiança para y_i , dado por (3.36) será:

$$y_i \in [0,280 \pm 0,008]$$

Com a incerteza associada a x ,

$$u(x) = \frac{S_Y}{A} = \frac{0,00405}{0,23582} = 0,01717$$

O intervalo *fiducial* associado à incerteza dos valores obtidos nos eixos das abcissas (3.41) é:

$$x_i \in \left[1,13017 \pm \frac{2,0017(0,00405)}{0,23582} \right]$$

$$x_i \in [1,130 \pm 0,034]$$

Ou seja, com 95% de confiança a concentração do elemento na solução encontra-se entre 1,096 e 1,164 mgL⁻¹. Em percentagem, a incerteza devido à função de calibração representa 3,0%.

A Figura 6.3 ilustra o intervalo de confiança de Working-Hotelling para o valor observado = 1,130 mgL⁻¹

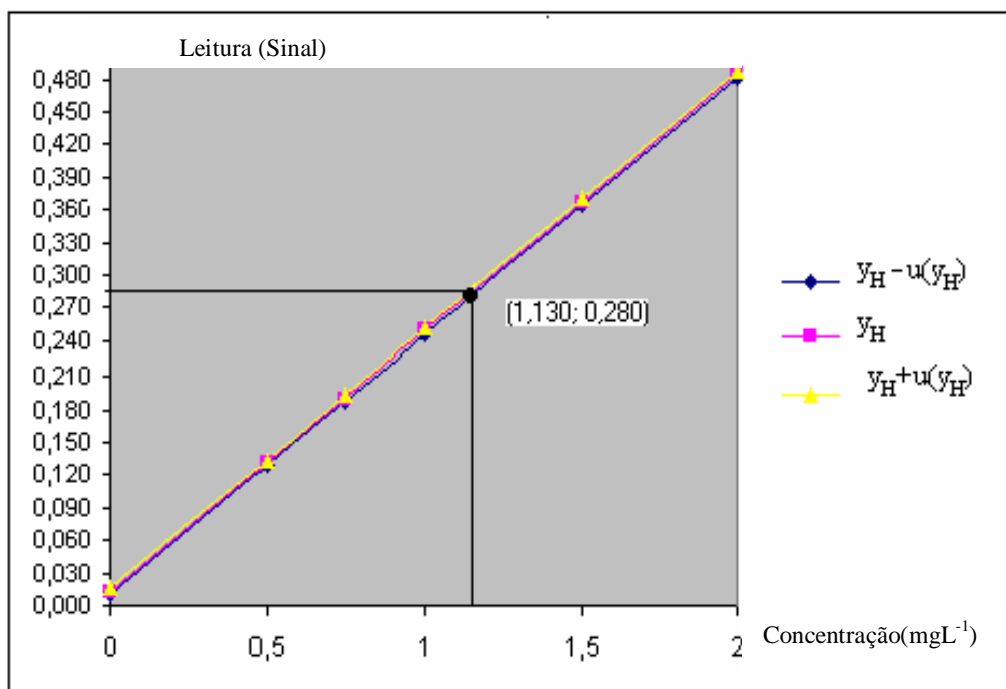


Figura 6.3. Intervalo de confiança de Working-Hotelling para um valor de concentração de $x_0=1,130 \text{ mgL}^{-1}$

6.1.7

Incerteza padrão combinada

Para a concentração de $1,130 \text{ mg L}^{-1}$ a incerteza combinada para a massa de $28,25 \text{ mg}$ nesta concentração (sinal correspondente $0,280$) é:

$$\frac{u_{(c)}}{28,250} = \sqrt{(0,01241)^2 + (0,00257)^2 + (0,01519)^2}$$

$$u(c) = \pm 0,559$$

Expresso por:

$$(28,250 \pm 0,559) \text{ mg}$$

Tabela 6.3. Combinações das incertezas

Fonte	y	u(y)	u(y)/y
Diluição da massa inicial		0,01241	0,01241
Fator de diluição	10	0,02574	0,00257
x observado	1,130	0,01717	0,01519

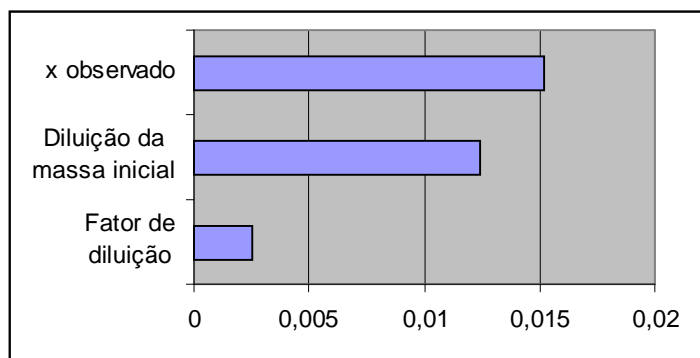


Figura 6.4. Incerteza da curva de calibração em y para calcular a incerteza de x

6.1.8

Incerteza expandida

A incerteza combinada expandida U , dada por:

$$U = \pm 2 \times (0,559) = \pm 1,118 \text{ mg}$$

Resultado = $28,250 \pm 1,118 \text{ mg}$, com $U\% = 4\%$.

6.2

Exemplo 2 – Modelagem da curva de calibração

Com o exemplo numérico apresentado a seguir pretende-se ilustrar e aplicar a metodologia sumariada no fluxograma da Figura 3.2, para a obtenção da *curva de calibração*.

Foram simuladas duas séries de dados representando observações feitas em dias diferentes, cada série com cinco replicatas para cada uma das seguintes concentrações em mg L^{-1} : 0,00; 0,50; 0,75; 1,00; 1,50 e 2,00.

6.2.1

Etapas A₁ - Gráfico de cada uma das séries como função das concentrações

A *curva de calibração* é uma função monótona da resposta, sendo determinada por métodos de estimação. Observou-se que há descontinuidade da curva a partir da concentração $2,00 \text{ mg L}^{-1}$. Nesta etapa, testa-se a linearidade da *curva de calibração* através da observação visual do gráfico, do cálculo do R^2 e do teste de ajuste linear.

Os dados são apresentados nas Tabela 6.4 e 6.5 com os seus respectivos gráficos, conforme Figuras 6.5 e 6.6.

Tabela 6.4 Série 1: variação do sinal em função da concentração

Concentração (mg L ⁻¹)	Sinal	Concentração (mg L ⁻¹)	Sinal
0,00	0,012	1,00	0,240
0,00	0,013	1,00	0,249
0,00	0,014	1,00	0,253
0,00	0,016	1,00	0,250
0,00	0,017	1,00	0,247
0,50	0,137	1,50	0,368
0,50	0,134	1,50	0,369
0,50	0,131	1,50	0,363
0,50	0,130	1,50	0,365
0,50	0,132	1,50	0,367
0,75	0,186	2,00	0,484
0,75	0,185	2,00	0,488
0,75	0,190	2,00	0,489
0,75	0,192	2,00	0,490
0,75	0,187	2,00	0,483

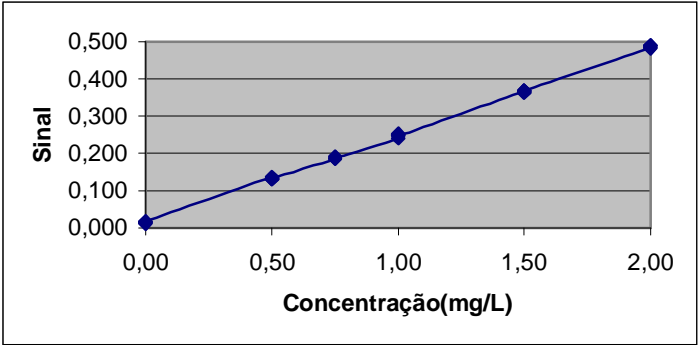


Figura 6.5. Ajuste da série 1: variação do sinal em função da concentração

Tabela 6.5 Série 2: variação do sinal em função da concentração

Concentração (mg L ⁻¹)	Sinal	Concentração (mg L ⁻¹)	Sinal
0,00	0,015	1,00	0,252
0,00	0,018	1,00	0,251
0,00	0,016	1,00	0,249
0,00	0,014	1,00	0,252
0,00	0,012	1,00	0,242
0,50	0,131	1,50	0,380
0,50	0,135	1,50	0,364
0,50	0,130	1,50	0,362
0,50	0,134	1,50	0,363
0,50	0,129	1,50	0,360
0,75	0,190	2,00	0,485
0,75	0,187	2,00	0,489
0,75	0,193	2,00	0,493
0,75	0,181	2,00	0,485
0,75	0,190	2,00	0,482

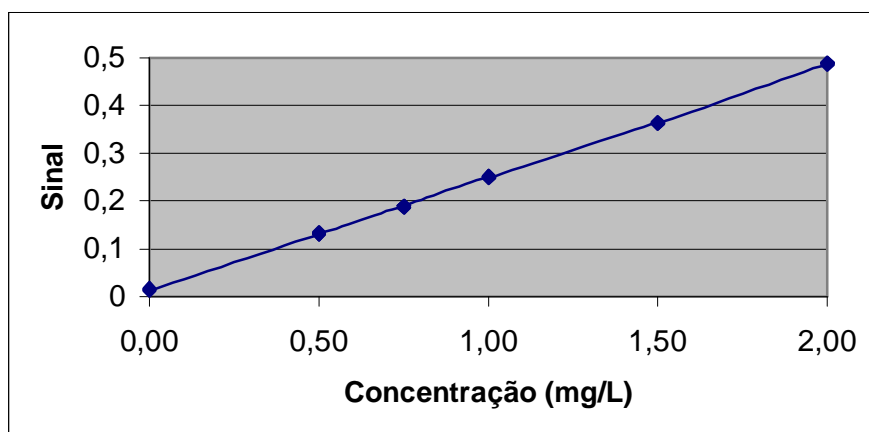


Figura 6.6. Ajuste da série 2: variação do sinal em função da concentração

As Séries 1 e 2 apresentaram $R^2 = 0,9996$ e $0,9997$, respectivamente. O teste de ajuste linear da primeira série apresentou $F = 1,7367 < F_{5\% (4;24)} = 2,7763$, ou seja, ao nível de significância de 5% a relação entre a resposta e a concentração é linear. O mesmo acontece com a segunda série onde: $F = 0,807042$ (Tabelas 6.6 e 6.7).

Tabela 6.6 Série 1: Análise de variância para o ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, de um modelo linear com os parâmetros, $n = 5$, $b = 6$ e $p = 2$.

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F
Regressão	1	0,710114	0,710114	1,755717
Resíduo	28	0,000309	0,000011	
Ajuste	4	0,000070	0,000017	
Erro Puro	24	0,000239	0,000010	
Total	29	0,710423		

Tabela 6.7 Série 2: Análise de variância para o ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, de um modelo linear com os parâmetros, $n = 5$, $b = 6$ e $p = 2$.

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F
Regressão	1	0,709112	0,709112	0,807042
Resíduo	28	0,000593	0,000021	
Ajuste	4	0,000074	0,000019	
Erro Puro	24	0,000550	0,000023	
Total	29	0,667617		

6.2.2

Etapa A₂ – Determinação dos resíduos de cada uma das séries

A determinação dos resíduos é necessária para a avaliação das pressuposições de normalidade e homogeneidade de variância dos mesmos, bem como a verificação de *dados discrepantes* (*outliers*).

Para ambas as séries, obtiveram-se 0,522 e 0,211 para o valor-P do teste de Anderson-Darling; portanto, aceita-se a hipótese H_0 de normalidade dos resíduos para ambas, ao nível significância de 5%.

Se os resíduos seguem distribuição normal, para resíduos padronizados, valores superiores em módulo a três são considerados *dados discrepantes*.

Os resíduos padronizados da Série 1 pertencem ao intervalo [-2,809, 1,760], não superando o valor três.

Além disso, utiliza-se o teste de Grubbs para o menor sinal, 0,012, pela fórmula (3.31):

$$G_1 = \frac{0,2394 - 0,012}{0,1565} = 1,4527$$

Como $G_1 < G_{5\% (30)} = 2,8095$ o sinal 0,012 não é considerado um *dado discrepante*.

Os resíduos padronizados da Série 2 pertencem ao intervalo [-2,0681, 2,8392].

Utilizando-se o teste de Grubbs para o maior sinal da série, obtém-se, pela fórmula (3.32):

$$G_2 = \frac{0,4900 - 0,2395}{0,15307} = 1,615$$

Como $G_2 < G_{5\% (30)} = 2,8095$ o sinal 0,4900 não é considerado um *dado discrepante*.

Para testar a pressuposição de homogeneidade de variância, conduziu-se para cada série o teste de Bartlett, a partir das expressões (3.33).

Os desvios-padrão de cada concentração para Série 1 são: 0,00207; 0,00277; 0,00292; 0,00478; 0,00241; 0,00311 e $S_C = 0,00315$. Assim,

$$q = 24 \log(0,00315^2) - \{ (4 \log(0,00207^2) + 4 \log(0,00277^2) + 4 \log(0,00292^2) + 4 \log(0,00478^2) + 4 \log(0,00241^2) + 4 \log(0,00311^2)) \}$$

$$q = -120,081 - (-121,711) = 1,630$$

$$\text{Com } c = 1 + \frac{1}{15} \left(\frac{6}{4} - \frac{1}{24} \right) = 1,097$$

$$\text{Logo, } \chi^2 = 2,3026 \frac{1,630}{1,097} \cong 3,420 \text{ e } \chi^2_{5\%(5)} = 11,0705$$

Como $\chi^2 < 11,0705$ e valor-P = 0,629 não se pode rejeitar H_0 ; ou seja, as variâncias podem ser consideradas iguais.

Os desvios-padrão da concentração para a Série 2 são: 0,00224; 0,00259; 0,00455; 0,00421; 0,00807; 0,00427; $S_C = 0,00472$. Assim,

$$q = 24 \log(0,00472^2) - \{ (4 \log(0,00224^2) + 4 \log(0,00259^2) + 4 \log(0,00455^2) + 4 \log(0,00421^2) + 4 \log(0,00807^2) + 4 \log(0,00427^2)) \}$$

$$q = -111,651 - (-115,335) = 3,6840$$

$$\text{Com } c = 1 + \frac{1}{15} \left(\frac{6}{4} - \frac{1}{24} \right) = 1,097$$

$$\text{Logo, } \chi^2 = 2,3026 \frac{3,6840}{1,097} \cong 7,728 \text{ e } \chi^2_{5\%(5)} = 11,0705$$

Como $\chi^2 < 11,0705$ e valor-P = 0,172 não pode-se rejeitar H_0 ; ou seja as variâncias podem ser consideradas iguais.

6.2.3

Etapa A₃ – Composição da resposta a partir das séries

Depois das análises das séries individualmente verificadas, deve-se fazer a composição das mesmas para a obtenção de uma única série, reunindo todos os pontos das duas num único conjunto. O gráfico da série resultante é apresentado na Figura 6.7, ou:

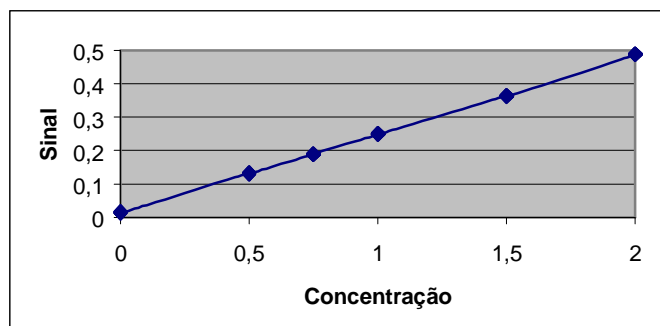


Figura 6.7. Ajuste dos dados a partir das duas séries.

6.2.4

Etapa A₄ – Heterogeneidade da variância

Na etapa A₄ procedem-se aos testes de normalidade e homogeneidade de variância para a série resultante, obtida a partir da composição das Séries 1 e 2.

O teste de Anderson-Darling forneceu valor-P=0,234, portanto aceita-se a pressuposição de normalidade ao nível de significância $\alpha = 5\%$ (Figuras 6.8).

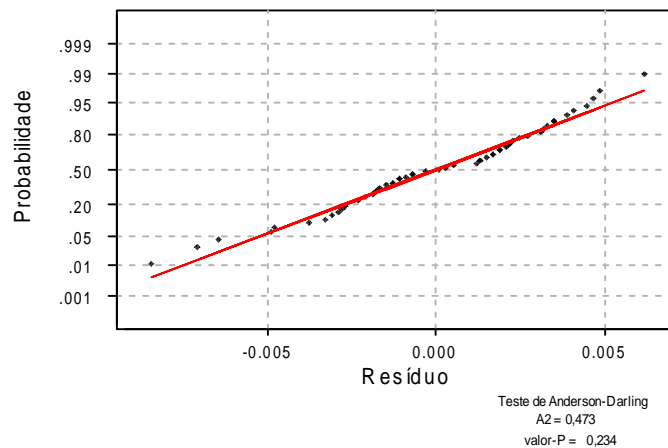


Figura 6.8. Diagrama de normalidade dos resíduos da série resultante.

Os desvios-padrão de concentração para a série resultante são: 0,00206; 0,00258; 0,00360; 0,00435; 0,0030; 0,00352; e $S_C = 0,00327$. Logo,

$$q = 54 \log(0,00327^2) - \{ (9 \log(0,00206^2) + 9 \log(0,00258^2) + 9 \log(0,00360^2) + 9 \log(0,00435^2) + 9 \log(0,0030^2) + 9 \log(0,00352^2)) \}$$

$$q = -268,423 - (-271,009) = 2,5858$$

$$\text{Com } c = 1 + \frac{1}{15} \left(\frac{6}{9} - \frac{1}{54} \right) = 1,0432 \text{ e } \chi^2 = 2,3026 \frac{2,5858}{1,0432} \cong 5,707$$

$$\text{e } \chi^2_{5\%(5)} = 11,0705$$

Como $\chi^2 < 11,0705$ e valor-P = 0,334, não pode-se rejeitar H_0 , ou seja, as variâncias podem ser consideradas iguais. Este valor e o intervalo de confiança de 95% para as estimativas dos desvios-padrão podem ser observados no gráfico da Figura 6.9.

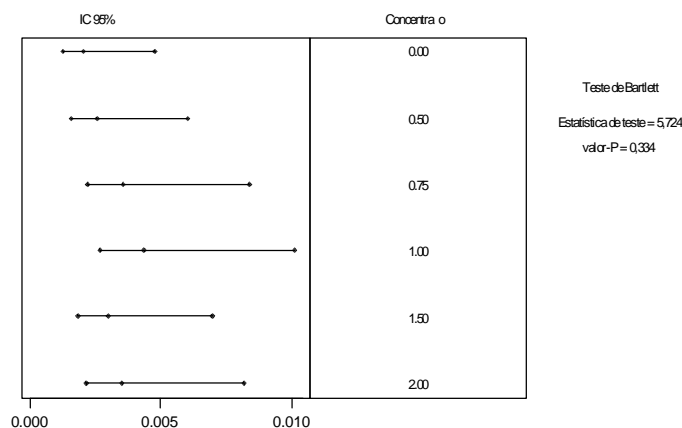


Figura 6.9 Diagrama de homogeneidade de variância para a série resultante.

6.2.5

Etapa A₅ – Avaliação da linearidade

Para verificar a etapa A₅, referente à regressão obtida pelo método dos mínimos quadrados, efetuam-se os seguintes testes: de ajuste de modelo linear, de validade da regressão, de eficiência e de eficiência máxima.

A estatística para o teste de ajuste de modelo linear pode ser obtida da Tabela 6.8, com $F' = QM_{Faj} / QM_{EP}$. Como $F' = 0,01109 \leq F'_{5\% (4; 54)} = 2,5425$, aceita-se a hipótese H_0 de linearidade (ou ajuste) do modelo, ao nível de significância de 5%.

A estatística para o teste de validade de regressão pode ser obtida na Tabela 6.8 de análise de variância, com $F'' = QM_{Reg}/QM_R$. O valor de F'' é bem maior do que $F''_{5\% (1;58)} = 4,0069$; logo, rejeita-se a hipótese $H_0: \beta=0$, ao nível de significância de 5%, ou seja, há regressão.

Aceitando-se a validade da regressão, calcula-se sua eficiência a partir de:

$$R^2 = \frac{SQ_{\text{Reg}}}{SQ_{\text{Total}}}$$

Para o exemplo, tem-se que:

$$R^2 = \frac{1,41923}{1,42013} = 0,99936$$

O valor desejado para R^2 é teoricamente 1, mas na prática, aceita-se valores acima de 0,9500 como eficientes (Chui *et al.*, 2001).

A eficiência máxima, $R^2_{\text{Máx}}$, é calculada a partir da máxima variação explicável da regressão, utilizando a seguinte equação:

$$R^2_{\text{Máx}} = \frac{SQ_{\text{Total}} - SQ_{\text{EP}}}{SQ_{\text{Total}}}$$

Para o exemplo, a eficiência máxima é:

$$R^2_{\text{Máx}} = \frac{1,42013 - 0,14647}{1,42013} = 0,89686$$

Tabela 6.8 Análise de variância para o ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, de um modelo linear com os parâmetros, $n = 10$, $b = 6$ e $p = 2$.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F
Regressão	1	1,41923	1,41923	0,01109
Resíduo	58	0,00090	0,00002	
Ajuste	4	0,00012	0,00003	
Erro Puro	54	0,14647	0,00271	
Total	59	1,42013		

6.2.6

Etapa A₆ – Modelo linear resultante

Uma vez que o ajuste é linear, procede-se à etapa A₆, com os cálculos do *mínimo valor detectável* e do *mínimo valor quantificável*, a partir dos valores da Tabela 6.8.

As estimativas dos coeficientes da *curva de calibração* e o intervalo de confiança para as estimativas conjuntas de A e B, equações 3.46 a 3.47, encontram-se na Tabela 6.9 e a *curva de calibração* é mais bem representada por:

$$\hat{y} = 0,01342 + 0,23582x, \quad R^2 = 0,99936$$

(0,00091) (0,00078)

Tabela 6.9 Estimativas dos coeficientes da curva de calibração a partir da distribuição conjunta e estatísticas, ao nível de significância $\alpha=5\%$.

Estimativas	Coeficientes	Erro padrão	t $1-\alpha/4$ (58)	Limite inferior	Limite superior
B	0,01342	0,00091	2,30110	0,01134	0,01551
A	0,23582	0,00078	2,30110	0,23402	0,23762

O *mínimo valor detectável* é dado por:

$$x_D = \frac{3,29S}{A} = \frac{3,29\sqrt{0,00002}}{0,23582} = 0,05503 \text{ mg L}^{-1}$$

Com

$$y_D = 0,01342 + 0,23582(0,05503) = 0,02640$$

e

$$S = \sqrt{QM_r} = 0,00394 \text{ (Tabela 6.7).}$$

O *mínimo valor quantificável* ou *limite de quantificação* é dado por:

$$x_Q = \frac{10\sqrt{0,00002}}{0,23582} = 0,16727 \text{ mg L}^{-1}$$

Com

$$y_Q = 0,01342 + 0,23582(0,16727) = 0,05287$$

Pode-se observar que a menor concentração diferente do branco é $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ maior do que o *mínimo valor detectável* e do que o *mínimo valor quantificável*.

6.3

Exemplo 3 – Especificidade do método

Neste exemplo, ilustra-se o segundo projeto experimental para validação de métodos analíticos a partir da especificidade do método.

Considera-se a relação entre a fortificação, f , e a recuperação, r , como:

$$r_j = c_0 + c_1 f_j + \varepsilon_j, \quad j=1,2,\dots,10$$

A Tabela 6.10 mostra os resultados da fortificação, pela adição de um padrão a um conjunto de dez amostras selecionadas como representativas da utilização do método.

Tabela 6.10. Adição de padrão em amostras usando o método alternativo (em g de glicose por 100g de amostra).

Amostra	Quantidade	Adição	Mensuração	Recuperação
1	0,430	0,440	0,790	0,390
2	0,620	0,660	1,040	0,500
3	0,740	0,850	0,980	0,300
4	1,270	1,340	2,320	1,120
5	1,640	1,820	3,520	1,810
6	2,110	2,210	4,420	2,310
7	2,300	2,650	4,890	2,610
8	2,360	2,450	4,690	2,730
9	3,650	3,750	7,020	3,450
10	4,260	6,120	9,490	5,500

O teste de hipóteses simultâneas é:

$$\left\{ \begin{array}{l} H_0 : \begin{bmatrix} c_0 \\ c_1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix} \\ H_1 : \begin{bmatrix} c_0 \\ c_1 \end{bmatrix} \neq \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix} \end{array} \right.$$

Os coeficientes c_0 e c_1 e estatísticas de testes obtidos através dos mínimos quadrados são apresentadas na Tabela 6.11, assim com a análise de variância na Tabela 6.12, a seguir

Tabela 6.11. Coeficientes de regressão e estatísticas, ao nível de significância de $\alpha=5\%$.

Coeficiente	Valor	Erro padrão	t	valor-P	Limite inferior	Limite superior
c_0	-0,02710	0,14837	-0,18264	0,85962	-0,36923	0,31503
c_1	0,94172	0,05386	17,48516	0,00000	0,81752	1,06592

Tabela 6.12. Análise de variância

Fonte de Variação	Grau de liberdade	SQ	MQ	F
Regressão	1	23,23634	23,23634	305,73096
Resíduo	8	0,60802	0,07600	
Total	9	23,84436		

A relação entre a recuperação e a fortificação da mostra é:

$$\hat{f} = -0,02710 + 0,94172 f, \quad R^2 = 0,97450$$

(0,14837) (0,05386)

A estatística de teste F é obtida pela expressão (4.3) é:

$$F_{\text{Calculado}} = \frac{b(c_0 - 0)^2 + 2\left(\sum_{j=1}^b x_j\right)(c_0 - 0)(c_1 - 1) + \left(\sum_{j=1}^b x_j^2\right)(c_1 - 1)^2}{2QM_r}$$

com $nb=10$; $n=1$; $b=10$; $\sum_{j=1}^{10} x_j = 22,290$; $\sum_{j=1}^{10} x_j^2 = 75,8857$.

$$F = \frac{10(-0,02710 - 0)^2 + 2(22,290)(-0,02710 - 0)(0,94172 - 1) + 75,8857(0,94172 - 1)^2}{2(0,07600)}$$

$$F = \frac{0,33548}{0,15201} = 2,20703 \text{ e } F_{\text{Crítico}} = F_{95\% (2; 8)} = 4,4590.$$

Como $F < F_{\text{Crítico}}$, aceita-se H_0 ao nível de significância de $\alpha=5\%$, ou seja, o método é específico.

6.4

Exemplo 4 - Avaliação da exatidão do método analítico

Tem sido bastante discutido o procedimento de comparação do desempenho (precisão e tendência) de um método alternativo e de um método de referência, baseado nas adaptações da ISO 5725-6 para situações intralaboratoriais.

Essas novas abordagens não avaliam a reprodutibilidade, mas a precisão intermediária devida a diferenças entre o operador, instrumento, tempos de análise, etc.

Este exemplo ilustra essa abordagem e apresenta a avaliação da tendência do método analítico quando comparado a um método de referência, bem como a estimativa dos componentes de variância (repetitividade e precisão intermediária), obtidos pelo modelo hierárquico.

No método B (a ser testado) prepara-se a amostra com uma mistura de ácido, dissolve-se o analito em ácido diluído e, então, a solução é analisada. Decidiu-se que o número de replicatas deveria ser dois, sendo a análise feita em cada dia, pelo mesmo analista e instrumento.

O método de referência A é baseado no tratamento da amostra com os mesmos ácidos, mas a solução final contendo o elemento é determinada por AAS. Analogamente, para este método, decidiu-se que o número de replicatas deve ser dois, com a análise feita em cada dia, pelo mesmo operador e instrumento.

As estimativas dos desvios-padrão associados à repetitividade e à influência do dia na análise, para um número dez dias, para o método A são $S_r = 0,15492$ e $S_D = 0,27386$.

Foi acordado que o número de dias para as análises dos métodos deveria ser igual ($b_B = b_A$); a menor tendência que é importante detectar é $\lambda = 0,50\%$ e a razão “significativa” entre os desvios-padrão dos dois métodos é $\rho = 3$.

6.4.1

Determinação do número de dias para avaliação da tendência do método

6.4.1.1

Para detectar λ

Como $b_B = b_A$ e $n_B = n_A$ e está sendo avaliada apenas a precisão intermediária devido a diferentes dias, considerando apenas um operador e um instrumento para cada método (isto é, $m_B = m_A = 1$ e $q_B = q_A = 1$), pode-se então calcular o número de dias necessários para a avaliação da tendência do método, através de (5.16).

$$3,835 \sqrt{\frac{2(0,07500) + (0,02400/2)}{10}} = 0,50587$$

Pois $v_A = 2a_A b_A c_A - 2 = [2 \times (1 \times 1 \times 10) - 2] = 18$ graus de liberdade e $(t_{\alpha/2} + t_\beta) = 3,835$, $0,50587 > 0,50000$, logo dez dias são insuficientes para conduzir as análises com os dois métodos.

Considerando-se $c_A = 11$ dias, $v_A = [2 \times (1 \times 1 \times 11) - 2] = 20$ graus de liberdade e $(t_{\alpha/2} + t_\beta) = 3,811$, logo:

$$3,811 \sqrt{\frac{2(0,07500) + (0,02400/2)}{11}} = 0,47931$$

Como $0,50000 > 0,47931$, para se detectar a tendência λ , são necessários $c_A = c_B = 11$ dias.

6.4.1.2

Para comparar a precisão

Da Tabela 5.4(a), pode-se observar que com os graus de liberdade $v_A = v_B = 10$ para $p = 2,98$ ou $\Phi I(T) = 2,98 \cong 3$, que é a menor razão admissível:

- Para calcular o desvio-padrão que representa a repetitividade:

$$v_A = a_A b_A c_A - 1 = 1 \times 1 \times 10 = 10 \text{ e } v_B = a_B b_B c_B - 1 = 1 \times 1 \times 10 = 10$$

- Para calcular o desvio-padrão que representa a diferentes dias de análise:

$$v_A = a_A b_A (c_A - 1) = 1 \times 1 \times 9 = 9 \text{ e } v_B = a_B b_B (c_B - 1) = 1 \times 1 \times 9 = 9$$

Mas para $v_A = v_B = 9$, $\Phi I(T) = 3,18$ superando a menor razão admissível, logo a quantidade de dias necessários, $c_A = c_B = 11$ dias.

Os resultados de onze amostras em duplicatas de cada método estão na Tabela 6.13.

Tabela 6.13. Resultados analíticos (em mg) do método B e método de referência A

Amostra	Método A		Método B	
	Replicata 1	Replicata 2	Replicata 1	Replicata 2
1	34,680	34,770	34,290	34,360
2	34,080	34,380	34,510	34,380
3	35,390	35,330	34,450	34,490
4	34,870	34,980	34,590	34,510
5	34,700	34,950	34,400	34,430
6	34,930	34,950	34,450	34,540
7	34,780	34,970	34,570	34,550
8	34,920	35,200	34,290	34,360
9	35,340	34,890	34,820	34,870
10	35,120	35,260	34,440	34,470
11	35,450	35,530	34,530	34,640
Média	34,976		34,497	

6.4.2 Cálculo dos componentes de variância

As Tabelas 6.14 e 6.15 apresentam a análise de variância do método A e as componentes de variância do método.

No cálculo das componentes de variância para o exemplo, a partir da análise de variância, sabe-se que o modelo pressupõe a homogeneidade e normalidade dos resíduos.

Para o método A, o teste de homogeneidade de variância de Bartlett, com a estatística $\chi^2 = 7,871$ e valor-P=0,641 apresenta-se não significativo, o mesmo ocorrendo com o teste de Anderson-Darling, para normalidade dos resíduos, com $A^2=0,092$ e valor-P=0,997.

Tabela 6.14. Análise de variância para o método A

Fonte de variação	Graus de liberdade	SQ	QM	F
Dia	10	2,28048	0,22805	9,65376
Resíduo	11	0,25985	0,02362	
Total	21	2,54033		

Tabela 6.15. Componentes de variância do método A

Componente	Obtenção	Valor
Repetitividade, S^2_{rA}	$S^2_{rA}=QM_r$	0,02362
Entre dias, S^2_{DA}	$S^2_{DA}=(QM_{DA}-QM_r)/2$	0,10221
Intermediária, $S^2_{I(TA)}$	$S^2_{I(TA)}=S^2_{DA}+S^2_{rA}$	0,12584
Média, $S^2_{(Y_{ijkA})}$	$S^2_{(Y_{ijkA})}=S^2_{DA}+S^2_{rA}/n_A$	0,23986

As Tabelas 6.16 e 6.17 apresentam a análise de variância do método B e as componentes de variância do método.

Para o método B, o teste de homogeneidade de variância de Bartlett, com a estatística $\chi^2 = 4,313$ e valor-P=0,932 apresenta-se não significativo, bem como o teste de Anderson-Darling, para normalidade dos resíduos, com $A^2=0,315$ e valor-P=0,519.

Tabela 6.16. Análise de variância para o método B

Fonte de variação	Graus de liberdade	SQ	QM	F
Dia	10	0,41344	0,04134	15,26107
Resíduo	11	0,02980	0,00271	
Total	21	0,44324		

Tabela 6.17. Componentes de variância do método B.

Componente	Obtenção	Valor
Repetitividade, S^2_{rB}	$S^2_{rB}=QM_r$	0,00271
Entre dias, S^2_{DB}	$S^2_{DB}=(QM_{DB}-QM_r)/2$	0,01932
Intermediária, $S^2_{I(TB)}$	$S^2_{I(TB)}=S^2_{DB}+S^2_{rB}$	0,02203
Média, $S^2_{(Y_{ijkB})}$	$S^2_{(Y_{ijkB})}=S^2_{DB}+S^2_{rB}/n_B$	0,04270

6.4.3

Comparação da precisão

6.4.3.1

Repetitividade

As repetitividades de cada método são comparadas através do teste F:

$$F_r = \frac{S^2_{rB}}{S^2_{rA}} = \frac{0,00271}{0,02362} = 0,11468$$

Como $F_r < F_{5\% (11;11)} = 2,8179$, a repetitividade do método B não é significativa quando comparada ao método A, diferindo-se dela por um fator <3.

6.4.3.2

Precisão intermediária devida a diferentes dias de análise

Inicialmente é necessário testar $\sigma^2_{rA} = \sigma^2_{rB}$,

$$F_r = \frac{S_1^2}{S_2^2} = \frac{0,02362}{0,00271} = 8,71980$$

Onde $S_1^2 = \max(S^2_{rA}, S^2_{rB})$.

Como $F_r > F_{2,5\% (11;11)} = 3,4737$, conclui-se que as repetitividades dos métodos são consideradas estatisticamente diferentes, $(\sigma^2_{rA} \neq \sigma^2_{rB})$.

De fato, a repetitividade do método B é melhor do que a do método A.

A comparação da precisão intermediária é feita como se segue:

$$F_{I(T)} = \frac{S^2_{I(T)B}}{S^2_{I(T)A}} = \frac{0,02203}{0,12584} = 0,17504$$

$$v_{I(T)B} = \frac{(0,02203)^2}{(0,01932/2)^2/10 + (0,00271/2)^2/11} \cong 52$$

$$v_{I(T)A} = \frac{(0,12584)^2}{(0,10221/2)^2/10 + (0,02362/2)^2/11} \cong 58$$

Como $F_{I(T)} < F_{5\% (52;58)} = 1,5604$, conclui-se que a precisão intermediária devida a diferentes dias de análise do método B é aceitável, diferindo-se por um fator < 3 do método A.

6.4.4

Avaliação da tendência do método

É feita uma comparação entre as médias gerais dos dois métodos, utilizando o teste t de *Student*, sendo inicialmente necessário testar as variâncias das médias dos métodos $(\sigma^2_{(\bar{y}j k)_A} = \sigma^2_{(\bar{y}j k)_B})$

$$F = \frac{0,23986}{0,04270} = 5,61756$$

Como $F > F_{2,5\%}(10;10) = 3,7168$, conclui-se que há evidência de que as variâncias das médias dos dois métodos sejam diferentes; conseqüentemente S_d e seus graus de liberdade v_d são obtidos a partir (5.33) e (5.34):

$$S_d = \sqrt{\frac{0,23986}{11} + \frac{0,04270}{11}} = 0,16027$$

$$v_d = \frac{(0,02569)^2}{(0,23986/11)^2 / 10 + (0,04270/11)^2 / 10} \cong 14$$

A estatística t é calculada como:

$$t = \frac{|34,976 - 34,497|}{0,16027} = 2,98867$$

Como $t > t_{2,5\%}(14) = 2,1448$, as médias dos dois métodos são significativamente diferentes ao nível $\alpha=5\%$.

Para avaliar se a tendência de um método é aceitável, obtem-se o limite superior do intervalo de confiança, LSC, a 95% e compara-se este limite com o valor de λ , determinado *a priori*, em (5.28):

$$LSC = |34,976 - 34,497| + 1,7613(0,16027) = 0,76126$$

Como o LSC $> 0,5$, a menor tendência que é importante detectar, λ , a tendência do método B não é aceitável.