

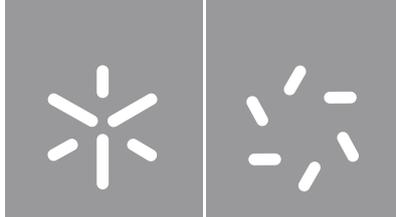


Validação dos métodos de análise de AdBlue® pela norma ISO 22241-2

Francisca Beatriz Ferreira da Silva

Universidade do Minho
Escola de Ciências





Universidade do Minho
Escola de Ciências

Francisca Beatriz Ferreira da Silva

**Validação dos métodos de análise de AdBlue®
pela norma ISO 22241-2**

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química

Trabalho efetuado sob a orientação da
Professora Doutora Maria Dulce Silva Geraldo
e da
Engenheira Sofia Alexandra Fernandes Oliveira

Direitos de autor e condições de utilização do trabalho por terceiros

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações
CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Agradecimentos

“O caminho faz-se caminhando” e há que agradecer a quem tornou este caminho tão esplêndido e gratificante.

Ao Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química, do Departamento de Química da Universidade do Minho e ao Grupo RNM pela oportunidade de estágio que me permitiu concluir mais uma etapa da minha vida académica.

À professora doutora Dulce Geraldo por toda a disponibilidade, preocupação, carinho demonstrado e por me ajudar a cumprir este objetivo.

À engenheira Sofia Oliveira pelo acolhimento, ajuda, amizade e por me ter mostrado como funciona o mundo empresarial.

À equipa do laboratório da RNM pelos bons momentos vividos, pelas experiências partilhadas e por me terem feito “sentir em casa” durante estes meses.

Aos meus pais e irmão por serem o meu porto de abrigo, por me incentivarem a lutar pelos meus sonhos e, sobretudo, por me ajudarem a concretizá-los.

Aos meus amigos pelo apoio constante, pelos momentos inesquecíveis que me proporcionaram e por caminharem lado a lado comigo.

A todos, o meu maior obrigada!

Declaração de integridade

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Validação dos métodos de análise de AdBlue® pela norma ISO 22241-2

Resumo

O presente trabalho teve como principal intuito a verificação de cinco dos métodos de análise presentes na norma ISO 22241-2, que permitem controlar a qualidade do AdBlue®, um produto essencial na redução das emissões de óxidos de nitrogénio em veículos a diesel. O AdBlue® é uma solução aquosa de ureia de alta pureza que converte os óxidos de nitrogénio em componentes naturais do ar, como nitrogénio molecular e água.

Os métodos analíticos estudados incluem a determinação do teor de ureia pelo índice de refração, alcalinidade, matéria insolúvel, teor de fosfato e de biureto. O desempenho de cada método foi avaliado comparando os critérios de aceitação definidos na norma ISO 22241-2 ou estipulados internamente, visando determinar a adequação de cada método ao propósito proposto.

De acordo com o estipulado na referida norma, para cada método foram utilizadas diversas metodologias para avaliar os limiares analíticos, a precisão em diversas condições e a justeza. Nos métodos instrumentais de análise foi ainda avaliada a linearidade, a estabilidade da reta de calibração e a gama de trabalho. Além disso, em todos os métodos de análise foi obtida uma estimativa da incerteza do método baseada em dados de validação e de controlo de qualidade.

Os resultados indicaram que os métodos foram devidamente verificados e que podem ser utilizados para avaliar a qualidade do produto AdBlue®, assegurando que este cumpra as especificações descritas na norma ISO 22241-2. Assim é possível garantir a comercialização adequada deste produto químico pela RNM e, assim, contribuir para a redução dos poluentes atmosféricos e seus impactos negativos no meio ambiente e na saúde pública.

Palavras-chave: AdBlue®; ISO 22241-2; Óxidos de nitrogénio; Verificação de métodos de análise

Validation of AdBlue® analysis methods by the ISO 22241-2 standard

Abstract

The main objective of this work was to verify five of the analysis methods present in the ISO 22241-2 standard, which allow controlling the quality of AdBlue®, an essential product in the reduction of nitrogen oxides emissions in diesel vehicles. AdBlue® is a high-purity aqueous urea solution that converts nitrogen oxides into natural air components such as molecular nitrogen and water.

The analytical methods studied include the determination of urea content by refractive index, alkalinity, insoluble matter, phosphate and biuret content. The performance of each method was evaluated by comparing the acceptance criteria defined in the ISO 22241-2 standard or stipulated internally, aiming to determine the suitability of each method for the proposed purpose.

As stipulated in the aforementioned standard, for each method diverse methodologies were used to assess the analytical thresholds, precision under diverse conditions and trueness. In the instrumental methods of analysis, the linearity, the stability of the calibration curve and the working range were also evaluated. In addition, for all analysis methods, an estimate of the uncertainty of the method was obtained based on validation and quality control data.

The results indicated that the methods were properly verified and that they can be used to evaluate the quality of the AdBlue® product, ensuring that it complies with the specifications described in the ISO 22241-2 standard. Thus, it is possible to guarantee the adequate commercialization of this chemical product by RNM and, thus, contribute to the reduction of atmospheric pollutants and their negative impacts in the environment and public health.

Keywords: AdBlue®; ISO 22241-2; Nitrogen oxides; Verification of analysis methods

Índice

Direitos de autor e condições de utilização do trabalho por terceiros	ii
Agradecimentos	iii
Declaração de integridade.....	iv
Resumo.....	v
Abstract	vi
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	xiv
Índice de Figuras.....	xxi
Índice de Tabelas	xxiii
1. Introdução.....	1
1.1. Enquadramento.....	2
1.2. Apresentação da empresa	2
1.3. Poluição atmosférica: problemas e soluções.....	3
1.4. Tecnologia SCR	5
1.5. AdBlue®: especificações.....	6
1.6. Métodos de análise	9
1.6.1. Determinação da concentração de ureia pelo índice de refração	9
1.6.2. Determinação da alcalinidade.....	12
1.6.3. Determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico.....	14
1.6.4. Determinação do teor de fosfato.....	15
1.6.5. Determinação do teor de biureto	17
1.7. Validação de métodos analíticos.....	18
1.7.1. Reta de calibração.....	19
1.7.2. Sensibilidade	21
1.7.3. Gama de trabalho.....	22
1.7.4. Limiares analíticos.....	23

1.7.5.	Precisão	24
1.7.5.1.	Repetibilidade	25
1.7.5.2.	Precisão intermédia	25
1.7.5.3.	Repetibilidade e precisão intermédia	26
1.7.6.	Justeza	27
1.7.6.1.	Ensaio interlaboratoriais.....	27
1.7.6.2.	Ensaio de recuperação.....	28
1.7.6.3.	Materiais de referência.....	29
1.7.7.	Incerteza de medição	29
1.7.7.1.	Abordagem passo a passo.....	30
1.7.7.2.	Abordagem baseada em dados de validação e controlo de qualidade	32
1.7.8.	Testes estatísticos.....	34
1.7.8.1.	Teste de Grubbs.....	34
1.7.8.2.	Teste t.....	35
1.7.9.	Cartas de controlo de médias ou de indivíduos	35
2.	Parte Experimental.....	37
2.1.	Determinação da concentração de ureia pelo índice de refração.....	38
2.1.1.	Equipamentos	38
2.1.2.	Materiais.....	38
2.1.3.	Reagentes.....	38
2.1.4.	Procedimento experimental	39
2.2.	Determinação da alcalinidade	39
2.2.1.	Equipamentos	39
2.2.2.	Materiais.....	40
2.2.3.	Reagentes.....	40
2.2.4.	Preparação das soluções.....	41

2.2.4.1.	Solução de ácido clorídrico 0,010 mol/l	41
2.2.4.2.	Solução de amónia 0,2818 ± 0,0034 % (m/m)	41
2.2.5.	Procedimento experimental	41
2.2.5.1.	Preparação, manuseamento e conservação da amostra.....	41
2.2.5.2.	Determinação	41
2.3.	Determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico.....	41
2.3.1.	Equipamentos	41
2.3.2.	Materiais.....	42
2.3.3.	Reagentes.....	43
2.3.4.	Preparação das soluções.....	43
2.3.4.1.	Solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 ± 4,1 mg/l	43
2.3.4.2.	Solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 ± 4,1 mg/l	43
2.3.4.3.	Solução padrão de celulose microcristalina 20,00 ± 0,45 mg/l	43
2.3.5.	Procedimento experimental	44
2.3.5.1.	Preparação do filtro.....	44
2.3.5.2.	Preparação da amostra	44
2.3.5.3.	Filtração.....	44
2.4.	Determinação do teor de fosfato	44
2.4.1.	Equipamentos	44
2.4.2.	Materiais.....	45
2.4.3.	Reagentes.....	46
2.4.4.	Preparação das soluções.....	47
2.4.4.1.	Solução de ácido ascórbico 100 g/l	47
2.4.4.2.	Solução mãe de fosfato 202,45 ± 0,60 mg/l	47
2.4.4.3.	Solução intermédia de fosfato 2,0245 ± 0,0080 mg/l.....	47
2.4.4.4.	Solução de reagente de desenvolvimento de cor.....	47

2.4.5. Procedimento experimental	47
2.4.5.1. Tratamento do material	47
2.4.5.2. Preparação da reta de calibração	48
2.4.5.3. Verificação da reta de calibração	48
2.4.5.4. Verificação do método	48
2.4.5.5. Tratamento da amostra	49
2.4.5.6. Determinação espectrofotométrica	49
2.5. Determinação do teor de biureto.....	49
2.5.1. Equipamentos	49
2.5.2. Materiais.....	50
2.5.3. Reagentes.....	51
2.5.4. Preparação das soluções.....	51
2.5.4.1. Solução de ácido clorídrico 0,10 mol/l.....	51
2.5.4.2. Solução mãe de biureto 0,7796 ± 0,0013 mg/ml	51
2.5.4.3. Solução de sulfato de cobre 0,015 g/ml.....	52
2.5.4.4. Solução alcalina de tartarato de sódio e potássio.....	52
2.5.5. Procedimento experimental	52
2.5.5.1. Preparação da reta de calibração.....	52
2.5.5.2. Fator dia	52
2.5.5.3. Determinação	52
3. Apresentação e discussão de resultados.....	54
3.1. Verificação dos métodos referentes ao AdBlue®	55
3.1.1. Determinação da concentração de ureia pelo índice de refração	55
3.1.1.1. Limiares analíticos.....	55
3.1.1.2. Precisão.....	56
3.1.1.3. Justeza	59

3.1.1.4.	Incerteza do método	61
3.1.2.	Determinação da alcalinidade	63
3.1.2.1.	Limiars analíticos	63
3.1.2.2.	Precisão	64
3.1.2.3.	Justeza	66
3.1.2.4.	Incerteza do método	68
3.1.3.	Determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico	70
3.1.3.1.	Limiars analíticos	70
3.1.3.2.	Precisão	71
3.1.3.3.	Justeza	73
3.1.3.4.	Incerteza do método	75
3.1.4.	Determinação do teor de fosfato	77
3.1.4.1.	Reta de calibração	77
3.1.4.2.	Verificação da reta de calibração	82
3.1.4.3.	Gama de trabalho	82
3.1.4.4.	Análise de padrão para a verificação do método	84
3.1.4.5.	Limiars analíticos	84
3.1.4.6.	Precisão	86
3.1.4.7.	Justeza	88
3.1.4.8.	Incerteza do método	90
3.1.5.	Determinação do teor de biureto	92
3.1.5.1.	Reta de calibração	92
3.1.5.2.	Fator dia	97
3.1.5.3.	Gama de trabalho	97
3.1.5.4.	Limiars analíticos	99
3.2.	Outras atividades	100

3.2.1.	Análise da água desmineralizada usada na fabricação de AdBlue®	100
3.2.2.	Controlo de qualidade do AdBlue® armazenado em depósitos	102
4.	Conclusão	106
5.	Bibliografia	109
6.	Anexos	115
6.1.	Verificação do método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração	116
6.1.1.	Instruções de calibração/verificação do refratómetro	116
6.2.	Verificação do método da determinação da alcalinidade	116
6.2.1.	Instruções de calibração/verificação do potenciómetro	116
6.2.2.	Frases de perigo e prudência	117
6.2.3.	Cálculo da concentração efetiva da solução de ácido clorídrico 0,010 mol/l	118
6.2.4.	Cálculo da concentração efetiva da solução de amónia e respetiva incerteza associada... 118	
6.3.	Verificação do método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico	120
6.3.1.	Frases de perigo e prudência	120
6.3.2.	Cálculo da concentração efetiva e da incerteza associada à solução mãe de celulose microcristalina.....	120
6.3.3.	Cálculo da concentração efetiva e da incerteza associada à solução intermédia de celulose microcristalina.....	122
6.3.4.	Cálculo da concentração efetiva e da incerteza associada à solução padrão de celulose microcristalina.....	124
6.4.	Verificação do método da determinação do teor de fosfato	127
6.4.1.	Frases de perigo e prudência	127
6.4.2.	Cálculo da concentração efetiva da solução mãe de fosfato e respetiva incerteza associada	130
6.4.3.	Cálculo da concentração efetiva da solução intermédia de fosfato e respetiva incerteza associada.....	132

6.4.4. Cálculo das concentrações efetivas das soluções padrão de fosfato e respectivas incertezas associadas para a reta de calibração	133
6.4.5. Conversão de unidades de mg/l em mg/kg das soluções padrão de fosfato da reta de calibração.....	136
6.4.6. Cálculo das concentrações efetivas das soluções padrão de fosfato e respectivas incertezas associadas para a verificação da reta de calibração	136
6.4.7. Cálculo da concentração efetiva da solução padrão de fosfato e respectiva incerteza associada para a verificação do método.....	138
6.4.8. Cálculo da concentração efetiva da solução padrão de fosfato e respectiva incerteza associada para o estudo dos limiares analíticos do método	140
6.4.9. Cálculo da concentração efetiva da solução padrão de fosfato e respectiva incerteza associada para o estudo da precisão	142
6.4.10. Cálculo da concentração efetiva do material de referência de fosfato e respectiva incerteza associada para o estudo da justeza.....	144
6.5. Verificação do método da determinação do teor de biureto.....	147
6.5.1. Frases de perigo e prudência	147
6.5.2. Cálculo da concentração efetiva da solução de ácido clorídrico 0,10 mol/l.....	149
6.5.3. Cálculo da concentração efetiva da solução mãe de biureto e respectiva incerteza associada	149
6.5.4. Cálculo da concentração efetiva da solução de sulfato de cobre.....	151
6.5.5. Cálculo das concentrações efetivas das soluções padrão de biureto e respectivas incertezas associadas para a reta de calibração	151

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

a: ordenada na origem

A: absorvância

ANOVA: Análise de Variâncias (proveniente do inglês: *Analysis of Variance*)

AUS: Solução Aquosa de Ureia (proveniente do inglês: *Aqueous Urea Solution*)

b: declive

b: *bias*

bi: desvio da recuperação obtida relativamente à recuperação ideal de 100 %

b_{rms} : quadrado médio relativo dos desvios das análises de fortificação da amostra

c: concentração

\bar{c} : média das concentrações

\bar{c} : média dos resultados obtidos após a fortificação

\bar{c}_{ER} : média dos resultados obtidos antes da fortificação

CQE: Controlo de Qualidade Externo

CQI: Controlo de Qualidade Interno

$C_{sol.}$: concentração efetiva da solução

c_{spike} : concentração de analito adicionado na fortificação

CV: coeficiente de variação

CV_{PI} : coeficiente de variação de precisão intermédia

CV_r : coeficiente de variação de repetibilidade

d: desvio

DEF: Fluido de um Escape Diesel (proveniente do inglês: *Diesel Exhaust Fluid*)

Di: diferença entre o valor medido e o definido para a amostra

D_{rms} : raiz quadrada média do desvio entre o resultado obtido e o definido para cada amostra

E_n : erro normalizado

EN: Norma Europeia (proveniente do inglês: *European Norm*)

EUA: Estados Unidos da América

F: valor tabelado da distribuição de *Fisher-Snedecor*

F_c : fator de calibração

F_D : fator dia

F_1 : fator de conversão de kg para g

F_2 : fator de conversão de mg para μg

g.l: graus de liberdade

H: frases de perigo

HC: hidrocarbonetos

H_0 : hipótese nula

IR: Índice de Refração

ISO: Organização Internacional de Padronização (proveniente do inglês: *International Organization for Standardization*)

k: fator de expansão

LD: limite de deteção

LIA: limite Inferior de Aviso

LIC: limite Inferior de Controlo

LQ: limite de quantificação

LSA: limite Superior de Aviso

LSC: limite Superior de Controlo

m : massa

m_{FL} : massa do filtro seco

m_{FR} : massa do filtro seco com depósito de amostra

MR: Material de Referência

MRC: Material de Referência Certificado

MRI: Material de Referência Interno

m_s : massa da amostra

n : número de medições efetuadas

N : número de ensaios

n_{ilc} : número de ensaios interlaboratoriais

n_{IR} : índice de refração

n_{IR1} : índice de refração do primeiro meio

n_{IR2} : índice de refração do segundo meio

n_M : número de ensaios efetuados com o material de referência

n_n : número de ensaios de recuperação

NO_x: óxidos de nitrogénio

NP: Norma Portuguesa

p: grupos

P: frases de prudência

PE: polietileno

PEE: polifluoretileno

PFA: perfluoroalcoialcanos

PG: razão entre variâncias

PIB: poliisobutileno

PM: partículas em suspensão

PP: polipropileno

PTFE: politetrafluoretileno

PVDF: polifluoreto de vinilideno

PVDF-HFP: copolímero de fluoreto de vinilideno e hexafluoropropileno

P1: primeiro padrão da reta de calibração

P6: último padrão da reta de calibração

QM: Quadrado Médio

QM_b : Quadrado Médio entre grupos

QM_w : Quadrado Médio dentro de grupos

r: coeficiente de correlação

R: recuperação aparente

r_{PI} : limite de precisão intermédia

r_r : limite de repetibilidade

R' : recuperação

S: desvio padrão

S_a : desvio padrão associado à ordenada na origem

S_b : desvio padrão associado ao declive

$S_{between}$: desvio padrão entre grupos

S_{bM} : desvio padrão das réplicas independentes realizadas ao material de referência

SCR: Redução Catalítica Seletiva (proveniente do inglês: *Selective Catalytic Reduction*)

SGQ: Sistema de Gestão de Qualidade

S_{PI} : desvio padrão de precisão intermédia

SQ: Soma dos Quadrados

SQ_b : Soma dos Quadrados entre grupos

SQ_{total} : Soma dos Quadrados total

SQ_w : Soma dos Quadrados dentro de grupos

S_r : desvio padrão de repetibilidade

$S_{y/x}$: desvio padrão residual

S'_0 : desvio padrão corrigido

S^2 : variância

S^2_1 : variância do primeiro padrão da reta de calibração

S^2_{10} : variância do último padrão da reta de calibração

TCC: proveniente do inglês: *Tuebingen Chemical Company*

u : incerteza

U : incerteza expandida

u_{add} : incerteza da adição do analito

u_b : incerteza associada à justeza

u_c : incerteza combinada

$u_{Calib.Bal}$: incerteza associada à calibração da balança

u_{conc} : incerteza da concentração do analito adicionado

$u_{crefEIL}$: incerteza definida no ensaio interlaboratorial

u_{crefM} : incerteza do material de referência

U_{lab} : incerteza expandida do valor obtido pelo laboratório

U_{ref} : incerteza expandida do resultado considerado como verdadeiro (referência)

$u_{Rep.Bal}$: incerteza associada à repetibilidade da pesagem

u_{RW} : incerteza associada à precisão

$u_{temperatura}$: incerteza associada à temperatura

u_{vol} : incerteza do volume adicionado

UV-Vis: ultravioleta-visível

UWS: Solução de Ureia-Água (proveniente do inglês: *Urea-Water Solution*)

$u(x)$: incerteza padrão

$u(x)_{geral}$: incerteza padrão geral

$u(x)_m$: incerteza padrão do desvio entre a massa bruta e a massa da tara

$u(x)/x$: incerteza padrão relativa

V: volume

VDA: Associação Alemã da Indústria Automóvel (proveniente do alemão: *Verband Der Automobilindustrie*)

VL: resultado obtido pelo laboratório

VR: Valor de Referência

V_s : volume da solução tratada

v_1 : velocidade da luz no primeiro meio

v_2 : velocidade da luz no segundo meio

W_{Bi} : teor de biureto

W_{ins} : teor de matéria insolúvel

W_{NH_3} : teor de alcalinidade

W_p : teor de fosfato

W_U : concentração de ureia

\bar{x} : média dos valores

x_{ref} : valor estabelecido no material de referência.

x_s : valor suspeito

y : sinal instrumental

\bar{y} : média dos sinais instrumentais

\hat{y}_i : sinal obtido por interpolação na reta de calibração

Z : valor de *z-score*

θ_i : ângulo incidente

θ_r : ângulo refratado

λ : comprimento de onda

ρ : densidade

Δc : variação da concentração

ΔT : intervalo de temperatura

Δy : variação do sinal instrumental

[AUS]: concentração da solução aquosa de ureia

[PO_4^{-3}]: concentração do padrão de fosfato

Índice de Figuras

Figura 1. Sede do Grupo RNM.....	2
Figura 2. Efeito das normas Euro 4 a 7 ao longo do tempo, na Europa	4
Figura 3. Esquema resumo da tecnologia SCR.....	6
Figura 4. Esquema resumo dos fundamentos da técnica de refratometria	10
Figura 5. Refrátmetro usado para a determinação da concentração de ureia pelo índice de refração..	11
Figura 6. Equipamento necessário para realizar uma titulação.	13
Figura 7. Constituintes de um espectrofotómetro.....	16
Figura 8. Procedimento de validação.	19
Figura 9. Metodologia passo a passo	30
Figura 10. Diagrama espinha de peixe.	31
Figura 11. Carta de controlo de médias ou de indivíduos.	36
Figura 12. Reta de calibração do teor de fosfato	78
Figura 13. Carta de controlo de indivíduos para o método da determinação do teor de fosfato.....	81
Figura 14. Reta de calibração do método da determinação do teor de biureto.	93
Figura 15. Carta de controlo de indivíduos para o método da determinação do teor de biureto	96
Figura 16. Carta de controlo do pH da água desmineralizada utilizada na produção de AdBlue®	101
Figura 17. Carta de controlo da condutividade da água desmineralizada usada no fabrico de AdBlue®	101
Figura 18. Carta de controlo da concentração de ureia do AdBlue® armazenado no depósito 12.	102
Figura 19. Carta de controlo da concentração de ureia do AdBlue® presente no depósito 13.....	103
Figura 20. Carta de controlo da concentração de ureia do AdBlue® armazenado no depósito 14.....	103
Figura 21. Carta de controlo do índice de refração do AdBlue® armazenado no depósito 12.	104
Figura 22. Carta de controlo do índice de refração do AdBlue® armazenado no depósito 13.....	104
Figura 23. Carta de controlo do índice de refração do AdBlue® presente no depósito 14.....	105
Figura 24. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução de amónia 0,2818 % (m/m).....	118
Figura 25. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l.....	121
Figura 26. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 mg/l	123

Figura 27. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l.....	125
Figura 28. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução mãe de fosfato 202,45 mg/l.....	130
Figura 29. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução intermédia de fosfato 2,0245 mg/l.	132
Figura 30. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada a cada solução padrão de fosfato da reta de calibração.	135
Figura 31. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada a cada solução padrão de fosfato para a verificação da reta de calibração.....	137
Figura 32. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução padrão de fosfato 0,2025 mg/kg para a verificação do método.....	139
Figura 33. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução padrão de fosfato 0,04049 mg/kg para o estudo dos limiares analíticos do método..	141
Figura 34. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução padrão de fosfato 0,4049 mg/kg para o estudo da precisão..	143
Figura 35. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada ao MR de 0,3000 mg/kg para o estudo da justeza.....	145
Figura 36. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução mãe de biureto 0,7796 mg/ml.	149
Figura 37. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada a cada solução padrão de biureto da reta de calibração..	152

Índice de Tabelas

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do AdBlue®.....	8
Tabela 2. Materiais recomendados e não aconselháveis para o contacto directo com AdBlue®.....	9
Tabela 3. Características dos métodos para a determinação da concentração de ureia, presentes na norma ISO 22241-2.....	12
Tabela 4. Informações provenientes da ANOVA: fator único	26
Tabela 5. Características da água desmineralizada utilizada no trabalho..	38
Tabela 6. Equipamento utilizado para a determinação da concentração de ureia pelo índice de refração.....	38
Tabela 7. Reagentes utilizados no método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração.....	39
Tabela 8. Equipamentos utilizados para a determinação da alcalinidade.	39
Tabela 9. Materiais utilizados para a determinação da alcalinidade.....	40
Tabela 10. Reagentes utilizados para a determinação da alcalinidade.....	40
Tabela 11. Equipamentos utilizados para a determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico.	42
Tabela 12. Materiais utilizados para a determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico....	42
Tabela 13. Reagentes utilizados para a determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico..	43
Tabela 14. Equipamentos utilizados para a determinação do teor de fosfato.....	44
Tabela 15. Materiais utilizados para a determinação do teor de fosfato.....	45
Tabela 16. Reagentes utilizados para a determinação do teor de fosfato..	46
Tabela 17. Valores para a construção da reta de calibração do teor de fosfato das soluções padrão. ...	48
Tabela 18. Equipamentos utilizados para a determinação do teor de biureto.	49
Tabela 19. Materiais utilizados para a determinação do teor de biureto.	50
Tabela 20. Reagentes utilizados para a determinação do teor de biureto.	51
Tabela 21. Valores obtidos experimentalmente para os limiares analíticos do método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração.	56
Tabela 22. Valores experimentais dos limiares analíticos do método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração.	56
Tabela 23. Valores obtidos para o estudo da precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia para o método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração.....	57

Tabela 24. Informações provenientes da ANOVA: fator único para o estudo da precisão no método da determinação da ureia pelo índice de refração.....	58
Tabela 25. Parâmetros para avaliar a precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da determinação da ureia pelo índice de refração	59
Tabela 26. Valores obtidos na participação em seis ensaios interlaboratoriais para avaliar a justeza no método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração	60
Tabela 27. Parâmetros para avaliar a justeza provenientes da participação em seis ensaios interlaboratoriais para o método da determinação da ureia pelo índice de refração.	61
Tabela 28. Dados para o cálculo da incerteza de medição para o método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração.	62
Tabela 29. Valores obtidos experimentalmente para os limiares analíticos do método da determinação da alcalinidade	64
Tabela 30. Valores experimentais dos limiares analíticos do método da determinação da alcalinidade..	64
Tabela 31. Valores obtidos para o estudo da precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia para o método da determinação da alcalinidade.	65
Tabela 32. Informações provenientes da ANOVA: fator único para o estudo da precisão no método da determinação da alcalinidade.....	65
Tabela 33. Parâmetros para avaliar a precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da determinação da alcalinidade.	66
Tabela 34. Valores da fortificação de uma amostra teste de AdBlue® para avaliação da justeza do método da determinação da alcalinidade.....	67
Tabela 35. Valores para o cálculo da incerteza do método da determinação da alcalinidade.	69
Tabela 36. Resultados experimentais para os limiares analíticos do método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico.	70
Tabela 37. Valores dos limiares analíticos do método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico.	71
Tabela 38. Valores para o estudo da precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia para o método da determinação da matéria insolúvel.	72
Tabela 39. Informações provenientes da ANOVA: fator único para o estudo da precisão no método da determinação da matéria insolúvel.	72

Tabela 40. Parâmetros para avaliar a precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da determinação da matéria insolúvel..	73
Tabela 41. Valores obtidos na participação em seis ensaios interlaboratoriais para avaliar a justeza no método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico..	74
Tabela 42. Parâmetros para avaliar a justeza provenientes da participação em seis ensaios interlaboratoriais para o método da determinação da matéria insolúvel.	75
Tabela 43. Dados para o cálculo da incerteza de medição do método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico.	76
Tabela 44. Valores para a construção da reta de calibração do teor de fosfato das soluções padrão...	78
Tabela 45. Valores para a construção de uma carta de controlo de indivíduos no método da determinação do fosfato.....	80
Tabela 46. Limites definidos para a construção da carta de controlo de indivíduos no método da determinação do fosfato.....	81
Tabela 47. Valores obtidos na verificação da reta de calibração.....	82
Tabela 48. Valores de concentração de fosfato para o teste da homogeneidade de variâncias.....	83
Tabela 49. Valores provenientes do teste de homogeneidade de variâncias para o método da determinação de fosfato.....	83
Tabela 50. Valores nominal e experimentais para a verificação do método da determinação do teor de fosfato.....	84
Tabela 51. Valores obtidos experimentalmente para os limiares analíticos do método da determinação do fosfato.....	85
Tabela 52. Valores dos limiares analíticos para o método da determinação do teor de fosfato.....	86
Tabela 53. Valores obtidos para o estudo da precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia para o método da determinação do teor de fosfato..	87
Tabela 54. Informações relativas à ANOVA: fator único para o estudo da precisão no método da determinação do teor de fosfato.....	87
Tabela 55. Parâmetros para avaliar a precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da determinação do teor de fosfato..	88
Tabela 56. Valores do teor de fosfato para avaliação da justeza do método da determinação do teor de fosfato.....	89
Tabela 57. Parâmetros do estudo da justeza para o método da determinação do teor de fosfato.	90
Tabela 58. Dados para a determinação da incerteza do método da determinação do teor de fosfato. ..	91

Tabela 59. Valores para a construção da reta de calibração do método da determinação de biureto...	93
Tabela 60. Valores para a construção de uma carta de controlo de indivíduos do método da determinação do teor de biureto..	95
Tabela 61. Limites definidos para a construção da carta de controlo de indivíduos no método da determinação do teor de biureto..	96
Tabela 62. Valores para o cálculo do fator dia.	97
Tabela 63. Valores do teor de biureto para o teste da homogeneidade de variâncias..	98
Tabela 64. Informações do teste de homogeneidade de variâncias para o método da determinação do teor de biureto.....	99
Tabela 65. Valores obtidos experimentalmente para os limiares analíticos do método da determinação do teor de biureto.....	99
Tabela 66. Valores dos limiares analíticos para o método da determinação do teor de biureto.....	100
Tabela 67. Legenda das siglas das frases de perigo (H) e prudência (P).	117
Tabela 68. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução de amónia 0,2818 % (m/m).....	119
Tabela 69. Legenda das siglas das frases de perigo (H) e prudência (P).....	120
Tabela 70. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l.....	122
Tabela 71. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 mg/l.	124
Tabela 72. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l.....	126
Tabela 73. Legenda das siglas das frases de perigo (H) e prudência (P) para o método da determinação do teor de fosfato..	127
Tabela 74. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução mãe de fosfato 202,45 mg/l.....	131
Tabela 75. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução intermédia de fosfato 2,0245 mg/l.....	133
Tabela 76. Valores para as soluções padrão de fosfato da reta de calibração.....	134
Tabela 77. Incertezas associadas à concentração das soluções padrão de fosfato da reta de calibração.	135
Tabela 78. Conversão de unidades das soluções padrão de fosfato da reta de calibração..	136

Tabela 79. Valores para as soluções padrão de fosfato da verificação da reta de calibração.....	137
Tabela 80. Incertezas associadas à concentração das soluções padrão de fosfato na verificação da reta de calibração..	138
Tabela 81. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução padrão de fosfato 0,2025 mg/kg para a verificação do método.....	140
Tabela 82. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução padrão de fosfato 0,04049 mg/kg para o estudo dos limiares analíticos do método.	142
Tabela 83. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução padrão de fosfato 0,4049 mg/kg para o estudo da precisão.	144
Tabela 84. Resultados para a incerteza associada à preparação do MR de fosfato 0,3000 mg/kg para o estudo da justeza.	146
Tabela 85. Legenda das siglas das frases de perigo (H) e prudência (P).....	147
Tabela 86. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução mãe de biureto 0,7796 mg/ml. I.	150
Tabela 87. Valores para as soluções padrão de biureto da reta de calibração.....	151
Tabela 88. Incertezas associadas à concentração das soluções padrão de biureto da reta de calibração..	153

1. Introdução

1.1. Enquadramento

O presente trabalho foi desenvolvido no âmbito do Projeto Individual do Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química, do Departamento de Química da Universidade do Minho. Este decorreu nas instalações da empresa RNM – Produtos Químicos, SA, localizada em Landim – Vila Nova de Famalicão, durante um período de nove meses (setembro de 2022 a junho de 2023).

A BlueChem, empresa pertencente ao Grupo RNM, é produtora do produto químico AdBlue®, uma solução de ureia de alta pureza utilizada para reduzir as emissões de óxidos de nitrogénio. É necessário que o produto cumpra todos as especificações descritas na norma ISO 22241¹⁻⁴ para ser comercializado. Assim, o principal objetivo deste trabalho consistiu na verificação de alguns métodos de análise constantes na norma ISO 22241-2⁴, nomeadamente, o teor de ureia, fosfato, biureto, matéria insolúvel e alcalinidade.

1.2. Apresentação da empresa

A empresa “Drovilusa” surgiu em 02 de outubro de 1986, na rua da Fábrica, 123 – Segade – 4765-080 Carreira – Vila Nova de Famalicão, sendo constituída por uma sociedade comercial por quotas dividida em duas quotas iguais pelos sócios Drogas Vigo, SL e Rosa Machado, Ricardo Machado e Nuno Machado. Em 2006, foi criada a empresa RNM – Transportes Químicos, Lda. Mais tarde, em 2009, os sócios Ricardo Machado e Nuno Machado adquiriram a quota pertencente às Drogas Vigo, passando a empresa a designar-se RNM – Produtos Químicos. Consequentemente, formou-se o Grupo RNM composto pelas empresas supracitadas.⁵ Dado a expansão do Grupo, em 2019, a sede mudou de instalações para Landim - Vila Nova de Famalicão (Figura 1).⁶



Figura 1. Sede do Grupo RNM. Atuais instalações da sede do Grupo RNM, localizada em Landim - Vila Nova de Famalicão. Adaptada de: <https://www.grupornm.pt/galeria.php>.⁶

O Grupo RNM atua no setor químico, garantindo produtos químicos ao nível da produção, logística, transporte e distribuição para diversas áreas, como a indústria cosmética, farmacêutica, têxtil, automóvel, petroquímica, plásticos, detergência, alimentar, tratamento de águas, entre outras.⁷

Atualmente, o Grupo RNM possui as empresas RNM – Produtos Químicos, RNM – Transportes Químicos, Tuebingen Chemical Company (TCC), Quimitejo – Produtos Químicos, Flexaco – Concentrados e Aditivos Plásticos, InChemica – Indústria Química de Especialidades, Limsa - Oleochemicals, Rivaz Química, BlueChem e Urteaga, de forma a satisfazer as necessidades de cada cliente.⁷ A RNM – Produtos Químicos é responsável pela produção e distribuição de produtos químicos, enquanto a RNM – Transportes Químicos transporta produtos químicos em cisternas, contentores e embalados por meios ferroviários, marítimos e rodoviários. A empresa TCC, representante exclusiva da marca CHT em Portugal, pretende dar resposta ao ramo têxtil com corantes.⁵ A Quimitejo foca-se na produção e distribuição de coagulantes de sais de alumínio, sendo uma forte presença no setor do tratamento de águas. A Flexaco, situada em Albergaria-a-Velha, elabora concentrados de cor e aditivos (masterbatch) aplicáveis na indústria de transformação de plásticos. A InChemica fornece tensoativos aniónicos para o setor da detergência, cosmética e higiene pessoal. A Limsa dedica-se ao campo da cosmética, cuidados pessoais e detergência. A Rivaz destina-se à distribuição de produtos químicos industriais para as indústrias das tintas, minas, água (tratamento de águas potáveis, industriais e efluentes) e do papel. A BlueChem produz e comercializa o produto AdBlue®. Por fim, a Urteaga, empresa mais recente do Grupo, situada no País Basco, é especialista em produtos químicos para uso industrial, tratamento de águas residuais, potáveis e piscinas.⁷

Com forte presença na Península Ibérica, o Grupo RNM aposta numa equipa de excelência, qualidade e rigor nos serviços prestados. Como tal, as empresas do Grupo dispõem de um Sistema Integrado de Gestão da Qualidade, Ambiente e Segurança e são certificadas pelas normas ISO 9001, ISO 14001 e ISO 45001.⁵

1.3. Poluição atmosférica: problemas e soluções

Nos últimos anos, o uso de veículos a diesel tem aumentado significativamente, resultando num acréscimo considerável da emissão de gases de escape (óxidos de nitrogénio (NOx), monóxido de carbono, dióxido de carbono, hidrocarbonetos (HC), entre outros).^{8,9} Os NOx são considerados um dos principais poluentes atmosféricos, contribuindo para a formação de chuvas ácidas, para o buraco na camada de ozono e causando danos à saúde humana, nomeadamente a nível respiratório.¹⁰⁻¹² A fim de reduzir as emissões de NOx, o Parlamento Europeu emitiu rígidas normas designadas por Euro. As

diferentes versões destas normas são representadas por algarismos romanos para os veículos pesados e por algarismos árabes para os veículos ligeiros.^{9,13-15} Conforme ilustrado na **Figura 2**⁹, os limites máximos permitidos de emissões de NOx e partículas em suspensão (PM) nos veículos de passageiros a diesel diminuíram drasticamente ao longo dos anos pelas normas Euro 4, 5 e 6, que surgiram em 2005, 2009 e 2014, respetivamente.⁹ Atualmente, a norma Euro 7, proposta pela Comissão Europeia, encontra-se em aprovação para entrada em vigor em 2025.¹⁶

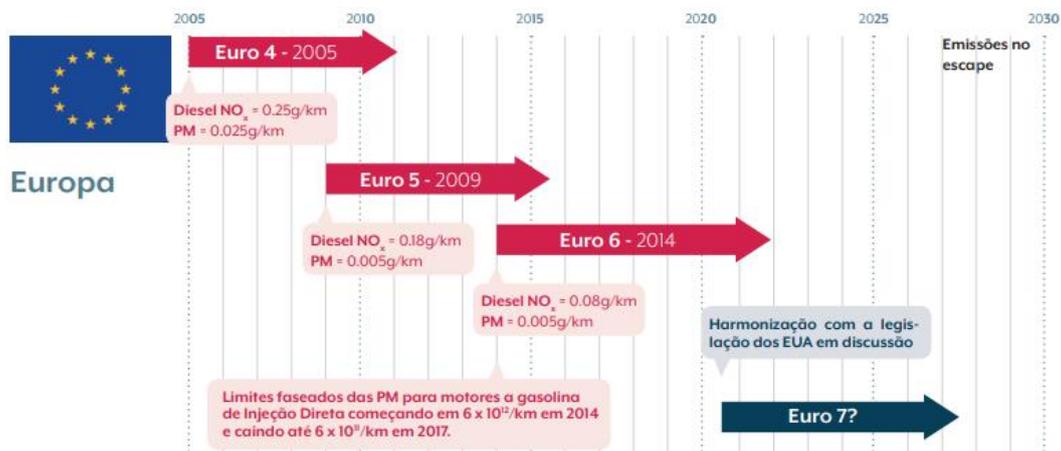


Figura 2. Efeito das normas Euro 4 a 7 ao longo do tempo, na Europa. De 2005 a 2014 registou-se uma diminuição de emissões de NOx e de PM nos veículos de passageiros a diesel pelas normas Euro 4 a 6. A Euro 7 encontra-se em aprovação. Adaptada de: <https://www.concawe.eu/wp-content/uploads/2017/09/Portuguese-Introducao-as-emissoes-de-carros-de-passageiros.pdf>.⁹

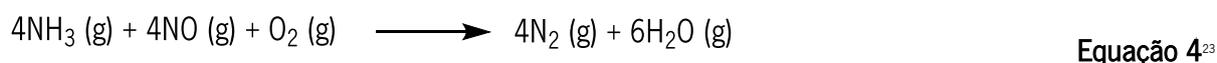
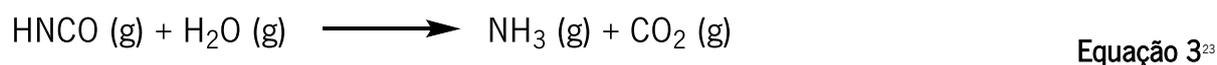
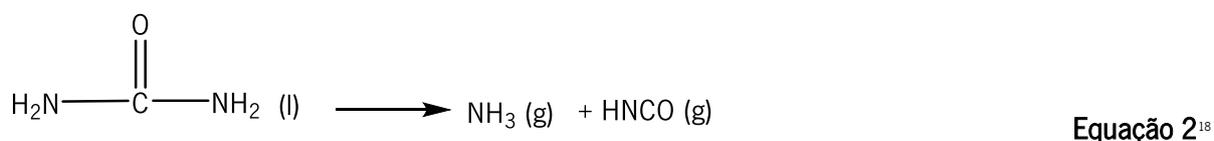
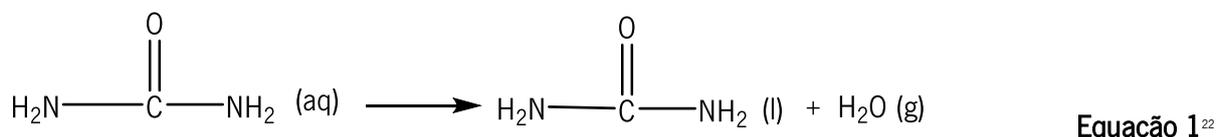
De forma a atender aos requisitos referidos nas normas, a tecnologia de redução catalítica seletiva (SCR, proveniente do inglês: *Selective Catalytic Reduction*) mostrou ser o método mais promissor na transformação de NOx em nitrogénio molecular e água – componentes naturais do ar.^{13,17} É de notar que este processo apenas ocorre em veículos a diesel, uma vez que, além dos veículos a gasolina não possuem SCR, as emissões de NOx provenientes destes são bastantes inferiores às dos veículos a diesel. Tal deve-se aos motores dos veículos a gasolina funcionarem, numa razão ar-combustível igual a 1, enquanto os motores a diesel atuam numa razão ar-combustível superior a 1.⁹

A abordagem SCR apresenta diversos benefícios na sua aplicação, tais como: exibição de uma temperatura de reação baixa, ter uma alta eficiência e não apresentar poluição secundária.¹¹ No entanto, este processo carece de um produto químico distribuído na Europa e nos EUA sob a designação comercial de AdBlue® e DEF (proveniente do inglês: *Diesel Exhaust Fluid*), respetivamente. Este é constituído por 67,5 % de água desmineralizada e 32,5 % de ureia pura, sendo frequentemente denominado de UWS (proveniente do inglês: *Urea-Water Solution*).¹⁸ A água desmineralizada utilizada no fabrico sofre um processo de osmose reversa de forma a apresentar uma condutividade inferior a 4

$\mu\text{S/cm}$. Além disto, o pH deve situar-se na gama entre os 5,00 a 7,00.¹⁹ Por sua vez, a ureia, também denominada de carbamida, é adquirida, não sendo possível a utilização de ureia destinada a fins agrícolas.^{2,20}

1.4. Tecnologia SCR

O sistema SCR utiliza a amónia como agente redutor. No entanto, devido à amónia ser tóxica e corrosiva, por questões de segurança é aplicado o AdBlue® onde, através de um processo de três etapas, a ureia decompõe-se em amónia.^{21,22} Primeiramente, o AdBlue® é injetado no sistema de escape ocorrendo a evaporação da água gerando ureia fundida, conforme descrito na **Equação 1**.²² Por termólise, a ureia (H_2NCONH_2) decompõe-se em amónia (NH_3) e ácido isociânico (HNCO), a uma temperatura elevada (**Equação 2**).¹⁸ Por sua vez, o ácido isociânico hidrolisa produzindo amónia e dióxido de carbono, como apresentado na **Equação 3**.²³ Por fim, a amónia reage com os óxidos de nitrogénio, geralmente NO uma vez que representam cerca de 90 % dos NOx presentes nos gases de escape, numa estequiometria de 1:1, com consumo de oxigénio produzindo nitrogénio molecular e água (**Equação 4**).²³



Em suma, a **Figura 3**²⁴ retrata o processo SCR, sendo também possível constatar, a partir das **Equações 2**¹⁸ e **3**²³, que 1 mol de ureia gera 2 mol de amónia.²³ As reações SCR podem ser designadas por reação padrão, lenta e rápida de acordo com as quantidades existentes de NH_3 , NO e NO_2 .²²

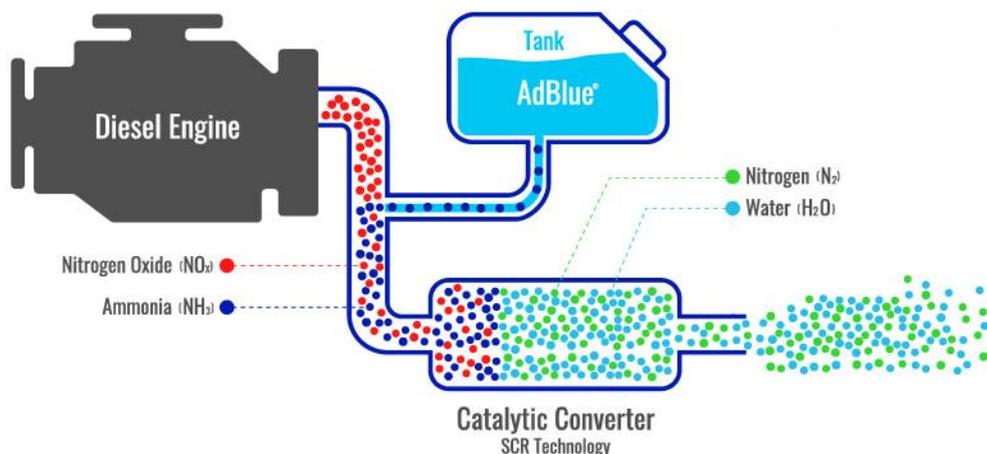


Figura 3. Esquema resumo da tecnologia SCR. Conversão catalítica de NO_x, provenientes dos gases de escape de um motor a diesel, em componentes naturais do ar (N₂ e H₂O) por meio de NH₃, gerada a partir do AdBlue®. Adaptada de: <https://www.ao-cheng.com/news/a-beginner-guide-to-adblue-r-diesel-exhaust-fluid.24>

Apesar da tecnologia SCR ser bastante promissora ainda enfrenta algumas adversidades que comprometem a sua eficácia. Um dos problemas é a desigual distribuição da concentração de amónia no catalisador, comprometendo o bom funcionamento do sistema e promovendo um elevado desgaste do catalisador.^{25,26} Outro obstáculo é a insuficiente passagem de calor do gás de exaustão de modo a ocorrer evaporação e posterior decomposição da ureia.¹⁸ Além disso, uma incompleta evaporação e decomposição da ureia produz uma quantidade insuficiente de amónia capaz de neutralizar a totalidade de óxidos de nitrogénio, formando depósitos sólidos no tubo de escape. Estes depósitos podem ser de ureia ou subprodutos, como ácido cianúrico, biureto e ammelide, resultantes de reações a diferentes temperaturas em que o ácido isociânico participa.^{27,28} Tais depósitos podem bloquear o tubo de escape, danificando este, o catalisador e o motor do veículo.^{26,28} De forma a solucionar estes problemas, o mercado atual encontra-se em pesquisa, tendo já criado um aditivo para o AdBlue®. Este tem como propósito prevenir a formação de depósitos, contribuindo para uma maior eficiência do sistema SCR e uma maior vida útil do sistema SCR.

1.5. AdBlue®: especificações

O AdBlue® é um aditivo independente do combustível e, por isso, possui um depósito próprio.²⁹ Este pode estar localizado junto ao depósito do combustível diesel, na divisão do motor ou na mala, consoante o modelo do veículo.²⁹ Embora o consumo de AdBlue® dependa da temperatura ambiente, da temperatura do sistema automóvel e do tipo de condução, estima-se que o seu consumo seja cerca de 5 % do consumo de combustível.^{22,29}

A marca AdBlue® é detida pela Associação Alemã da Indústria Automóvel (VDA, proveniente do alemão: *Verband Der Automobilindustrie*), que gere a sua produção com base na norma ISO 22241.²⁰ Além disso, frequentemente designa-se por AUS32 (AUS, proveniente do inglês: *Aqueous Urea Solution*) as soluções fabricadas de acordo com esta norma. A ISO 22241 divide-se em quatro partes, sendo a primeira parte sobre requisitos de qualidade do AdBlue®, a segunda parte sobre os métodos de análise, a terceira parte sobre manuseamento, transporte e armazenamento e, por fim, a quarta parte que aborda a interface de reabastecimento.¹⁻⁴ A **Tabela 1** ilustra as propriedades físico-químicas que este produto químico apresenta.¹⁷ Em relação à amostragem, primeiramente, deve-se certificar que os frascos usados para a recolha de AdBlue® estejam limpos e isentos de contaminantes (poeira do ar ou outra matéria que se tenha depositado durante o armazenamento destes, resíduos aquando da sua fabricação ou limpeza). Posteriormente, os recipientes devem ser enxaguados com água desmineralizada seguida de AdBlue®, devendo este último enchimento ser desprezado. Após o frasco ser etiquetado, deve-se realizar novo enchimento com 1 l de AdBlue® e, por fim, fechar hermeticamente o recipiente. É de notar que todo o local de amostragem deve se encontrar limpo e que durante os enchimentos a tampa do frasco deve estar disposta, numa superfície limpa, com a abertura voltada para baixo.³⁰ O material escolhido para estar em contacto com o AdBlue® é de extrema importância, visto que pode alterar as suas características. Por essa razão, os materiais adequados e não recomendáveis para a produção, manuseamento, transporte e armazenamento do produto encontram-se mencionados na **Tabela 2**.³ O produto químico deve ser mantido a uma temperatura inferior a 30 °C, em caso de transporte e armazenamento prolongado. Uma exposição acima de 30 °C pode desencadear a evaporação da água em situações de recipientes ventilados assim como a decomposição da ureia, alterando e possivelmente infringindo o limite de alcalinidade definido na ISO 22241-1.^{2,3} De modo a evitar altas temperaturas, o AdBlue® deve se encontrar afastado de fontes de calor. Em contrapartida, o armazenamento do produto não deve ser inferior a -5 °C, uma vez que pode promover a solidificação do AdBlue®, acarretando perigo de explosão dos recipientes pois o AUS32 solidificado possui um volume cerca de 7 % maior que o produto em temperatura ambiente.³

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do AdBlue®. Parâmetros e respetivos limites para o produto AdBlue®. Adaptada da ficha técnica do AdBlue®.¹⁷

Parâmetro	Característica
Aspeto	Líquido incolor a branco
Odor	Sem odor ou com leve odor a amónia
Hidrossolubilidade	Solúvel
Ureia (% (m/m))	31,8 – 33,2
Densidade (g/cm ³)	1,0870 – 1,0930
Índice de refração (20 °C)	1,3814 – 1,3843
Alcalinidade (NH ₃) (%)	≤ 0,2
Biureto (%)	≤ 0,3
Aldeídos (ppm)	≤ 5,0
Matéria insolúvel (ppm)	≤ 20,0
Fosfato (PO_4^{-3}) (ppm)	≤ 0,5
Cálcio (Ca) (ppm)	≤ 0,5
Ferro (Fe) (ppm)	≤ 0,5
Cobre (Cu) (ppm)	≤ 0,2
Zinco (Zn) (ppm)	≤ 0,2
Crómio (Cr) (ppm)	≤ 0,2
Níquel (Ni) (ppm)	≤ 0,2
Alumínio (Al) (ppm)	≤ 0,5
Magnésio (Mg) (ppm)	≤ 0,5
Sódio (Na) (ppm)	≤ 0,5
Potássio (K) (ppm)	≤ 0,5

Tabela 2. Materiais recomendados e não aconselháveis para o contacto directo com AdBlue®. Adaptada da norma ISO 22241-3.³

Materiais recomendados para contacto direto com AdBlue®
Polietileno (PE), isento de aditivos que possam danificar o sistema SCR
Aços austeníticos Cr-Ni e aços inoxidáveis Cr-Ni-Mo-Ti
Polipropileno (PP), isento de aditivos que possam danificar o sistema SCR
Titânio
Ligas de Ni-Mo-Cr-Mn-Cu-Si-Fe, por exemplo, Hastelloy C-276
Poliisobutileno (PIB), isento de aditivos que possam danificar o sistema SCR
Perfluoroalcoxicanos (PFA), isento de aditivos que possam danificar o sistema SCR
Polifluoretileno (PEE), isento de aditivos que possam danificar o sistema SCR
Polifluoreto de vinilideno (PVDF), isento de aditivos que possam danificar o sistema SCR
Politetrafluoretileno (PTFE), isento de aditivos que possam danificar o sistema SCR
Copolimero de fluoreto de vinilideno e hexafluoropropileno (PVDF-HFP), isento de aditivos que possam danificar o sistema SCR
Materiais não recomendados para contacto direto com AdBlue®
Alumínio e ligas de alumínio
Magnésio e ligas de magnésio
Metais não ferrosos e ligas: cobre, chumbo, zinco, ligas de cobre
Plásticos ou metais revestidos com níquel
Soldas contendo chumbo, prata, zinco ou cobre
Materiais que, formando compostos resultantes da reação com amónia, podem interferir negativamente na tecnologia SCR: aço carbono, aço carbono revestido com zinco, ferro macio

1.6. Métodos de análise

1.6.1. Determinação da concentração de ureia pelo índice de refração

O método da determinação da concentração de ureia, presente no documento normativo ISO 22241-2⁴, baseia-se na medição do índice de refração para posterior cálculo da concentração de ureia em solução aquosa. A refratometria é o método mais utilizado para a determinação da concentração em soluções aquosas, através da medição do índice de refração.³¹ Nesta técnica, um determinado raio de luz incide num novo meio com um ângulo (θ_i), refratando-se. O raio refratado (θ_r) possui uma

velocidade diferente da velocidade no primeiro meio (Figura 4).³¹ Este processo ocorre segundo a lei de Snell, definida pela Equação 5³¹.

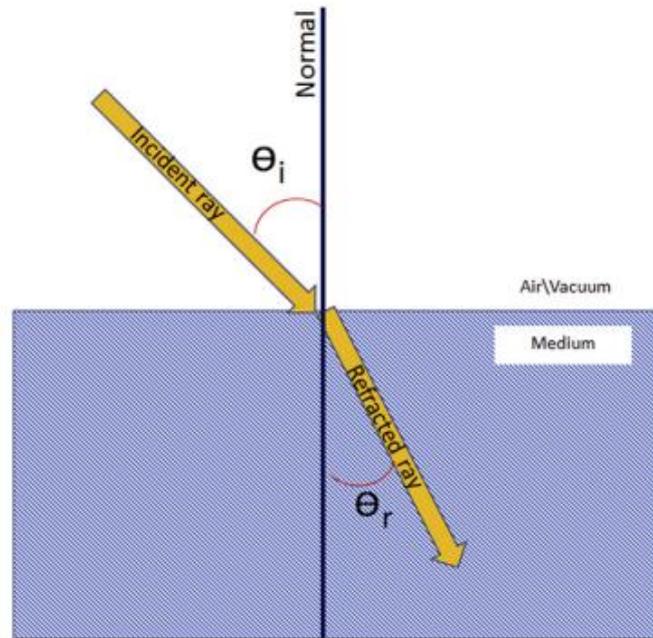


Figura 4. Esquema resumo dos fundamentos da técnica de refratometria. Um raio incidente com um ângulo, θ_i , a uma determinada velocidade e no meio ar/vácuo refrata-se ao atravessar um novo meio, denominando-se este de ângulo refratado, θ_r . Adaptada de: Mohan, S.; Kato, E.; Drennen, J. K.; Anderson, C. A. Refractive Index Measurement of Pharmaceutical Solids: A Review of Measurement Methods and Pharmaceutical Applications. J. Pharm. Sci. **2019**, 108 (11), 3478–3495. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.06.029>.³¹

$$n_{IR1} \times \text{sen}\theta_1 = n_{IR2} \times \text{sen}\theta_2 \quad \text{Equação 5}^{31}$$

em que n_{IR1} representa o índice de refração do primeiro meio, θ_r o ângulo incidente no primeiro meio, n_{IR2} o índice de refração do segundo meio e θ_2 o ângulo incidente no segundo meio.³¹

Em contrapartida, uma vez que a velocidade da luz difere nos dois meios, o índice de refração (n_{IR}) pode ser estimado de acordo com a Equação 6³¹.

$$n_{IR} = \frac{v_2}{v_1} \quad \text{Equação 6}^{31}$$

em que v_1 representa a velocidade da luz no primeiro meio e v_2 a velocidade da luz no segundo meio.³¹

Além disto, existem fatores que alteram a velocidade da luz e conseqüentemente o índice de refração, como o comprimento de onda do raio incidente, a composição e estado físico do meio.^{32,33}

Neste trabalho, utilizou-se um refratômetro específico de acordo com a norma ISO 22241¹⁻⁴ (Figura 5), tendo a designação de RFM990-AUS32, do fornecedor Bellingham + Stanley. Este equipamento permite o ajuste da temperatura para 20 °C, conforme requerido pela norma ISO 22241-2⁴, procedendo ao cálculo da concentração de ureia.



Figura 5. Refratômetro usado para a determinação da concentração de ureia pelo índice de refração. Refratômetro utilizado no trabalho prático, com as especificações descritas na norma ISO 22241-2⁴ e apresentação do valor da concentração da ureia.

A norma ISO 22241-2⁴ apresenta também um outro método para a determinação da concentração de ureia. Este procedimento baseia-se numa combustão a altas temperaturas, onde os óxidos de nitrogénio são reduzidos a nitrogénio. Após extração dos interferentes resultantes da combustão, procede-se à medição do nitrogénio com o auxílio de um detetor de condutividade térmica. Posteriormente, a concentração de ureia é determinada pela subtração do teor de biureto ao teor de nitrogénio quantificado.⁴

Em síntese, a **Tabela 3**⁴ apresenta as características de cada método referido anteriormente.⁴ A partir da mesma é possível averiguar que o método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração é um procedimento mais prático e, portanto, mais vantajoso para a rotina do laboratório do que o método da determinação da concentração de ureia pelo nitrogénio total. De referir que ambos os métodos apresentam a mesma gama de trabalho: 30 % (m/m) a 35 % (m/m) de ureia.

Tabela 3. Características dos métodos para a determinação da concentração de ureia, presentes na norma ISO 22241-24. Equipamentos necessários e especificações dos mesmos para a determinação da concentração de ureia pelo método do índice de refração e pelo método de nitrogénio total. Adaptada da norma ISO 22241-2 anexo B e C.⁴

Determinação da concentração de ureia		
	Índice de refração	Nitrogénio total
Equipamento	Refratómetro	Analisador automático de nitrogénio
Especificações dos equipamentos	T = 20,0 ± 0,1 °C; λ = 589,3 ± 5,0 nm; Apresenta valores de concentração de AUS32	Baseado em métodos de combustão; Cálculo da concentração de AUS32, conforme descrito na ISO 22241-2 ⁴ – Anexo B

1.6.2. Determinação da alcalinidade

A alcalinidade no AdBlue® é determinada como amónia numa gama de trabalho de 0,1 a 0,5 %. Essa determinação consiste numa titulação potenciométrica, em que se titula a solução de analito com ácido clorídrico até atingir o ponto final a pH = 5,7.⁴

A titulação é uma técnica que tem como finalidade a determinação da concentração de um analito numa amostra.³⁴ A **Figura 6**³⁵ ilustra os princípios básicos da titulação, em que o titulante, presente numa bureta, é adicionado ao titulado (solução contendo o analito) até que a reação esteja finalizada.³⁵

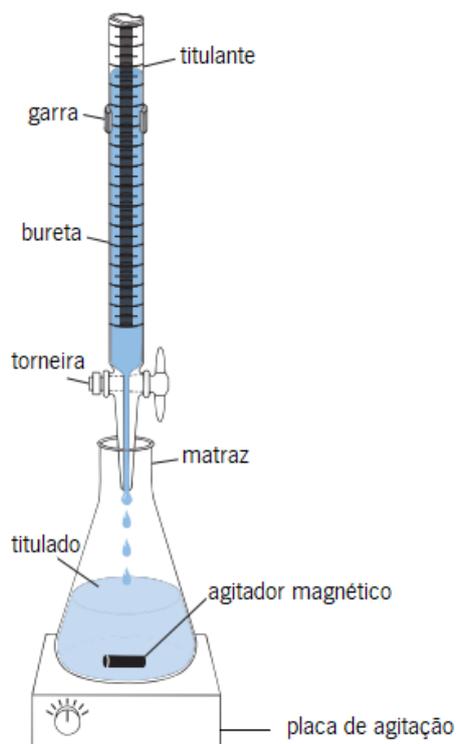


Figura 6. Equipamento necessário para realizar uma titulação. A titulação consiste na adição de um titulante, presente numa bureta ao titulado, presente num matraz, sob agitação. Adaptada de: Harris, D. C. Quantitative Chemical Analysis, Sétima.; W. H. Freeman and Company, 2007³⁵.

O momento da percepção que uma reação terminou é designado por termo ou ponto final, no qual se verifica que o titulante reagiu totalmente com o titulado. Porém, este pode diferir do ponto de equivalência que é um conceito teórico em que o número de moles do titulante é estequiometricamente equivalente ao do titulado.³⁵ O ponto final é caracterizado por uma mudança brusca de uma propriedade da solução, como a alteração de cor de um indicador ou a mudança de potencial, registada num potenciômetro, à medida que o titulante é adicionado ao titulado.^{35,36} O erro de uma titulação pode ser minimizado pela padronização do titulante ou pela subtração de brancos de titulação aos resultados obtidos nas titulações.³⁵

A partir da concentração conhecida de titulante, do volume de titulante gasto na titulação e do volume do titulado é possível aferir a concentração do titulado, sabendo que no final da titulação (ponto de equivalência) a quantidade, em mol, do titulante, geralmente, é estequiometricamente igual à quantidade, em mol, do titulado.³⁵

Dos diversos tipos de titulações, de precipitação, complexometria, oxidação-redução e ácido-base, as titulações ácido-base são extremamente utilizadas nos dias de hoje devido às propriedades básicas ou ácidas que vários compostos apresentam.^{35,36} O método da determinação da alcalinidade em

amostras de AdBlue® consiste numa titulação potenciométrica baseada numa reação ácido-base, em que o titulante é o ácido clorídrico e o titulado uma amostra de AdBlue® determinada como amônia, sendo este processo monitorizado com um eletrodo.^{4,36} Na potenciometria é utilizada uma célula eletroquímica constituída por um eletrodo de referência de potencial e um eletrodo de trabalho. Este último é sensível ao analito em estudo na matriz da amostra e atua em conformidade com o eletrodo de referência que apresenta um potencial constante. Por isso, a força eletromotriz da célula eletroquímica traduz-se na diferença entre o potencial do eletrodo de trabalho e o potencial do eletrodo de referência.³⁶ Para as titulações ácido-base os eletrodos mais usados são os de membrana de vidro, contudo também são utilizados os de óxido metal-metal e de membrana polimérica sensível ao pH.³⁶

Em suma, a titulação é um processo que apresenta inúmeras vantagens, como a sua versatilidade, o equipamento necessário geralmente ser acessível, estar disponível na maioria dos laboratórios e ser um método de elevada sensibilidade, sobretudo no caso das titulações potenciométricas.^{34,36}

1.6.3. Determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico

A matéria insolúvel afeta consideravelmente a qualidade do AdBlue®. Por isso, a determinação deste parâmetro é importante de forma a garantir as características do produto.

A matéria insolúvel consiste em todos os sólidos/resíduos suspensos ou dissolvidos numa solução. Estes são classificados como sólidos totais ou voláteis. Os sólidos totais subdividem-se em sólidos suspensos e em sólidos dissolvidos. A principal diferença entre estes dois tipos reside no facto de que para a análise dos sólidos dissolvidos (substâncias orgânicas e inorgânicas dissolvidas em solução) são necessários filtros com tamanho do poro igual ou inferior a 2 µm. Por outro lado, os sólidos voláteis correspondem à matéria perdida da amostra durante a ignição a um determinado tempo e temperatura.³⁷

De forma a quantificar a matéria insolúvel, mais concretamente os sólidos totais, numa amostra de AdBlue® recorreu-se à filtração da amostra e posterior determinação do resíduo por análise gravimétrica.³¹ Este processo compreende a filtração da amostra num equipamento de filtração a vácuo e com um filtro adequado ao propósito (com membrana de mistura de ésteres de celulose, tamanho do poro de 0,8 µm e diâmetro igual a 47 mm), seguida da evaporação na estufa a uma temperatura definida (105 °C) e arrefecimento num exsicador à temperatura ambiente. O filtro foi previamente pesado e o tempo de aquecimento e arrefecimento foi controlado até o filtro com o resíduo manter o

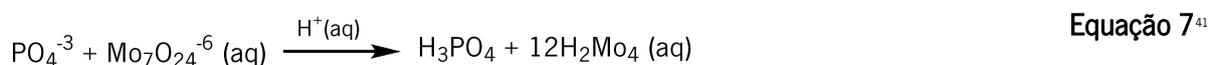
peso constante. Por fim, o teor de matéria insolúvel foi obtido por diferença da massa do filtro com a matéria insolúvel e da massa do filtro.^{4,38}

Apesar do método gravimétrico apresentar diversas vantagens, como a elevada exatidão e o equipamento necessário ser acessível, este também apresenta desvantagens e aspetos a ter em consideração que podem induzir a erros laboratoriais.^{37,39} Além de ser um procedimento experimental demorado, dado os tempos requeridos por cada etapa do processo, no método gravimétrico é importante ter em atenção à homogeneidade da amostra, uma vez que os sólidos se depositam no fundo e são estes o elemento a avaliar. Por sua vez, a temperatura e tempo de aquecimento em estufa são importantes, pois uma evaporação da água deficiente irá se refletir no peso do filtro e consequentemente induzir a um teor de matéria insolúvel superior ao real. Além disso, o excesso de água no filtro culminará numa aderência do mesmo à placa onde está inserido, levando à danificação do filtro e perda de resíduo, distorcendo os resultados. Outro fator a ser considerado está relacionado com a abertura do exsicador para remover e proceder rapidamente à pesagem do filtro, a fim de minimizar a entrada de humidade no exsicador e evitar que o filtro, que contém a amostra, absorva humidade da atmosfera.³⁷

1.6.4. Determinação do teor de fosfato

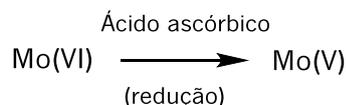
O fósforo total nas amostras de AdBlue® é determinado como fosfato.⁴ Os fosfatos podem ser classificados em 3 tipos: fosfatos orgânicos, fosfatos condensados ou ortofosfatos.⁴⁰

A quantificação do fosfato em amostras de AdBlue® requer um procedimento complexo, dado que a amostra sofre uma evaporação lenta e posterior incineração com carbonato de cálcio de forma a ocorrer a mineralização.⁴ Em seguida, dá-se uma hidrólise ácida, onde na presença de ácido clorídrico e água desmineralizada a ferver, os compostos de fosfato são convertidos em ortofosfatos.^{4,40} Por sua vez, em meio ácido, os iões ortofosfato formados reagem com iões antimónio e molibdato dando origem a um complexo designado por fosfomolibdato de antimónio.⁴ Consequentemente, este complexo é reduzido pelo ácido ascórbico formando um complexo azul de molibdénio. A intensidade da cor azul deste complexo é proporcional à concentração de iões ortofosfato em solução.^{4,40} Em suma, as **Equações 7⁴¹, 8⁴¹ e 9⁴¹** descrevem o processo de formação deste complexo de cor azul.





Equação 8⁴¹



Equação 9⁴¹

Para a determinação da concentração de fosfato nas amostras de AdBlue® é utilizada a técnica de espectrofotometria de ultravioleta-visível (UV-Vis).⁴ Esta técnica, amplamente usada, baseia-se na medição da radiação eletromagnética que é absorvida por uma amostra a um comprimento de onda selecionado dentro da região de UV-Vis (neste caso, a 800 nm).^{4,42-45} Segundo a lei de Beer, a absorvância lida no espectrofotómetro é proporcional à concentração da espécie a ser determinada, permitindo assim a determinação da concentração do analito em estudo.⁴⁶ Contudo, esta relação linear pode ser influenciada por diversos parâmetros como a presença de interferentes em solução, a fotodegradação das moléculas, o tipo de solvente utilizado, entre outros.⁴⁶ A escolha da cuvete de quartzo, vidro ou plástico a ser usada é também um fator a ter em consideração visto que, consoante o material de que é constituída, esta pode absorver na gama do comprimento de onda escolhida para análise e, conseqüentemente, induzir a leituras de absorvância incorretas.⁴⁷ O espectrofotómetro é constituído por uma fonte de radiação, um monocromador que seleciona o comprimento de onda da radiação antes de atingir a amostra, um compartimento para a amostra e um detetor que recebe os feixes e analisa-os, produzindo o espectro de absorção da amostra (Figura 7⁴⁸).

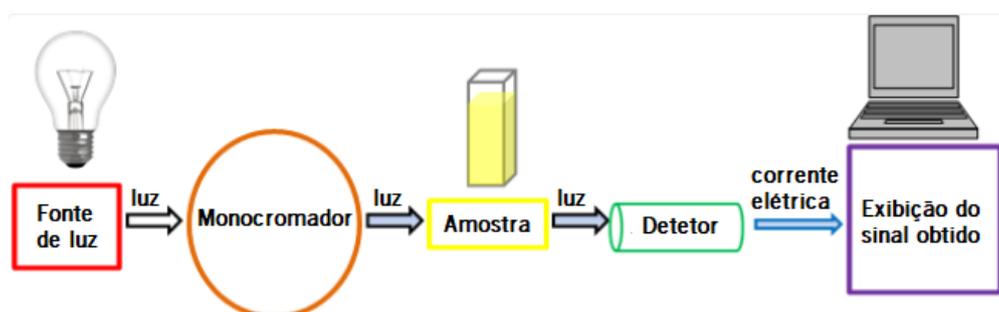


Figura 7. Constituintes de um espectrofotómetro. Adaptada de: <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/uv-vis-spectroscopy-principle-strengths-and-limitations-and-applications-349865>⁴⁸.

Salienta-se o facto de os equipamentos mais antigos possuírem na fonte de radiação lâmpadas de tungsténio (para a luz visível) e de deutério (para luz ultravioleta), enquanto os espectrofotómetros mais

recentes apenas possuem uma lâmpada de xénon. Além disso, os espectrofotômetros podem ser de feixe único ou de duplo feixe. A principal diferença entre ambos reside no facto de que os espectrofotômetros de feixe único apenas apresentam um feixe de luz enquanto os espectrofotômetros de duplo feixe possuem dois feixes de luz separados. Destes dois feixes de luz, um feixe passa pela cuvete onde contém a amostra e o outro feixe passa pela cuvete onde contém a solução de referência (amostra de solvente sem o analito em estudo, designada por branco).^{45,47}

A técnica da espectrofotometria apresenta diversas vantagens, tais como elevada velocidade, exatidão e precisão, assim como a existência de uma grande diversidade de equipamentos no mercado e o procedimento de análise ser bastante simples para qualquer utilizador. Além disto, a espectrofotometria demonstra ser mais rápida, simples e económica relativamente a técnicas como a eletroforese e a cromatografia.^{49,50}

Para além do método colorimétrico apresentado, existem métodos alternativos para a determinação de fosfato, como os métodos luminescentes e eletroquímicos. Os métodos de luminescência apesar de apresentarem baixos limites de deteção, nenhum deles é específico para o fosfato.^{41,51-53} Na análise voltamétrica e amperométrica, os sensores amperométricos e voltamétricos são utilizados para a determinação de fosfato, contudo apresentam falta de seletividade, limitando assim o seu uso.^{41,51-53} Já os sensores potenciométricos, também usados, possuem um tempo de vida limitado e exigem pré-tratamento.^{41,51-53} Assim sendo, o método colorimétrico é considerado nos dias de hoje o método padrão para determinação de fosfato em laboratório.^{41,51-53}

1.6.5. Determinação do teor de biureto

O biureto é um subproduto resultante da decomposição da ureia.²⁸ A quantificação desta substância é importante para o controlo do processo de decomposição da ureia. Além disto, a determinação do teor de biureto em amostras de AdBlue® é um parâmetro requisitado no método da determinação da concentração de ureia em amostras de AdBlue® pelo índice de refração.⁴ Desta forma, o documento normativo ISO 22241-2⁴ estabelece um método de análise para a determinação do teor de biureto em amostras de AdBlue®.⁴ Este procedimento envolve a formação de um complexo violeta a partir da reação do biureto com tartarato de sódio e potássio em meio alcalino. Por sua vez, a concentração de biureto é determinada usando uma reta de calibração da absorvância realizada por espectrofotometria de UV-Vis, utilizando um comprimento de onda de 550 nm, onde o complexo apresenta a absorção máxima.⁴

1.7. Validação de métodos analíticos

Diariamente, são tomadas inúmeras decisões, baseadas em medições analíticas, que afetam diversos setores da sociedade. Por isso, é importante que os laboratórios facultem resultados fidedignos e adequados aos problemas analíticos apresentados pelos clientes.⁵⁴⁻⁵⁷ Segundo o documento normativo NP EN ISO 17025⁵⁸, de forma a garantir esta premissa, os métodos de análise empregues num laboratório devem ser validados numa primeira etapa, seguindo-se uma avaliação periódica dos mesmos.⁵⁷⁻⁵⁹

A validação de um método analítico consiste na verificação de que determinadas condições são adequadas para um determinado objetivo, permitindo, assim, aferir acerca das características, limitações e área de aplicação do método analítico. Por outro lado, a verificação trata-se da confirmação de que um determinado elemento, sendo ele um material, sistema de medição ou procedimento de medição, está de acordo com as condições exigidas.^{54-56,58}

Um laboratório deve proceder à validação de um método quando pretende adotar um método não normalizado, ou seja, um método desenvolvido pelo laboratório, um método não normalizado relatado na literatura, um método normalizado que sofreu modificações ou que é usado fora do âmbito para o qual foi criado. Além da validação, mais tarde, o laboratório deve proceder à verificação regular dos métodos referidos. Em contrapartida, um laboratório pode utilizar métodos normalizados, ou seja, que seguem uma norma ou um documento normativo similar, sem que seja necessário proceder à validação. Contudo, é necessário proceder à verificação de modo a aferir se os valores obtidos pelo método estão de acordo com as especificações.^{54-56,58,60} Visto que o trabalho prático desenvolvido seguiu a norma ISO 22241-2⁴ efetuou-se a verificação dos métodos de análise de AdBlue®.

O procedimento de validação, ilustrado na **Figura 8**⁵⁶, traduz-se na determinação dos parâmetros de desempenho do método (seletividade, sensibilidade, gama de trabalho, limiares analíticos, robustez, precisão, justeza e incerteza do método) por analistas capacitados e usando instrumentos calibrados conforme as indicações do fabricante, de forma a responder adequadamente às necessidades de cada cliente.⁵⁴⁻⁵⁶

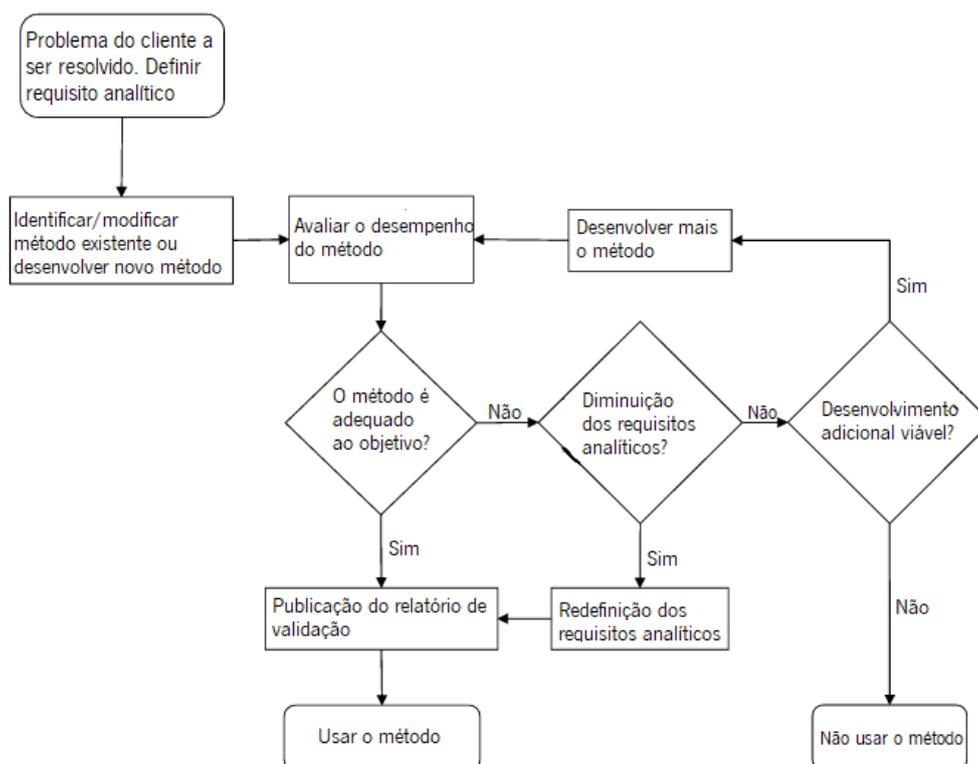


Figura 8. Procedimento de validação. Processo desde a apresentação do problema do cliente até à decisão do laboratório sobre se o pedido do cliente pode ou não ser realizado com o método escolhido. Adaptada de: Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics⁶⁶.

1.7.1. Reta de calibração

A reta de calibração é uma representação gráfica da relação entre a resposta instrumental de um equipamento e a concentração de uma espécie. Para construir este gráfico, geralmente é usado o método dos mínimos quadrados, onde o eixo vertical (eixo y) representa o sinal do equipamento, enquanto o eixo horizontal do gráfico (eixo x) contém a concentração dos padrões analisados. Essa escolha deve-se ao facto dos erros associados aos valores das concentrações (abscissas) serem desprezáveis comparativamente aos valores dos sinais medidos (ordenadas). Além disso, estes valores apresentam uma distribuição normal e uma homogeneidade de variâncias ao longo da reta de calibração. A partir da interpolação na reta de calibração é possível determinar a concentração da espécie a partir da propriedade em estudo.⁵⁷

Para a construção de uma reta de calibração aconselha-se que sejam preparados dez padrões, sendo o mínimo recomendável de cinco padrões. Além disso, os padrões devem estar dispostos uniformemente pela gama de trabalho.⁵⁷ Existem vários tipos de retas de calibração, como a linear, a quadrática, a logarítmica, entre outras.^{57,61,62} Através do modelo linear obtém-se uma equação da reta de primeiro grau dada pela **Equação 10**⁵⁷.

$$y = bc + a$$

Equação 10⁵⁷

em que y representa o sinal instrumental, b o declive, c a concentração e a a ordenada na origem.⁵⁷

Os dados da reta de calibração permitem o cálculo do desvio padrão residual ($S_{y/x}$). Este desvio consiste na dispersão dos valores obtidos pelo equipamento relativamente aos valores interpolados na reta de calibração, podendo ser obtido através das funcionalidades da ferramenta Excel ou pela **Equação 11**⁵⁷.

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [\hat{y}_i - (a + b \cdot c)]^2}{n - 2}}$$

Equação 11⁵⁷

em que \hat{y}_i representa o sinal obtido por interpolação na reta de calibração e n o número de medições efetuadas.⁵⁷

Geralmente efetua-se o teste para a rejeição de valores da reta de calibração, onde um resultado da reta de calibração é desprezado caso satisfaça a condição descrita na **Equação 12**⁵⁴.

$$|y - \hat{y}_i| \geq 2S_{y/x}$$

Equação 12⁵⁴

Os desvios padrão associados ao declive e à ordenada na origem da reta de calibração, S_b e S_a respetivamente, são calculados pelas **Equações 13**⁵⁷ e **14**⁵⁷.

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum (c - \bar{c})^2}}$$

Equação 13⁵⁷

em que \bar{c} representa a média das concentrações.⁵⁷

$$S_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum c^2}{n \sum (c - \bar{c})^2}}$$

Equação 14⁵⁷

Por sua vez, os limites de confiança associados ao declive e à ordenada na origem são apresentados conforme descrito nas **Equações 15**⁵⁷ e **16**⁵⁷, respetivamente, onde o valor de t é obtido a partir da tabela t-student considerando um nível de confiança de 95 % e $n-2$ graus de liberdade (g.l).⁵⁷

$$b \pm tS_b$$

Equação 15⁵⁷

$$a \pm tS_a \quad \text{Equação 16}^{57}$$

Assim, a equação da reta de calibração é dada pela **Equação 17**⁵⁷.

$$y = (b \pm tS_b)c + (a \pm tS_a) \quad \text{Equação 17}^{57}$$

O coeficiente de correlação, vulgarmente conhecido como r , é uma variável estatística que permite aferir a calibração analítica, ou seja, a correlação existente entre o x e o y . Este parâmetro é adimensional e pode situar-se entre -1 e 1, sendo que o valor de -1 revela uma correlação negativa, o valor de zero indica a inexistência de correlação linear entre as variáveis x e y e o resultado de 1 demonstra uma correlação positiva.^{57,59} O Guia RELACRE 13⁵⁷ recomenda um r superior a 0,995.⁵⁷ O r pode ser obtido a partir das ferramentas do software Excel ou através da **Equação 18**⁵⁷.

$$r = \frac{\sum\{(c - \bar{c})(y - \bar{y})\}}{\sqrt{[\sum(c - \bar{c})^2 \sum(y - \bar{y})^2]}} \quad \text{Equação 18}^{57}$$

em que \bar{y} representa a média dos sinais instrumentais.

Para averiguar se a correlação é significativa, pode-se efetuar um teste de significância t (**Equação 19**⁵⁴), a partir do qual se conclui a existência de correlação entre x e y se o t calculado, em módulo, for superior ao t tabelado ou o contrário se o t calculado, em módulo, for igual ou inferior ao t tabelado. O t tabelado é obtido a partir da tabela t -student, assumindo um nível de confiança de 95 % e $n-2$ graus de liberdade.⁵⁴

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad \text{Equação 19}^{54}$$

1.7.2. Sensibilidade

A sensibilidade traduz-se na variação do sinal instrumental em função da alteração da concentração do analito, conforme descrito na **Equação 20**.^{54,56,57}

$$\text{Sensibilidade} = \frac{\Delta y}{\Delta c} \quad \text{Equação 20}^{54}$$

em que Δy representa a variação do sinal instrumental e Δc a variação da concentração.⁵⁴

Num modelo linear, a sensibilidade corresponde ao declive da reta de calibração, mantendo-se estável ao longo da mesma. Em contrapartida, numa função quadrática, o parâmetro sensibilidade é

definido como a primeira derivada da reta de calibração num dado valor de concentração, variando ao longo da reta de calibração.^{54,57}

O estudo deste parâmetro analítico é muito importante, pois permite aferir a sensibilidade dos métodos ao longo do tempo, estabelecer as diferenças desta grandeza para diversos analitos e comparar a magnitude do sinal em inúmeros métodos analíticos de função linear e destinados a quantificar o mesmo analito.⁵⁷

1.7.3. Gama de trabalho

A gama de trabalho é definida como o intervalo de concentrações em que o método de análise apresenta resultados fidedignos com uma incerteza aceitável.^{56,63} O limite inferior da gama de trabalho é considerado o limite de quantificação, enquanto que a extremidade superior da gama de trabalho corresponde à concentração em que se começam a verificar irregularidades na sensibilidade do método. Este parâmetro analítico pode ser classificado como instrumental ou do método. Na gama de trabalho instrumental é traçada uma reta de calibração do sinal de resposta obtido em função da concentração do analito em estudo. Em contrapartida, a gama de trabalho do método consiste num gráfico em que o eixo das ordenadas corresponde às concentrações obtidas e o eixo das abcissas as concentrações conhecidas, obtendo-se assim uma equação da reta em que o declive é igual a um e a ordenada na origem igual a zero.^{54-56,61}

De forma a avaliar a gama de trabalho, é fundamental ter em consideração o processo de calibração sugerido e a linearidade do método.⁵⁴ Por sua vez, quando um método envolve a elaboração de uma reta de calibração, recorre-se ao teste de homogeneidade de variâncias para avaliar a gama de trabalho, sendo aconselhável a norma ISO 8466-1⁶¹ para modelos lineares e a norma ISO 8466-2⁶² para modelos polinomiais de segundo grau.^{57,61,62} A partir do teste de homogeneidade de variâncias é possível averiguar se a gama de trabalho está ajustada. Por isso, são efetuadas dez réplicas independentes do primeiro e último padrão da reta de calibração. A norma ISO 8466-1⁶¹ aconselha a preparação de dez padrões de calibração, sendo cinco padrões o mínimo recomendável. As variâncias (S^2) do primeiro e último padrão são determinadas pela **Equação 21**.^{54-57,61}

$$S^2 = \frac{\sum_{j=1}^{10} (y_{i,j} - \bar{y}_i)^2}{n_{i-1}} \quad \text{Equação 21}^{57}$$

Através dos resultados obtidos pela **Equação 21**⁵⁷, é calculado o valor de PG de acordo com as **Equações 22**⁵⁷ ou **23**⁵⁷, conforme a situação.

$$PG = \frac{S_1^2}{S_{10}^2}, \text{ se } S_1^2 > S_{10}^2 \quad \text{Equação 22}^{57}$$

$$PG = \frac{S_{10}^2}{S_1^2}, \text{ se } S_{10}^2 > S_1^2 \quad \text{Equação 23}^{57}$$

em que PG representa a razão entre variâncias, S_1^2 a variância obtida para o primeiro padrão da reta de calibração e S_{10}^2 a variância do último padrão da reta de calibração, que idealmente corresponde ao décimo padrão da reta de calibração.⁵⁷

Em seguida, o valor de PG calculado pelas **Equações 22**⁵⁷ ou **23**⁵⁷ é comparado com o valor tabelado da distribuição de *Fisher-Snedecor* (F) para n-1 graus de liberdade. Caso $PG \leq F$ as desigualdades entre as variâncias não são significativas e a gama de trabalho encontra-se bem ajustada. Se verificar-se a condição $PG > F$ comprova-se que as diferenças entre as variâncias são consideráveis e a gama de trabalho não está bem ajustada, pelo que se deve reduzir a mesma ou utilizar uma regressão ponderada.^{54,57}

1.7.4. Limiares analíticos

Os limiares analíticos são caracterizados pelo limite de deteção (LD) e pelo limite de quantificação (LQ). O LD corresponde à concentração mínima de analito que um método consegue detetar com um nível de confiança estabelecido, enquanto que o LQ consiste na concentração mínima quantificável por um método com um nível de confiança definido.^{54,56} Este parâmetro analítico pode ser distinguido entre limiares analíticos do método e instrumental. A principal diferença entre ambos reside no facto de que para LD/LQ do método é efetuado o mesmo tratamento das amostras teste às soluções ou amostras, ao contrário do LD/LQ instrumental onde as soluções não sofrem o processo de preparação de amostra.^{54,56}

Existem várias abordagens para a determinação dos limiares analíticos. O desvio padrão (S) é calculado por recurso às ferramentas do Excel, sendo posteriormente determinado o desvio padrão corrigido (S_0') de acordo com a **Equação 24**.^{54,56}

$$S_0' = \frac{S}{\sqrt{n}} \quad \text{Equação 24}^{56}$$

Através das **Equações 25⁵⁶** e **26⁵⁶** é possível determinar o LD e o LQ, respetivamente.

$$LD = 3 \times S'_0 \quad \text{Equação 25}^{56}$$

$$LQ = 10 \times S'_0 \quad \text{Equação 26}^{56}$$

Existe também uma metodologia alternativa a partir da qual se calcula o LD e o LQ pelo método gráfico, ou seja, com base nos valores provenientes da reta de calibração.⁵⁴ Assim sendo, o LD pode ser calculado através da **Equação 27⁵⁴**, enquanto o LQ pode ser determinado de acordo com a **Equação 28⁵⁴**.

$$LD = \frac{3,3 \times S_{y/x}}{b} \quad \text{Equação 27}^{54}$$

$$LQ = \frac{10 \times S_{y/x}}{b} \quad \text{Equação 28}^{54}$$

1.7.5. Precisão

A dispersão de resultados obtidos de várias medições na mesma amostra ou amostras idênticas sob determinadas circunstâncias é definida como precisão. Este parâmetro, associado aos erros aleatórios, pode ser avaliado em três condições, sendo elas, a repetibilidade, a precisão intermédia e a reprodutibilidade. A repetibilidade espelha a precisão obtida em ensaios repetidos na mesma amostra, utilizando o mesmo método de análise, equipamentos, tipo de reagentes e realizados no mesmo local pelo mesmo analista durante um curto espaço de tempo, geralmente, no mesmo dia. A precisão intermédia, também designada de reprodutibilidade intralaboratorial, exprime os resultados obtidos por um determinado método de análise, efetuado pelo mesmo operador, no mesmo local e utilizando os mesmos reagentes e equipamentos, durante um longo período de tempo, ou seja, em dias distintos. Por fim, a reprodutibilidade relaciona-se com medições repetidas na mesma amostra utilizando o mesmo método de análise, mas realizado em locais distintos, por diferentes analistas e usando diferentes equipamentos e, portanto, em laboratórios diferentes. Como tal, prevê-se que se observe uma menor variabilidade nos resultados provenientes da repetibilidade, seguindo-se a precisão intermédia e depois a reprodutibilidade.^{54,56,57,63-65}

A precisão varia com a concentração do analito em estudo. Por este motivo, torna-se importante avaliar este parâmetro em vários níveis de concentração. Além disso, espera-se obter uma maior variabilidade nos resultados à medida que a concentração do analito diminui.^{54,56}

De modo a avaliar a precisão é calculado o coeficiente de variação (CV) de acordo com a **Equação 29**⁵⁴.

$$CV = \frac{S}{\bar{c}} \times 100 \quad \text{Equação 29}^{54}$$

As condições de repetibilidade e precisão intermédia podem ser estudadas individualmente ou em simultâneo, através do recurso à ferramenta ANOVA (proveniente do inglês: *Analysis of Variance*). Por sua vez, a reprodutibilidade, geralmente, é avaliada em conjunto com a repetibilidade.⁵⁴

1.7.5.1. Repetibilidade

Para avaliação individual da repetibilidade são efetuadas seis a quinze réplicas a um material de referência (MR), a uma amostra teste ou a um branco fortificado durante um curto intervalo de tempo.^{56,63} Em seguida, é determinado o desvio padrão de repetibilidade (S_r) através das ferramentas do Excel e o coeficiente de variação de repetibilidade (CV_r) pela **Equação 30**⁵⁷.

$$CV_r = \frac{S_r}{\bar{c}} \times 100 \quad \text{Equação 30}^{57}$$

A partir do S_r é calculado o limite de repetibilidade (r_r), conforme a **Equação 31**⁵⁷. A informação proveniente do r_r permite ao analista decidir se aceita ou não os valores obtidos de duas réplicas em condições de repetibilidade.⁵⁴

$$r_r = 2,8 \times S_r \quad \text{Equação 31}^{57}$$

1.7.5.2. Precisão intermédia

O estudo da precisão em condições de precisão intermédia é efetuado a partir da análise de seis a quinze réplicas de um MR, uma amostra teste ou um branco fortificado.^{54,56} O desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}) é calculado, obtendo-se de seguida o coeficiente de variação de precisão intermédia (CV_{PI}) pela **Equação 32**.

$$CV_{PI} = \frac{S_{PI}}{\bar{c}} \times 100 \quad \text{Equação 32}$$

Por sua vez, o limite de precisão intermédia (r_{PI}) pode ser determinado através da **Equação 33**⁵⁴.

$$r_{PI} = 2,8 \times S_{PI}$$

Equação 33⁵⁴

1.7.5.3. Repetibilidade e precisão intermédia

Como referido anteriormente, a ANOVA separa e estima as diferentes causas de variação, permitindo a avaliação em simultâneo da precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia.⁶⁶ Esta ferramenta estatística agrupa os resultados por dia, método, analista, equipamento, ou outros, possibilitando a associação das variâncias entre e dentro de grupos. A informação proveniente da ANOVA: fator único, esquematizada na **Tabela 4**, tem em consideração p grupos (geralmente, entre 6 a 15 grupos de medidas), com n replicados (usualmente, duplicados, ou seja, n=2) para um total de N ensaios (N=pxn) e graus de liberdade (g.l.).^{54,66-68}

Tabela 4. Informações provenientes da ANOVA: fator único. Cada linha corresponde a uma fonte de variação diferente. A primeira linha representa a variação entre grupos (**Equações 34 e 37**), a segunda linha ilustra a variação dentro de grupos (**Equações 35 e 38**) e a terceira linha descreve a variação total do conjunto de valores (**Equações 36 e 39**). Adaptada de: Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics⁶⁶.

Fonte de variação	Soma dos quadrados (SQ)	Equação	Graus de liberdade (g.l.)	Quadrado médio (QM)	Equação
Entre grupos (b)	$SQ_b = n \sum_i (\bar{c}_i - \bar{c})^2$	34	p - 1	$QM_b = \frac{SQ_b}{(p - 1)}$	37
Dentro de grupos (w)	$SQ_w = \sum_i \sum_j (\bar{c}_{ij} - \bar{c})^2$	35	N - p	$QM_w = \frac{SQ_w}{(N - p)}$	38
Total	$SQ_{total} = SQ_b + SQ_w$	36	N - 1	-	39

A partir da informação obtida da ANOVA: fator único é possível calcular o S_r , o desvio padrão entre grupos ($S_{between}$) e o S_{PI} , pelas **Equações 40⁵⁶**, **41⁵⁶** e **42⁵⁶**, respetivamente.

$$S_r = \sqrt{QM_w} \quad \text{Equação 40}^{56}$$

$$S_{between} = \sqrt{\frac{QM_b - QM_w}{n}} \quad \text{Equação 41}^{56}$$

$$S_{PI} = \sqrt{S_r^2 + S_{between}^2}$$

Equação 42⁵⁶

1.7.6. Justeza

A justeza, também denominada de veracidade, define-se como o grau de concordância entre o valor médio de várias medições e um valor de referência, aceite como verdadeiro.^{54,57,63} Em contrapartida, a exatidão indica a diferença entre um resultado de uma medição e um valor verdadeiro de uma mensuranda, englobando, assim, a contribuição da veracidade e da precisão.^{54,56,57}

O parâmetro justeza não pode ser medido, pelo que é quantitativamente expresso como *bias*. O *bias* total é formado pelo *bias* do método (erros sistemáticos característicos do método e independentes do laboratório) e pelo *bias* do laboratório (erros sistemáticos resultantes do desempenho do laboratório).^{54,56}

De modo a determinar quantitativamente a justeza, existem três abordagens: participação em ensaios interlaboratoriais, ensaios de recuperação, análise de materiais de referência (MR) e testes comparativos com outro método.^{54-57,63}

1.7.6.1. Ensaio interlaboratoriais

Um laboratório deve ter implementado um sistema de gestão de qualidade (SGQ) dos valores obtidos. Para tal, deve ter em consideração dois processos: controlo de qualidade interno (CQI) e controlo de qualidade externo (CQE).⁵⁶ De forma a garantir o CQE pode-se recorrer à participação em ensaios interlaboratoriais. Nestes ensaios participam vários laboratórios com o intuito de avaliar o desempenho de ensaios sob condições pré-definidas para posterior comparação e determinação da exatidão.^{60,69,70} Existem vários tipos de ensaios interlaboratoriais de acordo com a finalidade pretendida, podendo ser denominados de ensaios colaborativos/normalização, ensaios comparativos, ensaios de consenso/conformidade, ensaios de certificação ou ensaios de aptidão.⁷¹

O parâmetro mais usado para averiguar os valores obtidos num ensaio interlaboratorial designa-se por *z-score* e pode ser calculado através da **Equação 43**.^{54,72}

$$Z = \frac{VL - VR}{d}$$

Equação 43⁵⁴

em que Z representa o valor de *z-score*, VL o resultado obtido pelo laboratório, VR o valor de referência e d o desvio.⁵⁴

Um *Iz-score* inferior ou igual a dois indica que o resultado obtido é satisfatório, enquanto um *Iz-score* entre dois e três indica que o valor obtido é questionável. Já um *Iz-score* igual ou superior a três revela que o resultado é insatisfatório.^{54,72}

Por sua vez, o erro normalizado é determinado pela **Equação 44**⁵⁴ com o objetivo de avaliar o desempenho do laboratório.^{54,72}

$$E_n = \frac{VL - VR}{\sqrt{U_{lab}^2 + U_{ref}^2}} \quad \text{Equação 44}^{54}$$

em que E_n representa o erro normalizado, U_{lab} a incerteza expandida do valor obtido pelo laboratório e U_{ref} a incerteza expandida do resultado considerado como verdadeiro (referência).⁵⁴

Um $|E_n|$ menor ou igual a um indica que o valor obtido é satisfatório, enquanto que um $|E_n|$ superior a um indica que o valor obtido não é satisfatório.⁷²

1.7.6.2. Ensaios de recuperação

Por definição, um ensaio de recuperação consiste na adição de uma determinada quantidade do analito em estudo a uma amostra ou branco de amostra.⁷³ Dado que as amostras possam já conter o analito em estudo, deve-se ter em atenção que a fortificação não ultrapasse a gama de trabalho, pois caso aconteça não há garantia da linearidade da função.^{54,56} Como tal, são analisadas no mínimo dez réplicas da amostra ou branco de amostra, seguindo-se a fortificação.⁵⁶ Procede-se de novo à análise das dez réplicas da amostra ou branco de amostra fortificado. A recuperação é determinada pela **Equação 45**⁵⁶, em que idealmente o valor obtido deve ser de 100 %. Porém, este resultado depende do procedimento utilizado assim como da concentração de analito presente na amostra, pelo que se recomenda determinar a recuperação em pelo menos três níveis de concentração da gama de trabalho.⁷³

$$R' (\%) = \frac{\bar{c}' - \bar{c}_{ER}}{c_{spike}} \times 100 \quad \text{Equação 45}^{56}$$

em que R' representa a recuperação, \bar{c}' a média dos resultados obtidos após a fortificação, \bar{c}_{ER} a média dos resultados obtidos antes da fortificação e c_{spike} a concentração de analito adicionado na fortificação.⁵⁶

1.7.6.3. Materiais de referência

Materiais de referência (MR) são, por definição, materiais que apresentam uma composição química conhecida, estabilidade, homogeneidade e representatividade em relação a determinadas características.⁵⁶ Além destes, existem os materiais de referência certificados (MRC) que para além de possuírem todas as propriedades mencionadas vêm acompanhados de um certificado que apresenta a concentração, respetiva incerteza associada e um documento de rastreabilidade metrológica.^{56,70} Por vezes, a aquisição de MRC é desvantajosa dado estes materiais serem caros ou não retratarem por completo a matriz de interesse. Quando tal acontece, recorre-se à preparação de materiais de referência internos (MRI). No entanto, estes devem ser rastreáveis aos MRC.⁷⁰

Um uso adequado de materiais de referência permitem a avaliação do desempenho de um analista, equipamento e método de análise.^{56,57} Para tal, realizam-se no mínimo dez réplicas independentes para cálculo do *bias* absoluto e relativo pelas **Equações 46**⁵⁶ e **47**⁵⁶, respetivamente.⁵⁶ O critério de aceitabilidade do *bias* é definido por cada laboratório tendo em consideração a finalidade da análise e a literatura referente ao método utilizado. Porém, teoricamente, considera-se um *bias* satisfatório quando este demonstra ser inferior a 5 %.⁵⁷

$$b = |\bar{x} - x_{ref}| \quad \text{Equação 46}^{56}$$

em que b representa o *bias*, \bar{x} a média dos valores obtidos e x_{ref} o valor estabelecido no material de referência.

$$b (\%) = \frac{|\bar{x} - x_{ref}|}{x_{ref}} \times 100 \quad \text{Equação 47}^{56}$$

A recuperação aparente (R) é calculada pela **Equação 48**⁵⁶.

$$R (\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100 \quad \text{Equação 48}^{56}$$

1.7.7. Incerteza de medição

Todos os dias, decidem-se medidas importantes fundamentadas em resultados de análises. Por este motivo, a norma NP EN ISO 17025⁵⁸ exige que cada laboratório apresente os resultados de medições acompanhados das respetivas incertezas associadas, uma vez que as incertezas permitem aferir a confiança nos resultados, comparar valores de determinações, garantir que as decisões tomadas são seguras e as mais indicadas para a finalidade em questão, entre outros fatores.^{54,58,68,74,75}

Uma incerteza é, por definição, um parâmetro não negativo associado a um resultado de um ensaio, que descreve a dispersão dos resultados concedidos a uma mensuranda.^{54,75} A incerteza de medição pode ser determinada recorrendo à abordagem passo a passo ou à abordagem baseada em dados de validação e controlo de qualidade.^{76,77}

1.7.7.1. Abordagem passo a passo

Geralmente, as incertezas associadas às soluções desenvolvidas em laboratório são determinadas pela abordagem passo a passo. Esta metodologia envolve quatro etapas, conforme ilustrado na **Figura 9**⁷⁵.

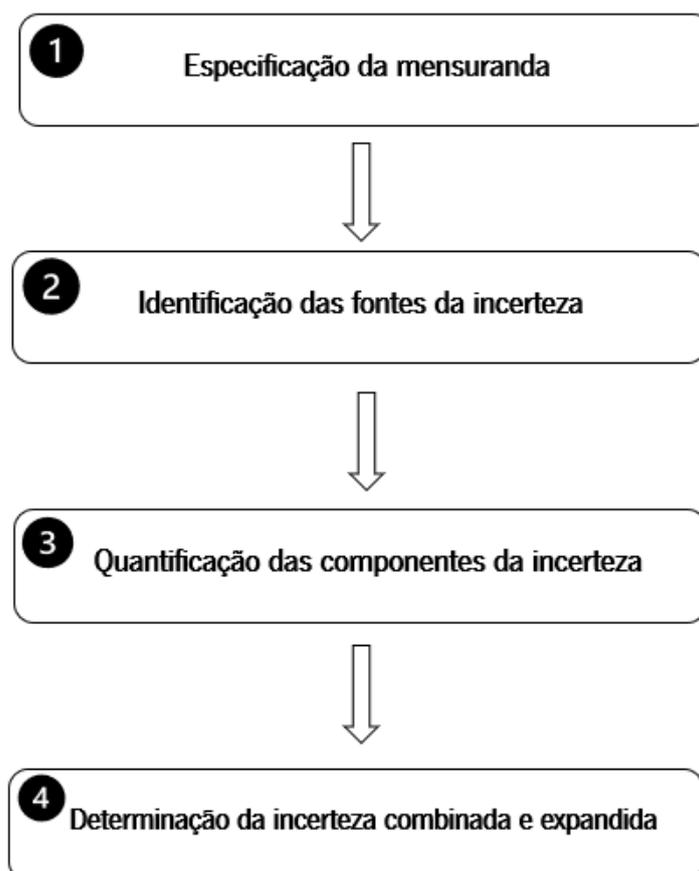


Figura 9. Metodologia passo a passo. Etapas para a quantificação da incerteza de medição pela abordagem passo a passo. Adaptada de: EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement⁷⁵.

A primeira etapa consiste na especificação da mensuranda, através de uma equação matemática. Na segunda etapa é elaborado um diagrama espinha de peixe (**Figura 10**⁷⁵) também designado por “causa-efeito”, onde estão descritas as fontes da incerteza tidas em consideração.

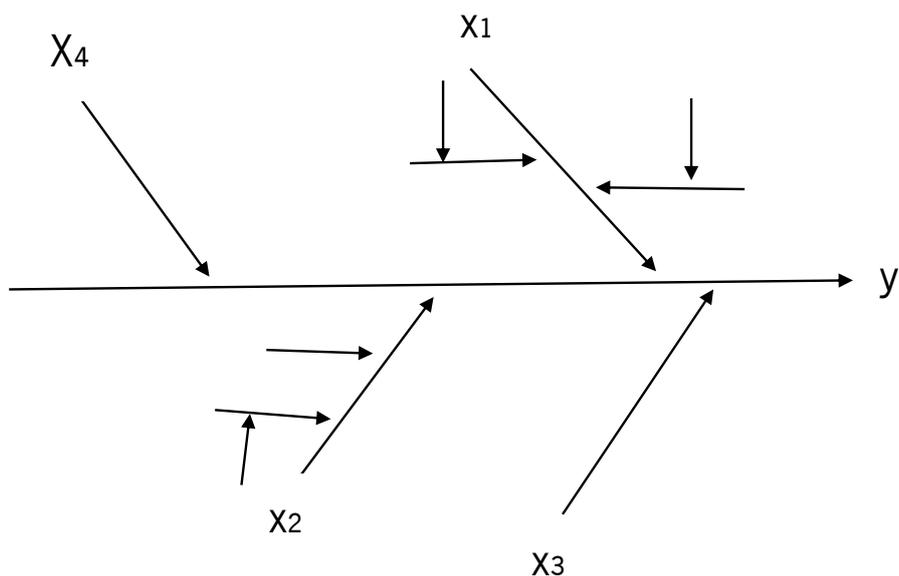


Figura 10. Diagrama espinha de peixe. Exemplo de um diagrama espinha de peixe com as componentes de incerteza (x_1 , x_2 e x_3) tidas em consideração para a determinação da incerteza associada à mensuranda y . Adaptada de: EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement⁷⁵.

Na terceira etapa é determinada a incerteza de cada componente descrita no diagrama espinha de peixe. Inicialmente, calcula-se a incerteza padrão ($u(x)$) para cada fator associado a cada componente da incerteza. A $u(x)$ pode assumir uma distribuição retangular, ou seja, todos os valores da mensuranda apresentam a mesma probabilidade (**Equação 49**⁷⁵), ou uma distribuição triangular, em que se verifica uma maior probabilidade no valor central face aos valores extremos (**Equação 50**⁷⁵).⁷⁵ Neste trabalho considerou-se sempre uma distribuição retangular, exceto para o material volumétrico onde se assumiu uma distribuição triangular.

$$u(x) = \frac{u}{\sqrt{3}} \quad \text{Equação 49}^{75}$$

em que $u(x)$ representa a incerteza padrão e u a incerteza.

$$u(x) = \frac{u}{\sqrt{6}} \quad \text{Equação 50}^{75}$$

Para o cálculo da $u(x)$ é necessária informação acerca da incerteza (u) que, geralmente é fornecida pelo fabricante dos materiais e reagentes utilizados. Porém, a incerteza associada à temperatura e a incerteza padrão associada à operação de pesagem podem ser calculadas pelas **Equações 51**⁵⁴ e **52**⁷⁶, respetivamente.

$$u_{temperatura} = \Delta T \times 0,00021 \times V \quad \text{Equação 51}^{54}$$

em que $u_{temperatura}$ representa a incerteza associada à temperatura, ΔT o intervalo de temperatura considerado que, no caso do presente trabalho, foi ± 3 °C, $0,00021$ °C⁻¹ o coeficiente de expansão da água e V o volume medido.

$$u(x)_m = \sqrt{2 \times (u_{Calib.Bal})^2 + 2 \times (u_{Rep.Bal})^2} \quad \text{Equação 52}^{76}$$

em que $u(x)_m$ representa a incerteza padrão do desvio entre a massa bruta e a massa da tara, $u_{Calib.Bal}$ a incerteza associada à calibração da balança e $u_{Rep.Bal}$ a incerteza associada à repetibilidade da pesagem.⁷⁶

No caso da incerteza associada ao volume da pipeta, da proveta ou do balão volumétrico, por exemplo, é determinada uma $u(x)$ geral que contempla os fatores associados: a calibração e a temperatura. Esta $u(x)$ geral pode ser calculada pela **Equação 53**.

$$u(x)_{geral} = \sqrt{(u(x)_1)^2 + \dots + (u(x)_n)^2} \quad \text{Equação 53}$$

em que $u(x)_1$ a $u(x)_n$ representam as várias incertezas padrão associadas a cada componente da incerteza.

A incerteza combinada (u_c) é calculada através da **Equação 54**.

$$u_c = C_{sol.} \times \sqrt{\left(\frac{u(x)_1}{x_1}\right)^2 + \dots + \left(\frac{u(x)_n}{x_n}\right)^2} \quad \text{Equação 54}$$

em que $C_{sol.}$ representa a concentração efetiva da solução e $\frac{u(x)_1}{x_1}$ a $\frac{u(x)_n}{x_n}$ as incertezas padrão relativas das várias componentes da incerteza.

Por fim, é determinada a incerteza expandida (U) a partir da **Equação 55**⁷⁶, considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para um nível de confiança de 95 %.

$$U = u_c \times k \quad \text{Equação 55}^{76}$$

1.7.7.2. Abordagem baseada em dados de validação e controlo de qualidade

A estimativa da incerteza de um método analítico apoia-se nos dados de validação e controlo de qualidade.⁷⁷ Quer isto dizer que, para o cálculo da incerteza combinada (**Equação 56**) e posterior

determinação da incerteza expandida pela **Equação 57**, é necessário considerar as informações relativas à precisão (componente dos erros aleatórios) e à justeza (componente dos erros sistemáticos).

$$u_c = \sqrt{u_{RW}^2 + u_b^2} \quad \text{Equação 56}^{77}$$

em que u_c representa a incerteza combinada, u_{RW} a incerteza associada à precisão e u_b a incerteza associada à justeza.

$$U = (u_c \times k) \times 100 \quad \text{Equação 57}$$

Salienta-se que no trabalho prático desenvolvido as incertezas de cada método foram expressas em percentagem.

Assim sendo, existem diversas metodologias para quantificar a incerteza associada à precisão (u_{RW}) e à justeza (u_b).

1.7.7.2.1. Incerteza associada à precisão

Os erros aleatórios podem ser avaliados através de ensaios com replicados de amostras e/ou padrões de controlo ou com amostras de controlo. A u_{RW} referente a esta última situação, que foi a eleita no trabalho prático desenvolvido, pode ser determinada considerando o desvio padrão de precisão intermédia (**Equação 58**⁷⁷). Por conseguinte, a u_{RW} na forma relativa é expressa através da **Equação 59**.

$$u_{RW} = S_{PI} \quad \text{Equação 58}^{77}$$

$$u_{RW} \text{ relativa} = \frac{S_{PI}}{c} \quad \text{Equação 59}$$

1.7.7.2.2. Incerteza associada à justeza

A avaliação do bias do laboratório e do método pode ser efetuada recorrendo à participação em ensaios interlaboratoriais, à realização de ensaios de recuperação e a análises a um material de referência (MR).

A u_b associada à participação em ensaios interlaboratoriais é estimada a partir da **Equação 60**⁷⁷.

$$u_b = \sqrt{D_{rms}^2 + u_{CrefEIL}^2} \quad \text{Equação 60}^{77}$$

em que D_{rms} representa a raiz quadrada média do desvio entre o resultado obtido e o definido para cada amostra e $u_{crefEIL}$ a incerteza definida no ensaio interlaboratorial.

A u_b proveniente da informação relativa a ensaios de recuperação é determinada pela **Equação 61**⁷⁷.

$$u_b = \sqrt{b_{rms}^2 + u_{add}^2} \quad \text{Equação 61}^{77}$$

em que b_{rms} representa o quadrado médio relativo dos desvios das análises de fortificação da amostra e u_{add} a incerteza da adição do analito.

Por último, a **Equação 62**⁷⁷ ilustra u_b estabelecida a partir da utilização de um material de referência.

$$u_b = \sqrt{b^2 + \left(\frac{S_{bM}}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + u_{crefM}^2} \quad \text{Equação 62}^{77}$$

em que S_{bM} representa o desvio padrão das réplicas independentes realizadas ao material de referência, n_M o número de ensaios efetuados com o material de referência e u_{crefM} a incerteza do material de referência.

1.7.8. Testes estatísticos

1.7.8.1. Teste de Grubbs

No tratamento de dados, existem resultados que revelam informação pertinente do objeto analisado e valores que demonstram ser insignificantes, pelo que podem ser rejeitados. A NP EN ISO 17025⁵⁸ recomenda o uso do teste de Grubbs para averiguar os outliers. Este teste compara o desvio do valor suspeito da média das determinações efetuadas com o desvio padrão dos valores obtidos, considerando o valor suspeito aquele que mais se afasta do valor médio das determinações.⁶⁶

No teste de Grubbs, define-se como hipótese nula (H_0) o resultado suspeito não apresentar diferenças consideráveis comparativamente com os restantes valores obtidos. Assim, calcula-se o valor de G através da **Equação 63**.^{66,78}

$$G_{calculado} = \frac{|x_s - \bar{x}|}{S} \quad \text{Equação 63}^{66}$$

em que x_s representa o valor suspeito.

Em seguida, compara-se o G calculado com o G tabelado, considerando n observações e um nível de confiança de 95 %. Se o G calculado for menor que o G tabelado, o valor suspeito não é desprezado. Em contrapartida, se o G calculado for igual ou superior ao G tabelado, o valor suspeito é rejeitado.^{66,78}

1.7.8.2. Teste t

A comparação de dois métodos de análise pode ser realizada utilizando um teste de significância t. Este teste pode ser de comparação de médias, das diferenças (amostras emparelhadas) ou de regressão linear entre dois métodos.⁵⁷

No teste t de comparação de médias usa-se o teste *two-tailed* (bicaudal), uma vez que neste teste pretende-se aferir se os resultados obtidos pelos dois métodos diferem significativamente. Assim, existem duas situações: as variâncias dos dois métodos divergirem significativamente ou as variâncias dos dois métodos não diferem significativamente. Caso as variâncias dos dois métodos não diferirem significativamente, o t calculado é determinado pela **Equação 64**.^{54,57,66}

$$t_{calculado} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{S^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \quad \text{Equação 64}^{66}$$

Se o t calculado, em módulo for inferior ao valor t tabelado presente na tabela t-student para $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade concluiu-se que os dois métodos testados são equivalentes. Caso contrário, os valores obtidos pelos dois métodos diferem significativamente, pelo que não são equivalentes.^{54,66}

1.7.9. Cartas de controlo de médias ou de indivíduos

Os resultados obtidos num laboratório são monitorizados de forma a assegurar que estes são válidos. Para isso, são efetuados testes estatísticos como referido anteriormente. Porém, estes testes apenas avaliam os resultados quando se efetua a análise e não ao longo do tempo.⁵⁹ Como tal, são utilizadas as cartas de controlo para assegurar o CQI do laboratório. Estas cartas surgiram em 1931 por Walter A. Shewhart com o intuito de averiguar o processo laboratorial e tomar medidas corretivas de imediato, sem que sejam necessários cálculos para tal decisão. Existem vários tipos de cartas de controlo, designadas por cartas de somas cumulativas (cartas “CuSum”), cartas de amplitudes ou de amplitudes móveis e cartas de médias ou de indivíduos (de Shewhart).⁷⁰

As cartas de médias ou de indivíduos exibem a variação de um dado parâmetro em relação ao tempo, permitindo o controlo da exatidão. Este tipo de cartas subdividem-se em cartas de médias (os pontos apresentados na carta são valores médios de análises efetuadas) e em cartas de indivíduos (cada ponto da carta é um ensaio experimental).^{54,70} Para a construção de um carta de controlo de

médias ou de indivíduos, representada na **Figura 11**⁷⁰, são necessárias 20 a 30 determinações de um determinado material. A presença de *outliers* é verificada de modo a determinar a média e o desvio padrão dos valores obtidos.^{54,70}

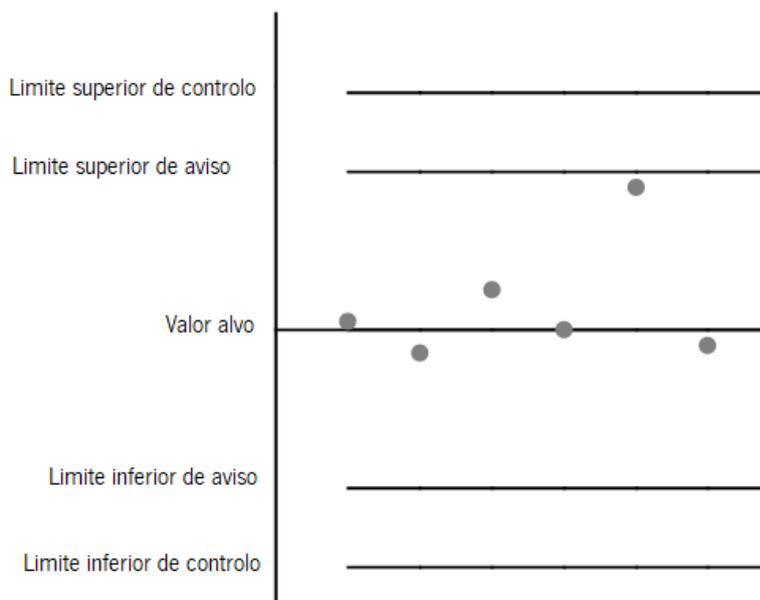


Figura 11. Carta de controle de médias ou de indivíduos. Representação de uma carta de controle de Shewhart com os respectivos limites definidos. Adaptada de: Guia RELACRE 13 - Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química⁵⁷.

Os limites de uma carta de controle de indivíduos são definidos como valor alvo, limite superior de aviso (LSA), limite inferior de aviso (LIA), limite superior de controle (LSC) e limite inferior de controle (LIC). O valor alvo representa a linha central que é o valor médio das determinações ou a concentração nominal de um MR, por exemplo. Já os valores LSA, LIA, LSC e LIC são definidos pelas **Equações 65**⁷⁰, **66**⁷⁰, **67**⁷⁰ e **68**⁷⁰, respetivamente. Os LSA e LIA são obtidos com 95 % de confiança, enquanto os LSC e LIC são obtidos com um nível de confiança de 99,7 %.^{54,70}

$$LSA = \bar{x} + 2 \times S \quad \text{Equação 65}^{70}$$

$$LIA = \bar{x} - 2 \times S \quad \text{Equação 66}^{70}$$

$$LSC = \bar{x} + 3 \times S \quad \text{Equação 67}^{70}$$

$$LIC = \bar{x} - 3 \times S \quad \text{Equação 68}^{70}$$

2. Parte Experimental

Neste capítulo são descritos os procedimentos experimentais referentes aos métodos da determinação da concentração de ureia, alcalinidade, matéria insolúvel, teor de fosfato e teor de biureto, baseados na norma ISO 22241-2⁴. Além disso, são mencionados os equipamentos, materiais, reagentes e soluções necessárias para a execução dos métodos.

A água desmineralizada usada ao longo do trabalho apresenta características muito próprias em relação à gama de pH e condutividade. Como tal, as propriedades da água desmineralizada encontram-se apresentadas na **Tabela 5**.¹⁹

Tabela 5. Características da água desmineralizada utilizada no trabalho. Especificações da água desmineralizada: pH e condutividade, expressa em $\mu\text{S}/\text{cm}$. Adaptada do plano de controlo da produção de AdBlue® - IT88¹⁹.

pH	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
5,00 - 7,00	< 4,00

2.1. Determinação da concentração de ureia pelo índice de refração

2.1.1. Equipamentos

O equipamento usado encontra-se mencionado na **Tabela 6**, assim como a respetiva marca, modelo e incerteza. As instruções de calibração/verificação do refratómetro referido na **Tabela 6** encontram-se descritas no **Anexo 6.1.1**.⁷⁹

Tabela 6. Equipamento utilizado para a determinação da concentração de ureia pelo índice de refração. Equipamento necessário para a determinação da concentração de ureia e índice de refração, com a respetiva marca, modelo e incerteza, expressa em unidades de IR.

Equipamento	Marca	Modelo	\pm Incerteza
Refratómetro	Bellingham + Stanley	RFM990-AUS	0,00005 IR

2.1.2. Materiais

Neste método apenas foi necessário utilizar pipetas de Pasteur como material.

2.1.3. Reagentes

A **Tabela 7** menciona as características do material de referência certificado (MRC) que foi utilizado.

Tabela 7. Reagentes utilizados no método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração. O material de referência certificado (MRC) utilizado vem acompanhado do respetivo estado físico, concentração da solução aquosa de ureia ([AUS], AUS proveniente do inglês: Aqueous Urea Solution), expressa em % (m/m), índice de refração e marca.

Reagente	Estado	[AUS] % (m/m)	Índice de refração	Marca
MRC	aquoso	32,5	1,38290 ± 0,000034	Bellingham + Stanley

2.1.4. Procedimento experimental

Levantar o prensador e proceder à limpeza do prisma com água desmineralizada. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, retirar uma pequena quantidade de amostra do centro do frasco que contém a amostra e descartar a mesma. De seguida, repetir a recolha da amostra e colocar a amostra na superfície do prisma, com o intuito de cobrir a mesma. Após se ter baixado o prensador e introduzido o respetivo valor de biureto da amostra, dar início à medição. Em cada análise, realizar três medições. Caso o índice de refração de duas das três medições se tenha desviado mais de 0,00005 nD20, repetir as determinações. O resultado deve ser expresso como a média aritmética dos três valores determinados, sendo arredondado ao valor mais próximo de 0,1 % para a fração mássica e até 0,0001 para o índice de refração de acordo com as indicações da norma ISO 22241-2.⁴

2.2. Determinação da alcalinidade

2.2.1. Equipamentos

Os equipamentos usados encontram-se na **Tabela 8**, assim como a respetiva marca, modelo e incerteza. As instruções de calibração/verificação do potenciómetro referido na **Tabela 8** estão exibidas no **Anexo 6.2.1**.⁸⁰.

Tabela 8. Equipamentos utilizados para a determinação da alcalinidade. Equipamento necessário para a determinação da alcalinidade, acompanhado da marca, modelo e incerteza.

Equipamento	Marca	Modelo	± Incerteza
Balança analítica	Mettler Toledo	XS204	0,0001 g
Potenciómetro	HANNA instruments	HI2210	0,01 unidades de pH

2.2.2. Materiais

A **Tabela 9** menciona os materiais utilizados, tal como a capacidade e incerteza associadas.

Tabela 9. Materiais utilizados para a determinação da alcalinidade. Materiais necessários para o método da alcalinidade com a respetiva capacidade e incerteza, expressas em ml.

Material	Capacidade (ml)	± Incerteza (ml)
Bureta	25,00	0,03
Balão volumétrico	50,00	0,06
	500,00	0,25
Matraz	250	-
Pipeta de Pasteur	-	-
Pipeta graduada	1,000	0,007
	5,00	0,03
Proveta	100,00	0,50

2.2.3. Reagentes

A **Tabela 10** indica as características dos reagentes que foram utilizados. As frases de perigo (H) e de prudência (P) de cada reagente mencionado na **Tabela 10** estão descritas no **Anexo 6.2.2 – Tabela 67**^{81,82}.

Tabela 10. Reagentes utilizados para a determinação da alcalinidade. Reagentes necessários para a realização do método da alcalinidade com a respetiva fórmula química, estado, massa molar expressa em g/mol e marca.

Reagente	Fórmula química	Estado	Massa molar g/mol	Marca
Ácido clorídrico	<i>HCl</i>	solução aquosa	36,46	Fisher Chemical
Amónia	<i>NH₃</i>	solução aquosa	17,03	VWR

2.2.4. Preparação das soluções

2.2.4.1. Solução de ácido clorídrico 0,010 mol/l (Anexo 6.2.3.)

Para obtenção da solução de ácido clorídrico 0,010 mol/l (Anexo 6.2.3.) recorreu-se a uma diluição do ácido clorídrico 1 mol/l comercial. Como tal, pipetou-se 5 ml de ácido clorídrico 1 mol/l para um balão volumétrico de 500 ml, perfazendo-o com água desmineralizada.

2.2.4.2. Solução de amónia 0,2818 ± 0,0034 % (m/m) (Anexo 6.2.4.)

Por diluição da amónia 28,18 % (m/m) comercial, pipetou-se 0,5 ml desta para um balão volumétrico de 50 ml, perfazendo-o com água desmineralizada.

2.2.5. Procedimento experimental

2.2.5.1. Preparação, manuseamento e conservação da amostra

Transportar e armazenar a uma temperatura que não excede os 25 °C a amostra recolhida. Fechar hermeticamente o frasco que contém AdBlue® e não interromper o tempo de análise para evitar a evaporação da amónia.

2.2.5.2. Determinação

Adicionar a um matraz 2 g de amostra e 100 ml de água desmineralizada. De seguida, titular com a solução de ácido clorídrico 0,010 mol/l, sob agitação controlada, até pH=7,5. Posteriormente titular, sob agitação reduzida, até ao ponto final de pH=5,7. Em cada análise, realizar duplicados. O resultado deve ser expresso como a média aritmética das duas medições, sendo arredondado ao valor mais próximo de 0,01 % para a fração mássica, de acordo com as indicações da norma ISO 22241-2.⁴

2.3. Determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico

2.3.1. Equipamentos

Os equipamentos utilizados constam na **Tabela 11**, assim como a marca, modelo e incerteza associadas.

Tabela 11. Equipamentos utilizados para a determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico. Equipamento necessário para a determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico, acompanhado da marca, modelo e incerteza.

Equipamento	Marca	Modelo	± Incerteza
Balança	BOECO Germany	-	0,01 g
Balança analítica	Mettler Toledo	XS204	0,0001 g
Equipamento para filtração a vácuo	-	-	-
Estufa	Scientific Engineering	922	0,1 °C

2.3.2. Materiais

Na **Tabela 12** estão apresentados os materiais utilizados.

Tabela 12. Materiais utilizados para a determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico. Materiais necessários para o método da matéria insolúvel com a respectiva capacidade e incerteza.

Material	Capacidade	± Incerteza (ml)
Balão volumétrico	1000,0 ml	0,4
	250,00 ml	0,15
Cadinhos de porcelana	100 ml	-
Espátula	-	-
Exsicador com sílica gel como agente de secagem	5 l	-
Filtros com membrana de mistura de ésteres de celulose	Tamanho do poro 0,8 µm, diâmetro 47 mm	-
Gobelé	600 ml	-
Pinça	-	-
Pipeta Pasteur	-	-
Placas de Petri de alumínio	-	-
Proveta	100,0 ml	1,0
	25,00 ml	0,25

2.3.3. Reagentes

A **Tabela 13** apresenta as características dos reagentes usados. As frases de perigo (H) e de prudência (P) de cada reagente mencionado na **Tabela 13** encontram-se descritas no **Anexo 6.3.1. – Tabela 69**^{83,84}.

Tabela 13. Reagentes utilizados para a determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico. Reagentes necessários para a determinação do método da matéria insolúvel com a respetiva fórmula química, estado, densidade e marca.

Reagente	Fórmula química	Estado	Densidade	Marca
Celulose microcristalina	(C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	sólido	1,50 kg/l	Biochem Chemopharma

2.3.4. Preparação das soluções

2.3.4.1. Solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 ± 4,1 mg/l (Anexo 6.3.2.)

A celulose microcristalina foi pesada (massa = 5,0010 g) e seca na estufa a 100 °C durante 1h. Em seguida, a um balão volumétrico de 1000 ml, foi adicionado a celulose microcristalina e água desmineralizada até perfazer o balão. Antes de cada utilização, a suspensão foi bem agitada.³⁷

2.3.4.2. Solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 ± 4,1 mg/l (Anexo 6.3.3.)

Por diluição da solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 ± 4,1 mg/l (**Anexo 6.3.2.**), transferiu-se 100 ml desta para um balão volumétrico de 1000 ml, perfazendo-o com água desmineralizada.

2.3.4.3. Solução padrão de celulose microcristalina 20,00 ± 0,45 mg/l (Anexo 6.3.4.)

A solução padrão de celulose microcristalina 20,00 ± 0,45 mg/l (**Anexo 6.3.4.**) foi preparada transferindo-se 10 ml da solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 ± 4,1 mg/l (**Anexo 6.3.3.**) para um balão volumétrico de 250 ml. Em seguida, perfez-se o balão com água desmineralizada.

2.3.5. Procedimento experimental

2.3.5.1. Preparação do filtro

Lavar o filtro no equipamento de filtração a vácuo com cerca de 100 ml de água desmineralizada. Posteriormente, secar o filtro na estufa a 105 °C e armazenar no exsiccador à temperatura ambiente. Antes de cada análise, pesar o filtro na placa de Petri.

2.3.5.2. Preparação da amostra

Agitar a amostra e transferir cerca de 100 ml da amostra para um gobelé de 600 ml com separação volumétrica. Registrar o peso da amostra. Adicionar ao gobelé 200 ml de água desmineralizada. A amostra não deve ser pipetada para pesagem.

2.3.5.3. Filtração

Sem aplicar vácuo, humedecer o filtro anteriormente preparado com cerca de 1 a 2 ml de água desmineralizada. Após filtração da amostra no equipamento de filtração a vácuo, lavar o gobelé com cerca de 5 porções de água desmineralizada (cada porção com cerca de 30 a 50 ml). Certificar se a amostra passou completamente pelo filtro antes da primeira lavagem. Por fim, secar o filtro na estufa a 105 °C e manter no exsiccador à temperatura ambiente até ser pesado.

2.4. Determinação do teor de fosfato

2.4.1. Equipamentos

As características dos equipamentos usados encontram-se na **Tabela 14**.

Tabela 14. Equipamentos utilizados para a determinação do teor de fosfato. Equipamento necessário para a determinação do teor de fosfato, acompanhado da marca, modelo e incerteza.

Equipamento	Marca	Modelo	± Incerteza
Balança analítica	Mettler Toledo	XS204	0,0001 g
Espectrofotômetro	Thermo scientific	Evolution 201	0,001 unidades de A
Estufa	Scientific Engineering	922	-
Mufla	NABERTHERM	LT 9/11/B410	-
Placa de aquecimento	VELP SCIENTIFICA	T.ARE	-

2.4.2. Materiais

Na **Tabela 15** constam os materiais usados para o método da determinação do teor de fosfato.

Tabela 15. Materiais utilizados para a determinação do teor de fosfato. Materiais necessários para o método da determinação do teor de fosfato com a respetiva capacidade e incerteza.

Material	Capacidade (ml)	± Incerteza (ml)
Balão volumétrico	50,00	0,06
	100,00	0,10
	200,00	0,15
	250,00	0,15
	500,00	0,25
	1000,0	0,4
Cadinhos de porcelana	100	-
Cuvete	3	-
Esferas de vidro	-	-
Espátula	-	-
Frasco de plástico	250	-
Frasco de vidro castanho	1000	-
Gobelé	100	-
	250	-
	600	-
Pinça	-	-
Pipeta graduada	1,000	0,007
	5,00	0,03
	10,00	0,05
Pipeta Pasteur	-	-
Pipeta volumétrica	1,000	0,007
	2,000	0,010
	10,00	0,02
	20,00	0,03
	25,00	0,03
	50,00	0,05

	100,00	0,08
Proveta	100,0	1,0
	250,0	2,0
Vareta	-	-

2.4.3. Reagentes

A **Tabela 16** apresenta as características dos reagentes usados. As frases de perigo (H) e de prudência (P) de cada reagente mencionado na **Tabela 16** encontram-se descritas no **Anexo 6.4.1. – Tabela 73**^{83,85-91}.

Tabela 16. Reagentes utilizados para a determinação do teor de fosfato. Reagentes necessários para a determinação do teor de fosfato com a respetiva fórmula química, estado, massa molar expressa em g/mol, pureza em % e marca.

Reagente	Fórmula química	Estado	Massa molar (g/mol)	Pureza %	Marca
Ácido ascórbico	$C_6H_8O_6$	sólido	176,13	99,7	Fisher Chemical
Ácido clorídrico	HCl	aquoso	36,46	-	ITW Reagents
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	aquoso	98,08	95,0 - 97,0	VWR
Carbonato de cálcio	$CaCO_3$	sólido	100,09	≥ 99,0	VWR
Dihidrogenofosfato de potássio	KH_2PO_4	sólido	136,09	≥ 99,9	VWR
Heptamolibdato de amónio tetrahidratado	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	sólido	1235,86	≥ 99,0	VWR
Padrão fosfato	PO_4^{-3}	aquoso	94,97	-	Hach
Tartarato de antimónio de potássio sesquihidratado	$C_4H_2KO_6Sb \cdot \frac{1}{5} H_2O$	sólido	333,93	≥ 99,0	Thermo scientific

2.4.4. Preparação das soluções

2.4.4.1. Solução de ácido ascórbico 100 g/l

Num frasco de plástico, dissolveu-se 10 g de ácido ascórbico em 100 ml de água desmineralizada. A solução foi armazenada no frigorífico durante 2 semanas. A solução foi utilizada desde que apresente um aspeto incolor.

2.4.4.2. Solução mãe de fosfato $202,45 \pm 0,60$ mg/l (Anexo 6.4.2.)

Num gobelé, dissolveu-se 286,6 mg de dihidrogenofosfato de potássio em água desmineralizada. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 1000 ml. Adicionou-se ao balão volumétrico, 2 ml de ácido sulfúrico e perpez-se o mesmo com água desmineralizada. A solução foi homogeneizada e armazenada num frasco de vidro castanho durante o máximo de 3 meses.

2.4.4.3. Solução intermédia de fosfato $2,0245 \pm 0,0080$ mg/l (Anexo 6.4.3.)

A um balão volumétrico de 1000 ml foi adicionado 10 ml da solução mãe de fosfato $202,45 \pm 0,60$ mg/l (Anexo 6.4.2.). Perpez-se o balão com água desmineralizada e armazenou-se a solução num frasco de vidro castanho.

2.4.4.4. Solução de reagente de desenvolvimento de cor

Num gobelé, dissolveu-se 13 g de heptamolibdato de amónio tetrahidratado em 250 ml de água desmineralizada. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 1000 ml, onde se adicionou 150 ml de ácido sulfúrico arrefecido. Num gobelé, dissolveu-se 0,35 g de tartarato de antimónio de potássio sesquihidratado em 100 ml de água desmineralizada e transferiu-se a solução para o balão volumétrico de 1000 ml. Esta solução foi armazenada numa garrafa de vidro castanha durante o máximo de 2 meses.

2.4.5. Procedimento experimental

2.4.5.1. Tratamento do material

Na lavagem do material utilizar detergentes comerciais sem fosfato.⁴⁰

Enxaguar todo o material de vidro utilizado assim como os cadinhos de porcelana com HCl diluído quente e de seguida lavar com água desmineralizada.⁴⁰ Posteriormente, incinerar os cadinhos de porcelana na mufla a 700 °C.

2.4.5.2. Preparação da reta de calibração

Para a construção da reta de calibração, preparar 6 soluções padrão de concentrações conhecidas ($0,03994 \pm 0,00030$; $0,07979 \pm 0,00051$; $0,1398 \pm 0,0012$; $0,1999 \pm 0,0014$; $0,2995 \pm 0,0022$; $0,3998 \pm 0,0025$ mg/kg em PO_4^{-3}), a partir da solução intermédia de fosfato de $2,0245 \pm 0,0080$ mg/l (Anexos 6.4.4. e 6.4.5.), de acordo com a Tabela 17. Adicionar água desmineralizada até um volume de aproximadamente 35 ml e proceder à determinação espectrofotométrica descrita em 2.4.5.6.

Tabela 17. Valores para a construção da reta de calibração do teor de fosfato das soluções padrão. Volumes pipetados em ml correspondentes às soluções padrão de fosfato para balões de 50 ml, massa de fosfato nas soluções padrão em μg e teor de fosfato nas soluções padrão em mg/kg.

Volume (ml)	Massa de fosfato nas soluções padrão (μg)	Teor de fosfato nas soluções padrão (mg/kg)
0	0	0
1	2	0,03994
2	4	0,07979
3,5	7	0,1398
5	10	0,1999
7,5	15	0,2995
10	20	0,3998

2.4.5.3. Verificação da reta de calibração

Preparar três soluções padrão de fosfato de concentrações iguais a $0,0400 \pm 0,0012$; $0,2000 \pm 0,0026$ e $0,4000 \pm 0,0049$ mg/kg, por diluição de uma solução comercial de fosfato de $10,0 \pm 0,1$ mg/l em PO_4^{-3} . (Anexo 6.4.6.). Para cada concentração efetuar três réplicas independentes. Ler a absorvância de cada solução padrão de fosfato consoante o procedimento descrito em 2.4.5.6.

2.4.5.4. Verificação do método

Analisar três réplicas independentes da solução padrão de $0,2025 \pm 0,0010$ mg/kg em PO_4^{-3} (Anexo 6.4.7.), tratada como uma amostra de rotina, ou seja, submetida ao processo de tratamento da amostra (2.4.5.5.) e realizar a determinação espectrofotométrica descrita em 2.4.5.6. Este

procedimento deve ser efetuado a cada 3 meses de forma a garantir resultados confiáveis segundo o documento normativo ISO 22241-2⁴.

2.4.5.5. Tratamento da amostra

Para o processo de decomposição das amostras, pesar 50 g de amostra e 0,05 g de carbonato de cálcio num cadinho. Em seguida, colocar o cadinho na estufa a 105 °C. Após secagem lenta, incinerar a amostra na mufla a 700 °C. Depois do procedimento de decomposição, adicionar à amostra 1 ml de ácido clorídrico e 20 a 30 ml de água desmineralizada. Numa placa de aquecimento, ferver a solução até os resíduos ficarem dissolvidos e o CO_2 removido. Transferir a solução para um balão volumétrico de 100 ml, perfazer o mesmo com água desmineralizada e homogeneizar a solução.

2.4.5.6. Determinação espectrofotométrica

Transferir 40 ml da amostra para um balão volumétrico de 50 ml. Em seguida, sob agitação, adicionar 2 ml da solução de desenvolvimento de cor e 1 ml da solução de ácido ascórbico. Perfazer o balão volumétrico com água desmineralizada e homogeneizar a solução. Após 10 a 30 minutos medir, em triplicado, a absorvância num comprimento de onda de 800 nm.

2.5. Determinação do teor de biureto

2.5.1. Equipamentos

A **Tabela 18** apresenta os equipamentos utilizados, acompanhados da respetiva marca, modelo e incerteza.

Tabela 18. Equipamentos utilizados para a determinação do teor de biureto. Equipamento necessário para a determinação do teor de biureto, acompanhado da marca, modelo e incerteza.

Equipamento	Marca	Modelo	± Incerteza
Balança analítica	Mettler Toledo	XS204	0,0001 g
Banho termostático	J.P.Selecta	PRECISDIG 6001197	0,1 °C
Espectrofotómetro	Thermo scientific	Evolution 201	0,001 unidades de A
Estufa	Scientific Engineering	922	0,1 °C
Potenciómetro	HANNA instruments	HI2210	0,01 unidades de pH

2.5.2. Materiais

Os materiais utilizados encontram-se na **Tabela 19**, assim como a capacidade e incertezas associadas.

Tabela 19. Materiais utilizados para a determinação do teor de biureto. Materiais necessários para o método da determinação do teor de biureto com a respetiva capacidade e incerteza.

Material	Capacidade (ml)	± Incerteza (ml)
Balão volumétrico	50,00	0,06
	250,00	0,15
	1000,0	0,4
Bureta	25,00	0,03
Cadinho de porcelana	100	-
Cuvete	3	-
Espátula	-	-
Exsicador com sílica gel como agente de secagem	5000	-
Gobelé	250	-
	600	-
	1000	-
Matraz	250	-
Pipeta de Pasteur	-	-
Pipeta graduada	5,00	0,03
	2,000	0,010
	10,00	0,02
	15,00	0,03
	20,00	0,03
Pipeta volumétrica	25,00	0,03
	250,0	2,0
	Vareta	-

2.5.3. Reagentes

A Tabela 20 menciona as características dos reagentes que foram usados. As frases de perigo (H) e de prudência (P) de cada reagente apresentado na Tabela 20 estão descritas no Anexo 6.5.1. – Tabela 85.^{81,83,92-95}

Tabela 20. Reagentes utilizados para a determinação do teor de biureto. Reagentes necessários para a realização do método da determinação do teor de biureto com a respetiva fórmula química, estado, massa molar expressa em g/mol, pureza em % e marca.

Reagente	Fórmula química	Estado	Massa molar (g/mol)	Pureza %	Marca
Ácido clorídrico	<i>HCl</i>	aquoso	36,46	-	Fisher Chemical
Biureto	<i>C₂H₅N₃O₂</i>	sólido	103,08	97,0	Thermo scientific
Hidróxido de sódio	<i>NaOH</i>	sólido	40,00	≥ 99,0	Fisher Chemical
Sulfato de cobre(II) pentahidratado	<i>CuSO₄ · 5H₂O</i>	sólido	249,68	≥ 98,0	VWR
Tartarato de sódio e potássio tetrahidratado	<i>C₄H₄KNaO₆4H₂O</i>	sólido	282,22	≥ 99,0	labkem

2.5.4. Preparação das soluções

2.5.4.1. Solução de ácido clorídrico 0,10 mol/l (Anexo 6.5.2.)

Por diluição da solução comercial de ácido clorídrico 1 mol/l, adicionou-se 25 ml desta a um balão volumétrico de 250 ml. Em seguida, perpez-se o balão volumétrico com água desmineralizada.

2.5.4.2. Solução mãe de biureto 0,7796 ± 0,0013 mg/ml (Anexo 6.5.3.)

O reagente biureto foi seco na estufa a 105 °C durante 3 h e armazenado no exsicador. Posteriormente, num gobelé, dissolveu-se 803,7 mg de biureto em água desmineralizada sem CO₂. Esta solução foi transferida para um balão de 1000 ml. Em seguida, perpez-se o balão com água desmineralizada sem CO₂.

2.5.4.3. Solução de sulfato de cobre 0,015 g/ml (Anexo 6.5.4.)

A um balão volumétrico de 1000 ml, adicionou-se 15 g de sulfato de cobre(II) pentahidratado. Em seguida, perfez-se o balão volumétrico com água desmineralizada sem CO_2 .

2.5.4.4. Solução alcalina de tartarato de sódio e potássio

Num gobelé, dissolveu-se 40 g de hidróxido de sódio em 500 ml de água desmineralizada. Transferiu-se esta solução para um balão volumétrico de 1000 ml. Após arrefecimento, adicionou-se ao balão volumétrico 50 g de tartarato de sódio e potássio, perfazendo o mesmo com água desmineralizada. Esta solução teve de ficar em repouso 1 dia antes da sua utilização.

2.5.5. Procedimento experimental

2.5.5.1. Preparação da reta de calibração

Para a construção da reta de calibração, transferir 2, 5, 10, 15, 20 e 25 ml da solução mãe de biureto de $0,7796 \pm 0,0013$ mg/ml (Anexo 6.5.3.) para 6 balões volumétricos de 50 ml e adicionar água desmineralizada até um volume de aproximadamente 25 ml. Em seguida, sob agitação, transferir para cada balão volumétrico 10 ml da solução alcalina de tartarato de sódio e potássio e 10 ml da solução sulfato de cobre. Posteriormente, mergulhar os balões num banho de água com a temperatura de 30 ± 1 °C durante 15 minutos. Após arrefecimento à temperatura ambiente, perfazer cada balão volumétrico com água desmineralizada. Preparar um branco com todos os reagentes (exceto a solução mãe de biureto). Ler a absorvância das 7 soluções preparadas no espectrofotómetro num comprimento de onda de 550 nm. Repetir anualmente a construção da reta de calibração assim como a determinação do fator de calibração.

2.5.5.2. Fator dia

Semanalmente, realizar uma medição de 10 ml da solução mãe de biureto (correspondente a 8 mg de biureto) para um balão volumétrico de 50 ml e proceder consoante descrito em 2.5.5.3.. Em cada análise realizar duas medições independentes.

2.5.5.3. Determinação

A um matraz adicionar 100 g de amostra e neutralizar a mesma para pH inferior a 7,0 com ácido clorídrico 0,10 mol/l. Transferir a solução para um balão volumétrico de 250 ml, perfazer o mesmo com água desmineralizada e homogeneizar a solução. Transferir 10 ml da solução preparada para um balão volumétrico de 50 ml e adicionar, sob agitação, 10 ml da solução alcalina de tartarato de sódio e potássio e 10 ml da solução de sulfato de cobre. Mergulhar o balão volumétrico num banho

de temperatura controlado a 30 ± 1 °C durante 15 minutos. Após arrefecimento à temperatura ambiente, perfazer o balão com água desmineralizada e ler a absorvância ao comprimento de onda de 550 nm. Preparar sempre um branco e, em cada análise, realizar duplicados.

3. Apresentação e discussão de resultados

Este capítulo apresenta duas seções distintas: a primeira aborda os resultados obtidos na verificação dos métodos necessários para caracterizar o produto químico AdBlue® produzido pela RNM enquanto a segunda apresenta os resultados das outras atividades desenvolvidas no laboratório ao longo do projeto individual.

3.1. Verificação dos métodos referentes ao AdBlue®

Neste subcapítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos para cada parâmetro de desempenho estudado referente à verificação dos métodos da determinação da concentração de ureia, alcalinidade, matéria insolúvel, teor de fosfato e biureto, reportados na norma ISO 22241-2⁴.

3.1.1. Determinação da concentração de ureia pelo índice de refração

A verificação do método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração, presente na norma ISO 22241-2⁴, consistiu na avaliação dos seguintes parâmetros de desempenho: limiares analíticos, precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia, justeza e incerteza do método. Para tal, manuseou-se brancos de reagente, um material de referência certificado (MRC) e amostras teste de AdBlue®.

Os valores da concentração de ureia e do índice de refração foram obtidos a partir da leitura direta no visor do refratômetro, não sendo necessário qualquer cálculo, uma vez que o refratômetro utilizado atende todos os requisitos inerentes a este método e apresenta o resultado em unidades de concentração (% (m/m)).

3.1.1.1. Limiares analíticos

A fim de determinar o limite de detecção e de quantificação recorreu-se à análise de seis brancos de reagente em duplicado. Os resultados obtidos para a concentração de ureia e para o índice de refração encontram-se descritos na **Tabela 21**, sendo que nenhum dos valores foi rejeitado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**). Os resultados obtidos para a concentração de ureia estão apresentados com dois algarismos significativos, enquanto os valores obtidos para o índice de refração estão arredondados à quarta casa decimal, conforme indicado na norma ISO 22241-2⁴.

Tabela 21. Valores obtidos experimentalmente para os limiares analíticos do método da determinação da concentração de ureia pelo Índice de refração. Resultados da concentração de ureia (W_U), expressa em % (m/m), e do índice de refração, provenientes da análise de seis brancos de reagente em duplicado. Cada linha da tabela representa um ensaio independente, referentes às duas réplicas para cada parâmetro.

Ensaio	W_U (% (m/m))		Índice de refração	
1	0,010	0,010	1,3330	1,3330
2	0,017	0,017	1,3830	1,3830
3	0,013	0,013	1,3830	1,3830
4	0,017	0,017	1,3330	1,3330
5	0,013	0,013	1,3830	1,3330
6	0,0067	0,010	1,3330	1,3330

A partir do cálculo do desvio padrão (Equação 24) dos valores descritos na Tabela 21, foi possível estimar o limite de deteção e de quantificação pelas Equações 25 e 26, respetivamente. Deste modo, verificou-se que, em termos de concentração de ureia, a concentração mínima detetável foi de 0,0075 % (m/m) e a concentração mínima quantificável foi de 0,025 % (m/m) (Tabela 22). No caso do índice de refração, constatou-se que o método deteta e quantifica índices de refração superiores a 0,000012 e a 0,000039, respetivamente (Tabela 22).

Tabela 22. Valores experimentais dos limiares analíticos do método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração. Limite de deteção (LD) e de quantificação (LQ) obtido experimentalmente da concentração de ureia (W_U), expressa em % (m/m), e do índice de refração descrito na norma ISO 22241-2.⁴

	LD	LQ
W_U % (m/m)	0,0075	0,025
Índice de refração	0,000012	0,000039

Os valores de limiares analíticos são muito baixos e permitem determinar com grande rigor os valores compreendidos na gama de trabalho de 30 a 35 % (m/m).

3.1.1.2. Precisão

A precisão deste método foi avaliada em condições de repetibilidade e precisão intermédia. Para o estudo da repetibilidade analisou-se um MRC em duplicado para determinar a concentração de ureia e

o índice de refração. Por sua vez, estas medições foram efetuadas durante seis dias de modo a avaliar também a precisão intermédia. O MRC adquirido ao fornecedor Bellingham + Stanley, apresenta uma concentração em AUS de 32,5 % (m/m) e um índice de refração de $1,38290 \pm 0,000034$. Na **Tabela 23** estão apresentados os valores obtidos da concentração de ureia e índice de refração, sendo que nenhum valor foi rejeitado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**). Os resultados apresentados foram arredondados à primeira casa decimal para a concentração de ureia e à quarta casa decimal para o índice de refração, consoante referido na norma ISO 22241-2⁴.

Tabela 23. Valores obtidos para o estudo da precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia para o método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração. Ensaio em duplicado (colunas) da concentração de ureia (W_U), expressa em % (m/m), e do índice de refração durante seis dias (linhas). Foi utilizado um MRC com a concentração de 32,5 % (m/m) e índice de refração de $1,38290 \pm 0,000034$.

Data	Ensaio			
	W_U (% (m/m))		Índice de refração	
21/12/2022	32,5	32,5	1,3830	1,3829
22/12/2022	32,5	32,5	1,3830	1,3830
23/12/2022	32,5	32,5	1,3830	1,3830
18/01/2023	32,4	32,5	1,3829	1,3829
19/01/2023	32,5	32,5	1,3830	1,3829
20/01/2023	32,4	32,4	1,3829	1,3829

Por recurso à ferramenta ANOVA: fator único obtiveram-se os valores descritos na **Tabela 24**.

Tabela 24. Informações provenientes da ANOVA: fator único para o estudo da precisão no método da determinação da ureia pelo índice de refração. Informações da ANOVA: fator único, como a soma dos quadrados (SQ), graus de liberdade (g.l) e quadrado médio (QM) para o estudo da precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia. Os resultados destes parâmetros para a concentração de ureia (W_U) estão dispostos na terceira, quarta e quinta linha, enquanto os resultados para o índice de refração encontram-se apresentados na oitava, nona e décima linha.

W_U (% (m/m))			
Fonte de variação	SQ	g.l	QM
Entre grupos	$8,9 \times 10^{-3}$	5	$1,8 \times 10^{-3}$
Dentro de grupos	$2,3 \times 10^{-3}$	6	$3,8 \times 10^{-4}$
Total	$1,1 \times 10^{-2}$	11	-
Índice de refração			
Fonte de variação	SQ	g.l	QM
Entre grupos	$2,1 \times 10^{-8}$	5	$4,1 \times 10^{-9}$
Dentro de grupos	$5,8 \times 10^{-9}$	6	$9,7 \times 10^{-10}$
Total	$2,7 \times 10^{-8}$	11	-

A partir destes valores foi possível calcular o desvio padrão de repetibilidade (S_r) e o desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}), pelas **Equações 40 e 42**, respetivamente. Para a concentração de ureia, o S_r obtido foi de 0,020 % (m/m), enquanto que o S_{PI} obtido foi de 0,033 % (m/m) (**Tabela 25**). Em relação ao índice de refração, o S_r e de S_{PI} obtido foi de 0,000031 e de 0,000050, respetivamente (**Tabela 25**). Em ambos os parâmetros, observa-se uma maior variabilidade nos valores obtidos em contexto de precisão intermédia, comparativamente aos resultados obtidos em contexto de repetibilidade. Isto deveu-se aos desvios padrão calculados de precisão intermédia serem superiores aos desvios padrão de repetibilidade. Calculou-se o coeficiente de variação de repetibilidade (CV_r) e o coeficiente de variação de precisão intermédia (CV_{PI}), de acordo com as **Equações 30 e 32**, respetivamente. Para a concentração de ureia, o coeficiente de variação obtido foi de 0,060 % em condições de repetibilidade e de 0,10 % em condições de precisão intermédia (**Tabela 25**). Para o índice de refração, o CV_r foi de 0,0022 %, enquanto o CV_{PI} foi de 0,0037 % (**Tabela 25**). O laboratório tem definido como critério de aceitação um $CV < 10$ %. Visto que o CV_r e o CV_{PI} , em ambos os casos, se encontram abaixo dos 10 %, conclui-se que os erros aleatórios não afetam a confiança nos resultados. Por conseguinte, com o intuito de se estabelecer um limite de aceitabilidade para a diferença entre duplicados de amostra, determinou-se o limite de repetibilidade (r_r) e o limite de precisão intermédia

(r_{PI}), de acordo com as **Equações 31 e 33**, respetivamente. Desta forma, o r_r e o r_{PI} para a concentração de ureia foi de 0,055 % (m/m) e de 0,092 % (m/m), respetivamente (**Tabela 25**). Comparando o r_r mencionado na norma ISO 22241-2⁴ (0,154 % (m/m)) com o determinado experimentalmente (0,055 % (m/m)) verificou-se que este último é inferior e, por isso, admissível (**Tabela 25**). Relativamente ao índice de refração, também se obteve um r_r experimental (0,000087) inferior ao referido na norma ISO 22241-2⁴ (0,00025) e, por isso, aceitável. Já o r_{PI} obtido para o índice de refração foi de 0,00014 (**Tabela 25**).

Pela análise da **Tabela 25**, constatou-se que embora os valores obtidos para a precisão intermédia sejam superiores aos obtidos para a repetibilidade, a diferença não é significativa. Assim, conclui-se que a realização de análises no mesmo dia ou em diferentes dias não influenciam consideravelmente os resultados.

Tabela 25. Parâmetros para avaliar a precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da determinação da ureia pelo índice de refração. Valores do desvio padrão de repetibilidade (S_r), desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}), coeficiente de variação de repetibilidade (CV_r), coeficiente de variação de precisão intermédia (CV_{PI}), limite de repetibilidade (r_r) e limite de precisão intermédia (r_{PI}) experimentais, referidos na norma ISO 22241-2⁴ e definido pelo laboratório para a concentração de ureia (W_U) e para o índice de refração.

Variável	W_U			Índice de refração		
	Experimental	Norma ⁴	Laboratório	Experimental	Norma ⁴	Laboratório
S_r (% (m/m))	0,020	-	-	0,000031	-	-
S_{PI} (% (m/m))	0,033	-	-	0,000050	-	-
CV_r (%)	0,060	-	< 10	0,0022	-	< 10
CV_{PI} (%)	0,10	-	< 10	0,0037	-	< 10
r_r (% (m/m))	0,055	0,154	-	0,000087	0,00025	-
r_{PI} (% (m/m))	0,092	-	-	0,00014	-	-

3.1.1.3. Justeza

Neste método, o estudo da justeza consistiu na participação em seis ensaios interlaboratoriais, mais propriamente, em ensaios colaborativos. Em cada análise, determinou-se a concentração de ureia e o índice de refração de amostras teste de AdBlue®, em paralelo com um laboratório externo. Os resultados destes ensaios constam na **Tabela 26**, sendo que em todos os cálculos considerou-se como valor de referência os resultados do laboratório externo.

Tabela 26. Valores obtidos na participação em seis ensaios interlaboratoriais para avaliar a justeza no método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração. Valores obtidos pelo laboratório (VL) e pelo laboratório externo, aceite como o valor de referência (VR) para a concentração de ureia (W_U), em % (m/m), e para o índice de refração. Os resultados obtidos foram arredondados ao valor mais próximo de 0,1 % (m/m) para a concentração de ureia e até 0,0001 para o índice de refração, conforme mencionado na norma ISO 22241-2^o.

W_U (% (m/m))		Índice de refração	
VL	VR	VL	VR
32,7	32,8	1,3836	1,3835
32,5	32,6	1,3834	1,3834
32,7	32,8	1,3837	1,3836
32,6	32,7	1,3836	1,3835
32,7	32,8	1,3838	1,3837
32,4	32,5	1,3832	1,3832

De modo a avaliar o desempenho do laboratório calculou-se para cada amostra o *z-score* e o erro normalizado, de acordo com as **Equações 43** e **44**, respetivamente. Pelo mesmo motivo, calculou-se também o *bias* relativo para cada amostra (**Equação 47**) e, conseqüentemente, o valor médio do *bias* relativo, com o intuito de averiguar a ocorrência de erros sistemáticos. Segundo a **Tabela 27**, observa-se que, para a concentração de ureia, o valor mínimo de $|z\text{-score}|$ observado foi de 0,8 % (m/m), enquanto o valor máximo observado foi de 1,3 % (m/m). Já para o índice de refração, observou-se que o valor mínimo de $|z\text{-score}|$ foi de 0,0500 e o valor máximo observado foi de 0,5667. Em ambas as situações, verifica-se que os *z-score*, em módulo, são inferiores a 2, revelando que os resultados são satisfatórios. Tais afirmações foram corroboradas pelo facto dos erros normalizados, expressos em módulo, serem inferiores ou iguais a 1 por arredondamento às unidades, nos dois parâmetros em estudo. Por fim, o *bias* médio relativo para a concentração de ureia e para o índice de refração correspondeu a 0,32 % e a 0,0044 %, respetivamente. Estes valores enquadram-se no critério de aceitação definido internamente, de um *bias* menor que 5,0 %, corroborando a conclusão acerca da justeza do método.

Tabela 27. Parâmetros para avaliar a justeza provenientes da participação em seis ensaios interlaboratoriais para o método da determinação da ureia pelo índice de refração. z-score, erro normalizado (E_n), bias relativo em %, e bias médio relativo em %, para a concentração de ureia (W_U) e para o índice de refração. Os valores obtidos foram arredondados à primeira casa decimal para a concentração de ureia e à quarta casa decimal para o índice de refração, consoante mencionado na norma ISO 22241-2¹, exceto o bias médio relativo que, em ambos os casos, apresenta dois algarismos significativos para posterior comparação com o critério de aceitação de 5,0 %.

<i>z-score</i>	W_U		Índice de refração		
	E_n	<i>bias</i> relativo (%)	<i>z-score</i>	E_n	<i>bias</i> relativo (%)
-1,2	1,2	0,4	0,5667	0,2999	0,0082
-0,9	0,8	0,3	0,0500	0,0265	0,0007
-1,3	1,3	0,4	0,4250	0,2249	0,0061
-1,1	1,0	0,3	0,3833	0,2028	0,0055
-0,8	0,8	0,2	0,2583	0,1367	0,0037
-1,2	1,2	0,4	0,1583	0,0838	0,0023
<i>bias</i> médio relativo (%)		0,32	<i>bias</i> médio relativo (%)		0,0044

3.1.1.4. Incerteza do método

A incerteza do método foi estimada segundo a metodologia presente na norma ISO 11352:2012.⁷⁷ Esta considera a componente dos erros aleatórios (precisão) e a componente dos erros sistemáticos (justeza). Por isso, recorreu-se aos dados de validação e de controlo de qualidade para a quantificação da incerteza de medição.

No parâmetro da concentração de ureia, para a componente da incerteza associada à precisão (u_{R_w}) assumiu-se o desvio padrão de precisão intermédia, de 0,033 % (m/m), calculado anteriormente no estudo da precisão (Tabela 28). Desta forma, através da Equação 59, obteve-se uma incerteza relativa associada à precisão (u_{R_w} relativa) de 0,0010. Para a incerteza associada à justeza (u_b), mais propriamente, ao *bias* do laboratório e do método, considerou-se os dados obtidos no estudo da justeza para este método. Uma vez que estes dados consistiram na participação em ensaios interlaboratoriais, considerou-se a raiz quadrada média do desvio entre o resultado obtido e o definido para cada amostra na forma relativa (D_{rms} relativa), tendo em consideração a participação em seis ensaios interlaboratoriais (Tabela 28). De seguida, conforme a Equação 60, estabeleceu-se a

u_b relativa de 0,0045 (Tabela 28). Por sua vez, a incerteza padrão combinada relativa (u_c relativa) foi obtida a partir da Equação 56 com as informações de u_{R_w} relativa e de u_b relativa, culminando no valor de 0,0046 (Tabela 28). Por fim, determinou-se a incerteza expandida (U), que foi calculada de acordo com a Equação 57, tendo se assumido um fator de expansão (k) igual a 2, dado que, para um nível de confiança de 95 %, realizaram-se seis ensaios experimentais. Assim, conforme consta na Tabela 28, obteve-se uma incerteza expandida de 0,92 % para a concentração de ureia.

Para o índice de refração procedeu-se da mesma forma que o descrito para a concentração de ureia, tendo-se assim obtido uma u_{R_w} relativa de 0,000037 e uma u_b relativa de 0,00016, tendo culminado numa u_c relativa igual a 0,00016, seguida de U igual a 0,032 % (considerando um k=2) (Tabela 28).

Tabela 28. Dados para o cálculo da incerteza de medição para o método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração. Desvio padrão da precisão intermédia (S_{PI}), incerteza associada à precisão (u_{R_w}), diferença entre o valor medido e o definido para a amostra (Di), número de ensaios interlaboratoriais (n_{ilc}), raiz quadrada média do desvio entre o resultado obtido e o definido para cada amostra (D_{rms}), incerteza definida no ensaio interlaboratorial ($u_{crefEIL}$), incerteza associada à justeza (u_b), incerteza combinada (u_c), fator de expansão (k) e incerteza expandida (U) para a concentração de ureia (W_U) e para o índice de refração.

Variável	W_U	Índice de refração
S_{PI} (% (m/m))	0,033	0,000050
u_{R_w} (% (m/m))	0,033	0,000050
u_{R_w} relativa	0,0010	0,000037
$u_{R_w}^2$ relativa	$1,0 \times 10^{-6}$	$1,3 \times 10^{-9}$
ΣDi^2 relativa	0,000064	$2,1 \times 10^{-8}$
n_{ilc}	6	6
D_{rms} relativa	0,0033	0,000059
D_{rms}^2 relativa	0,000011	$3,5 \times 10^{-9}$
$u_{CrefEIL}^2$ relativa	$9,4 \times 10^{-6}$	$2,1 \times 10^{-8}$
u_b relativa	0,0045	0,00016
u_b^2 relativa	0,000020	$2,4 \times 10^{-8}$
u_c relativa	0,0046	0,00016
k	2	2
U (%)	0,92	0,032

Em suma, a partir da análise dos diferentes parâmetros de desempenho aferiu-se que estes se encontravam em conformidade com o retratado na norma ISO 22241-2⁴ e com os critérios de aceitabilidade definidos pelo laboratório. Tal demonstra que o presente método é adequado para a determinação da concentração de ureia e do índice de refração no laboratório.

3.1.2. Determinação da alcalinidade

Com o intuito de verificar o método da determinação da alcalinidade, reportado na norma ISO 22241-2⁴, foram analisados brancos de reagente, uma solução de amónia e uma amostra teste de AdBlue®. Estes ensaios permitiram o estudo dos limiares analíticos, da precisão em condições de repetibilidade e de precisão intermédia, da justeza e, conseqüentemente, a determinação da incerteza do método.

O parâmetro da alcalinidade foi calculado a partir da **Equação 69**⁴,

$$W_{NH_3} = \frac{V \times 0,017}{m_s} \quad \text{Equação 69}^4$$

em que W_{NH_3} representa o teor de alcalinidade em unidades de concentração (% (m/m)), V o volume da solução de ácido clorídrico 0,010 mol/l gasto na titulação em ml e m_s a massa da amostra em g.⁴

3.1.2.1. Limiares analíticos

Para a determinação do limite de deteção e de quantificação recorreu-se à análise de seis brancos de reagente analisados em duplicado. Os valores obtidos constam na **Tabela 29**, sendo que nenhum destes foi rejeitado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**).

O desvio padrão calculado a partir dos valores mencionados na **Tabela 29** foi de 0,00012 % (m/m). Por conseguinte, conforme apresentado na **Tabela 30**, obteve-se um limite de deteção de 0,00035 % (m/m) e um limite de quantificação de 0,0012 % (m/m), pelas **Equações 25 e 26**, respetivamente. Segundo a **Tabela 30**, é possível aferir que os limiares analíticos são muito baixos e, por isso, permitem determinar com grande rigor os valores compreendidos na gama de trabalho de 0,1 a 0,5 %, conforme reportado na norma ISO 22241-2.⁴

Tabela 29. Valores obtidos experimentalmente para os limiares analíticos do método da determinação da alcalinidade. Resultados da alcalinidade, em % (m/m), da análise de seis brancos de reagente em duplicado. Cada linha da tabela representa um ensaio independente, referentes às duas réplicas. Os resultados obtidos apresentam dois algarismos significativos.

Ensaio	W_{NH_3} (% (m/m))	
1	0,00082	0,00081
2	0,00084	0,00082
3	0,00080	0,00084
4	0,00084	0,00083
5	0,0013	0,0012
6	0,00081	0,00080

Tabela 30. Valores experimentais dos limiares analíticos do método da determinação da alcalinidade. Limite de deteção (LD) e de quantificação (LQ) obtido experimentalmente da alcalinidade (W_{NH_3}), em % (m/m).

	LD	LQ
W_{NH_3} % (m/m)	0,00035	0,0012

3.1.2.2. Precisão

A precisão deste método foi estudada através da realização de ensaios de repetibilidade em seis dias diferentes, de modo a averiguar também a precisão intermédia. Em cada dia, preparou-se uma solução de amónia de $0,2818 \pm 0,0034$ % (m/m) (**Anexo 6.2.4.**). Esta concentração foi escolhida por ser o nível intermédio da gama de 0,084 a 0,529 % (m/m), indicada no documento normativo ISO 22241-2⁴, aquando da avaliação da precisão do método. Na **Tabela 31** constam os resultados obtidos para a alcalinidade, dos quais nenhum foi desprezado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**). A **Tabela 32** apresenta os valores relativos aos parâmetros da ANOVA: fator único.

Tabela 31. Valores obtidos para o estudo da precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia para o método da determinação da alcalinidade. Ensaios em duplicado (colunas) de uma solução padrão de amónia $0,2818 \pm 0,0034$ % (m/m) para o método da determinação da alcalinidade (W_{NH_3}), expressa em % (m/m) durante seis dias (linhas).

Data	W_{NH_3} (% (m/m))	
07/12/2022	0,2526	0,2521
09/12/2022	0,2739	0,2652
12/12/2022	0,2708	0,2706
13/12/2022	0,2639	0,2667
14/12/2022	0,2590	0,2682
15/12/2022	0,2706	0,2680

Tabela 32. Informações provenientes da ANOVA: fator único para o estudo da precisão no método da determinação da alcalinidade. Informações da ANOVA: fator único, como a soma dos quadrados (SQ), graus de liberdade (g.l) e quadrado médio (QM) para o estudo da precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da alcalinidade.

Fonte de variação	SQ	g.l	QM
Entre grupos	$4,7 \times 10^{-4}$	5	$9,3 \times 10^{-5}$
Dentro de grupos	$8,9 \times 10^{-5}$	6	$1,5 \times 10^{-5}$
Total	$5,6 \times 10^{-4}$	11	-

Com base nos resultados descritos na **Tabela 32**, estimou-se o desvio padrão de repetibilidade (S_r) e o desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}), pelas **Equações 40 e 42**, respetivamente. Por intermédio da **Tabela 33**, verificou-se que se obteve um S_r igual a $0,0038$ % (m/m) e um S_{PI} de $0,0074$ % (m/m). Pela análise dos desvios padrões determinados observou-se que ocorreu uma maior variabilidade nos resultados provenientes da precisão intermédia em relação aos resultados referentes à repetibilidade, embora esta não seja significativa dada a proximidade entre ambos. Estimou-se os coeficientes de variação de repetibilidade (CV_r) e de precisão intermédia (CV_{PI}) (**Equações 30 e 32**, respetivamente), tendo se obtido um CV_r de $1,5$ % e um CV_{PI} de $2,8$ % (**Tabela 33**). Visto que os dois coeficientes de variação foram inferiores ao definido internamente de 10 %, estes foram aceites, revelando que os erros aleatórios não influenciam a confiança nos resultados (**Tabela 33**). Por fim, o limite de repetibilidade

(r_r) e o limite de precisão intermédia (r_{PI}) (**Equações 31 e 33**, respetivamente) foram estabelecidos de forma a conceder ao analista a decisão de aceitar replicados de amostra. Assim, para o método da alcalinidade, admitiram-se duplicados de ensaios em que a diferença entre estes fosse inferior a 0,011 % (m/m) em condições de repetibilidade e inferior a 0,021 % (m/m) sob condições de precisão intermédia. Relativamente ao r_r definido na norma ISO 22241-2⁴ de 0,077 % (m/m), o experimental r_r de 0,011 % (m/m) é menor e, por isso, aceitável (**Tabela 33**).

Tabela 33. Parâmetros para avaliar a precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da determinação da alcalinidade. Valores do desvio padrão de repetibilidade (S_r), desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}), coeficiente de variação de repetibilidade (CV_r), coeficiente de variação de precisão intermédia (CV_{PI}), limite de repetibilidade (r_r) e limite de precisão intermédia (r_{PI}) experimentais, referidos na norma ISO 22241-2⁴ e definidos pelo laboratório para a alcalinidade (W_{NH_3}).

W_{NH_3}			
Variável	Experimental	Norma ⁴	Laboratório
S_r (% (m/m))	0,0038	-	-
S_{PI} (% (m/m))	0,0074	-	-
CV_r (%)	1,5	-	< 10
CV_{PI} (%)	2,8	-	<10
r_r (% (m/m))	0,011	0,077	-
r_{PI} (% (m/m))	0,021	-	-

3.1.2.3. Justeza

Para avaliar a justeza do presente método, realizou-se um ensaio de recuperação (fortificação da amostra), com 10 réplicas independentes de uma amostra teste de AdBlue®. Posteriormente, em 10 balões volumétricos de 50 ml, adicionou-se 0,20 ml da solução comercial de amónia 28,18 % (m/m) (correspondente a uma concentração final de 0,11 % (m/m)) e perfez-se cada balão volumétrico com a amostra teste de AdBlue®. As 10 soluções fortificadas foram analisadas consoante o procedimento descrito em 2.2.5. A partir da **Equação 45** determinou-se a taxa de recuperação para cada ensaio e, conseqüentemente, o valor médio de recuperação de 92,5 %. Este resultado demonstrou estar próximo da recuperação ideal de 100 %, pelo que se considera o método da determinação da alcalinidade justo. Na **Tabela 34** constam os valores obtidos provenientes da análise

de 10 réplicas independentes de uma amostra teste de AdBlue® antes e pós fortificação, assim como o valor de recuperação obtido em cada ensaio, a recuperação média obtida e o valor de recuperação esperado. O teste de Grubbs (**Equação 63**) efetuado à recuperação obtida em cada ensaio, revelou que nenhum dos valores foi desprezado.

Tabela 34. Valores da fortificação de uma amostra teste de AdBlue® para avaliação da justeza do método da determinação da alcalinidade. Resultados obtidos do teor de alcalinidade (W_{NH_3}) antes e pós fortificação de uma amostra teste de AdBlue® em % (m/m), assim como a recuperação obtida em cada ensaio (R' obtida), valor médio de recuperação obtido e recuperação ideal, expressos em %. Os resultados da amostra antes e pós fortificação são apresentados com três algarismos significativos, assim como a R' obtida e o valor médio de recuperação obtido para posterior comparação com a taxa de recuperação ideal de 100 %.

W_{NH_3} (% (m/m))		
Amostra antes da fortificação	Amostra fortificada	R' obtida (%)
0,00884	0,109	90,6
0,0100	0,112	93,1
0,00908	0,121	102
0,00912	0,121	102
0,0101	0,117	97,1
0,0108	0,095	76,2
0,0119	0,093	73,5
0,00944	0,124	104
0,00893	0,106	88,1
0,0102	0,119	99,3
Valor médio de recuperação obtido (%)		95,5
Recuperação ideal (%)		100

3.1.2.4. Incerteza do método

A norma ISO 11352:2012⁷⁷ refere a estimativa da incerteza do método baseada em dados de validação e controlo de qualidade. Por isso, para a quantificação da incerteza de medição teve-se em consideração os dados relativos à precisão e à justeza.

Na estimativa da incerteza associada à precisão, considerou-se o desvio padrão de precisão intermédia de 0,0074 % (m/m), calculado anteriormente no estudo do parâmetro da precisão. Por isso, obteve-se, pela **Equação 59**, uma incerteza relativa associada à precisão intermédia ($u_{R_w \text{ relativa}}$) de 0,026. Esta abordagem foi a eleita porque a amostra de controlo de qualidade manuseada no estudo da precisão cobriu todo o processo analítico e era semelhante em matriz e níveis de concentração de analito às amostras teste.

A componente da incerteza associada à justeza foi avaliada a partir de ensaios de recuperação, dado ter sido utilizada esta abordagem aquando o estudo da justeza do método. Assim, a partir dos valores de recuperação obtidos anteriormente, da taxa de recuperação considerada ideal de 100 %, dos 10 ensaios efetuados e da incerteza associada à concentração de amónia adicionada na fortificação, determinou-se a incerteza relativa da justeza ($u_b \text{ relativa}$) pela **Equação 61**, tendo esta correspondido a 0,13. Por sua vez, a partir dos valores de $u_{R_w \text{ relativa}}$ e $u_b \text{ relativa}$ calculou-se a incerteza relativa combinada ($u_c \text{ relativa}$) de 0,13 (**Equação 56**). Por fim, a incerteza expandida (U) foi obtida a partir da **Equação 57** e tendo em consideração um fator de expansão igual a dois, tendo-se obtido o valor de 26 %. A **Tabela 35** apresenta os resultados intermédios para o cálculo da incerteza relativa combinada e incerteza expandida.

Tabela 35. Valores para o cálculo da incerteza do método da determinação da alcalinidade. Desvio padrão da precisão intermédia (S_{PI}), incerteza associada à precisão (u_{R_w}), concentração da solução de amónia ($C_{sol. amónia}$), desvio da recuperação obtida relativamente à recuperação ideal de 100 % (bi), número de ensaios de recuperação efetuados (n_n), quadrado médio relativo dos desvios das análises de fortificação da amostra (b_{rms}), incerteza da concentração do analito adicionado (u_{conc}), incerteza do volume adicionado (u_{vol}), incerteza da adição do analito (u_{add}), incerteza associada à justeza (u_b), incerteza combinada (u_c), fator de expansão (k) e incerteza expandida (U).

Variável	Valor
S_{PI} (% (m/m))	0,0074
u_{R_w} (% (m/m))	0,0074
$C_{sol. amónia}$ (% (m/m))	0,28
u_{R_w} relativa	0,026
$u_{R_w}^2$ relativa	0,00069
Σbi^2 relativo	0,16
n_n	10
b_{rms} relativo	0,13
b_{rms}^2 relativo	0,016
u_{conc} relativa	0,029
u_{vol} relativa	0,014
u_{add} relativa	0,032
u_{add}^2 relativa	0,0010
u_b relativa	0,13
u_b^2 relativa	0,017
u_c relativa	0,13
k	2
U (%)	26

Em síntese, todos os parâmetros de desempenho estudados foram devidamente verificados de forma a permitir a determinação da alcalinidade em amostras de AdBlue®, tendo em consideração a norma ISO 22241-2⁴.

3.1.3. Determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico

A fim de verificar o método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico, reportado na norma ISO 22241-2⁴, estudou-se os seguintes parâmetros de desempenho: limiares analíticos, precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia, justeza e incerteza do método. Para tal, manuseou-se brancos de reagente, uma solução padrão de celulose microcristalina e amostras teste de AdBlue®.

O teor de matéria insolúvel foi obtido a partir da **Equação 70**⁴, descrita no documento normativo ISO 22241-2⁴. Os resultados finais foram arredondados a 0,1 mg/kg para teores de matéria insolúvel inferiores a 10 mg/kg e arredondados a 1 mg/kg para teores de matéria insolúvel iguais ou superiores a 10 mg/kg.⁴

$$W_{ins} = \frac{(m_{FR} - m_{FL})}{m_s} \times 1000 \quad \text{Equação 70}^4$$

em que W_{ins} representa o teor de matéria insolúvel em mg/kg, m_{FR} a massa do filtro seco com depósito de amostra em mg, m_{FL} a massa do filtro seco em mg e m_s a massa da amostra em g.⁴

3.1.3.1. Limiares analíticos

Os limiares analíticos foram determinados mediante a análise de seis brancos de reagente. A **Tabela 36** indica os valores obtidos, sendo que nenhum valor suspeito foi desprezado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**).

Tabela 36. Resultados experimentais para os limiares analíticos do método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico. Resultados do teor de matéria insolúvel, em mg/kg, provenientes da análise de seis brancos de reagente. Os valores foram expressos por arredondamento às décimas conforme indicado na norma ISO 22241-2⁴.

Ensaio	W_{ins} (mg/kg)
1	1,0
2	1,1
3	1,1
4	1,1
5	1,0
6	1,1

A partir da **Tabela 36** estimou-se o desvio padrão (**Equação 24**) de 0,037 mg/kg. Pelos resultados presentes na **Tabela 37**, obtidos através das **Equações 25 e 26**, verifica-se que o presente método é capaz de detetar e de quantificar teores de matéria insolúvel superiores a 0,11 mg/kg e a 0,37 mg/kg, respetivamente. Comparativamente ao limite de quantificação (LQ) indicado na norma ISO 22241-2⁴ de 1,0 mg/kg, observa-se que o LQ obtido experimentalmente de 0,37 mg/kg é inferior (**Tabela 37**). Tal revela que o método desenvolvido é mais sensível, permitindo quantificar teores de matéria insolúvel mais baixos.

Tabela 37. Valores dos limiares analíticos do método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico. Limite de deteção (LD) e de quantificação (LQ) obtido experimentalmente e apresentado na norma ISO 22241-2⁴ do teor de matéria insolúvel (W_{ins}), em mg/kg.

	LD experimental	LQ experimental	LQ norma ⁴
W_{ins} (mg/kg)	0,11	0,37	1,0

3.1.3.2. Precisão

A precisão foi avaliada em condições de repetibilidade e precisão intermédia. Para isso, analisou-se em duplicado e durante seis dias uma solução padrão de celulose microcristalina com concentração igual a $20,00 \pm 0,45$ mg/l (**Anexo 6.3.4.**). De forma a expressar os resultados na mesma unidade de concentração, a solução padrão de celulose microcristalina foi convertida de mg/l para mg/kg, segundo a **Equação 71**.

$$\frac{c}{\rho} = \frac{20,00}{1,50} = 13,33 \text{ mg/kg} \quad \text{Equação 71}$$

em que c representa a concentração em mg/l e ρ a densidade da celulose microcristalina (a 20 °C) em kg/l.

Na **Tabela 38** constam os valores obtidos para a precisão, dos quais nenhum foi desprezado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**).

Tabela 38. Valores para o estudo da precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia para o método da determinação da matéria insolúvel. Ensaio em duplicado (colunas) da matéria insolúvel (W_{ins}), expressa em mg/kg durante seis dias (linhas).

Data	W_{ins} (mg/kg)	
26/04/2023	14,04	15,66
27/04/2023	14,95	12,87
28/04/2023	12,30	10,75
02/05/2023	16,56	15,46
03/05/2023	13,36	13,25
04/05/2023	14,20	15,46

Na Tabela 39 estão descritos os parâmetros da ferramenta ANOVA: fator único obtidos com os valores de precisão.

Tabela 39. Informações provenientes da ANOVA: fator único para o estudo da precisão no método da determinação da matéria insolúvel. Informações da ANOVA: fator único, como a soma dos quadrados (SQ), graus de liberdade (g.l) e quadrado médio (QM) para o estudo da precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da matéria insolúvel.

Fonte de variação	SQ	g.l	QM
Entre grupos	25	5	5,0
Dentro de grupos	4,5	6	0,75
Total	29	11	-

A partir dos dados presentes na Tabela 39, determinou-se o desvio padrão de repetibilidade (S_r) de 0,87 mg/kg e o desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}) de 1,7 mg/kg, pelas Equações 40 e 42, respetivamente. Tal como esperado, através da Tabela 40, observa-se uma maior variabilidade nos resultados da precisão intermédia relativamente aos da repetibilidade. Posteriormente, calculou-se o coeficiente de variação de repetibilidade (CV_r) (Equação 30) de 6,2 % e o coeficiente de variação de precisão intermédia (CV_{PI}) (Equação 32) de 12 %. Verifica-se que o CV de precisão intermédia é de 12 %, mas o documento normativo ISO 22241-2 refere apenas o limite de repetibilidade e de reprodutibilidade (Tabela 40). O limite de repetibilidade (r_r) (Equação 31) e o limite de precisão

intermédia (r_{PI}) (Equação 33) obtidos foram de 2,425 mg/kg e de 4,732 mg/kg, respetivamente. Como o r_r obtido experimentalmente de 2,425 mg/kg é menor que o r_r reportado no documento normativo ISO 22241-2⁴ de 4,871 mg/kg, considera-se o r_r experimental aceitável (Tabela 40). Tal indica que os erros aleatórios não afetam a confiança nos resultados.

Tabela 40. Parâmetros para avaliar a precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da determinação da matéria insolúvel. Valores do desvio padrão de repetibilidade (S_r), desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}), coeficiente de variação de repetibilidade (CV_r), coeficiente de variação de precisão intermédia (CV_{PI}), limite de repetibilidade (r_r) e limite de precisão intermédia (r_{PI}) experimentais e definidos na norma ISO22241-2⁴ para a matéria insolúvel (W_{ins}).

Variável	W_{ins}	
	Experimental	Norma ⁴
S_r (mg/kg)	0,87	-
S_{PI} (mg/kg)	1,7	-
CV_r (%)	6,2	-
CV_{PI} (%)	12	-
r_r (mg/kg)	2,425	4,871
r_{PI} (mg/kg)	4,732	-

3.1.3.3. Justeza

De forma a avaliar a justeza do método recorreu-se à participação em ensaios interlaboratoriais, mais propriamente, em ensaios colaborativos. Para isso, determinou-se, em paralelo com um laboratório externo, o teor de matéria insolúvel em seis amostras teste de AdBlue®. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 41, sendo que se assumiu como valores de referência os resultados provenientes do laboratório externo.

Tabela 41. Valores obtidos na participação em seis ensaios interlaboratoriais para avaliar a justeza no método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico. Valores obtidos pelo laboratório (VL) e pelo laboratório externo, aceite como o valor de referência (VR) para o teor de matéria insolúvel (W_{ins}), em mg/kg. Os resultados obtidos foram apresentados por arredondamento à primeira casa decimal como referido na norma ISO 22241-2⁴.

W_{ins} (mg/kg)	
VL	VR
1,1	1,5
3,5	4,3
2,9	2,2
2,8	2,2
3,3	2,2
3,7	2,9

O desempenho do laboratório foi avaliado, tendo por base os parâmetros *z-score* (Equação 43) e erro normalizado (Equação 44) de cada amostra. Assim, pela Tabela 42, verifica-se que os *z-score* obtidos, em módulo, foram inferiores a 2 e que os erros normalizados, em módulo, foram inferiores a 1. Tais afirmações indicam que os resultados são satisfatórios. Em seguida, determinou-se a recuperação aparente para cada amostra (Equação 48). O teste de Grubbs (Equação 63) efetuado aos valores de recuperação aparente descritos na Tabela 41 indicou que nenhum dos valores suspeitos foi desprezado. Mais tarde, calculou-se o valor médio da recuperação aparente de 114,4 % (Tabela 42). Em suma, tais parâmetros indicam que o presente método é considerado justo.

Tabela 42. Parâmetros para avaliar a justeza provenientes da participação em seis ensaios interlaboratoriais para o método da determinação da matéria insolúvel. z-score, erro normalizado (E_n), recuperação aparente (R), em percentagem, e valor médio da recuperação aparente (R), em percentagem, para o teor de matéria insolúvel (W_{ins}).

<i>z-score</i>	W_{ins} (mg/kg)	
	E_n	R (%)
- 0,09	- 0,038	71,00
- 0,16	-0,068	81,94
0,15	0,065	133,6
0,12	0,049	125,1
0,22	0,094	148,5
0,16	0,067	126,2
Valor médio da R (%)		114,4

3.1.3.4. Incerteza do método

A quantificação da incerteza do método baseou-se na metodologia referida na norma ISO 11352:2012⁷⁷. Por este motivo, recorreu-se aos dados de controlo de qualidade e validação, mais propriamente, à informação relativa à precisão (associada aos erros aleatórios) e à justeza (associada aos erros sistemáticos).

Na quantificação da incerteza associada à precisão (u_{R_w}) considerou-se o desvio padrão de precisão intermédia de 1,7 mg/kg, calculado aquando o estudo da precisão do método (Tabela 43). Deste modo, pela Equação 59, obteve-se uma u_{R_w} relativa de 0,016 (Tabela 43). A incerteza associada à justeza (u_b) foi calculada segundo os dados obtidos no estudo da justeza, ou seja, a participação em seis ensaios interlaboratoriais. Assim, através da Equação 60, calculou-se a u_b relativa de 0,32 (Tabela 43). A partir dos dados de u_{R_w} relativa e de u_b relativa, determinou-se a incerteza padrão combinada (u_c) na forma relativa, pela Equação 56, de 0,10 (Tabela 43). Por último, a incerteza expandida (U) de 21 % foi calculada de acordo com a Equação 57 e tendo em conta um fator de expansão (k) igual a 2, para um nível de confiança de 95 %, consoante descrito na Tabela 43.

Tabela 43. Dados para o cálculo da incerteza de medição do método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico. Desvio padrão da precisão intermédia (S_{PI}), incerteza associada à precisão (u_{R_w}), diferença entre o valor medido e o definido para a amostra (Di), número de ensaios interlaboratoriais (n_{ilc}), raiz quadrada média do desvio entre o resultado obtido e o definido para cada amostra (D_{rms}), incerteza definida no ensaio interlaboratorial ($u_{crefEIL}$), incerteza associada à justeza (u_b), incerteza combinada (u_c), fator de expansão (k) e incerteza expandida (U).

Variável	Valor
S_{PI} (mg/kg)	1,7
u_{R_w} (mg/kg)	1,7
u_{R_w} relativa	0,016
$u_{R_w}^2$ relativa	0,00026
ΣDi^2 relativa	0,61
n_{ilc}	6
D_{rms} relativa	0,32
D_{rms}^2 relativa	0,10
$u_{crefEIL}^2$ relativa	0,0023
u_b relativa	0,32
u_b^2 relativa	0,011
u_c relativa	0,10
k	2
U (%)	21

Sumariamente, o estudo dos diferentes parâmetros de desempenho permitiram caracterizar o presente método, indicando que o mesmo é adequado para a determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico no laboratório.

3.1.4. Determinação do teor de fosfato

A verificação do método da determinação do teor de fosfato consistiu no estudo dos seguintes parâmetros de desempenho: sensibilidade, gama de trabalho, limiares analíticos, precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia, justeza e incerteza do método. Foi traçada uma reta de calibração, e procedeu-se à verificação da mesma e do método, consoante exigido pela norma ISO 22241-2 .⁴

A quantificação de fosfato foi determinada através da **Equação 72**, reportada na norma ISO 22241-2⁴. Os resultados foram expressos por arredondamento a 0,01 mg/kg.⁴

$$W_p = \frac{A \times F_c \times V_s \times F_1}{V \times F_2 \times m_s} \times 1000 \quad \text{Equação 72}^4$$

em que W_p representa o teor de fosfato em mg/kg, A a absorvância lida num comprimento de onda de 800 nm, F_c o fator de calibração em μg calculado segundo a **Equação 73**⁴, V_s o volume da solução tratada de 100 ml, F_1 o fator de conversão de kg para g, V o volume usado para a determinação espectrofotométrica de 40 ml, F_2 o fator de conversão de mg para μg de 1000 e m_s a massa da amostra em g.⁴

$$F_c = \frac{\sum_{i=1}^6 m}{\sum_{i=1}^6 A} \quad \text{Equação 73}^4$$

em que F_c representa o fator de calibração em μg , m a massa de fosfato de cada solução padrão da reta de calibração em μg e A a absorvância de cada solução padrão da reta de calibração.⁴

3.1.4.1. Reta de calibração

A **Tabela 44** apresenta os valores médios de absorvância, obtidos num $\lambda = 800$ nm, e as concentrações efetivas de fosfato, expressas em PO_4^{-3} , de cada solução padrão acompanhadas das respetivas incertezas associadas, em mg/kg (**Anexos 6.4.4. e 6.4.5.**). A partir da **Tabela 44** traçou-se uma reta de calibração da absorvância em função do teor de fosfato das soluções padrão em mg/kg (**Figura 12**).

Tabela 44. Valores para a construção da reta de calibração do teor de fosfato das soluções padrão. Valores das concentrações efetivas de fosfato das soluções padrão (W_p) e respectivas incertezas associadas (u) em mg/kg e valores médios da medição da absorvância em triplicado, a um $\lambda = 800$ nm.

$W_p \pm u$ (mg/kg)	Absorvância ($\lambda = 800$ nm)
0 ± 0	-0,001
$0,03994 \pm 0,00030$	0,006
$0,07979 \pm 0,00051$	0,011
$0,1398 \pm 0,0012$	0,019
$0,1999 \pm 0,0014$	0,030
$0,2995 \pm 0,0022$	0,045
$0,3998 \pm 0,0025$	0,060

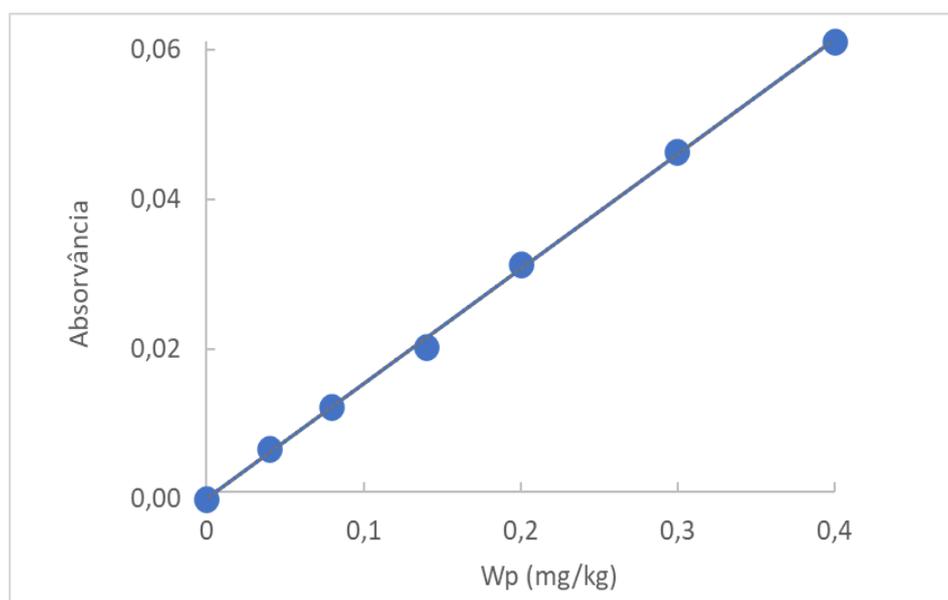


Figura 12. Reta de calibração do teor de fosfato. Representação gráfica dos valores de absorvância ($\lambda = 800$ nm) obtidos em função da concentração das soluções padrão de fosfato (W_p) em mg/kg.

A reta de calibração de primeiro grau, ilustrada na **Figura 12**, tem como equação: Absorvância = $(0,1530 \pm 0,0053) W_p$ (mg/kg) - $(0,0009 \pm 0,0012)$. Os limites de confiança do declive e da ordenada na origem foram calculados conforme as **Equações 15 e 16**, respetivamente. Verificou-se que a incerteza relativa associada ao declive foi de 3,5 %, o que demonstrou ser baixa. Além disso, o intervalo de confiança da ordenada na origem contém o ponto (0,0), o que indica que a reta de calibração passa pela origem com a incerteza associada. Com o intuito de verificar a existência de algum valor suspeito, efetuou-se o teste para rejeição dos valores discrepantes (**Equação 12**), concluindo-se que nenhum valor foi rejeitado.

Para avaliação da linearidade da reta de calibração recorreu-se à análise do coeficiente de correlação (r). Segundo o Guia RELACRE 13⁵⁷, a linearidade da reta de calibração é verificada se o coeficiente de correlação for superior a 0,995.⁵⁷ Uma vez que o r experimental foi de 0,9996, ou seja, superior ao r recomendado de 0,995, confirma-se a linearidade do método ao longo da gama de trabalho analisada. De forma a corroborar esta evidência, realizou-se um teste de significância t (**Equação 19**), a partir do qual se aferiu que existe correlação entre a absorvância e a concentração das soluções padrão de fosfato.

A fim de avaliar a estabilidade da reta de calibração ao longo do tempo foram traçadas 21 retas de calibração desde o dia 19/01/23 até ao dia 16/03/23. Os declives obtidos das retas de calibração efetuadas encontram-se na **Tabela 45**. Efetuou-se um teste de Grubbs (**Equação 63**) aos 11 primeiros declives apresentados na **Tabela 45**, pelo que se rejeitou o declive de 0,1926 kg/mg. Com base no valor médio (0,1532 kg/mg) e no desvio padrão (0,0066 kg/mg) destes 10 declives, definiram-se os limites, presentes na **Tabela 46**, para a construção de uma carta de controlo de indivíduos (**Figura 13**). Os restantes 10 declives presentes na **Tabela 45** foram dispostos na carta de controlo (**Figura 13**) como valores experimentais.

Tabela 45. Valores para a construção de uma carta de controlo de indivíduos no método da determinação do fosfato. Valores dos declives, em kg/mg, das retas de calibração traçadas entre o dia 19/01/23 e o dia 16/03/23 para a elaboração de uma carta de controlo de indivíduos.

Data	Declive (kg/mg)
19/01/23	0,1549
13/02/23	0,1477
14/02/23	0,1527
15/02/23	0,1926*
16/02/23	0,1525
17/02/23	0,1530
22/02/23	0,1604
23/02/23	0,1420
24/02/23	0,1642
27/02/23	0,1568
28/02/23	0,1463
01/03/23	0,1559
02/03/23	0,1583
03/03/23	0,1551
08/03/23	0,1613
09/03/23	0,1577
10/03/23	0,1496
13/03/23	0,1469
14/03/23	0,1657
15/03/23	0,1552
16/03/23	0,1539

*Valor rejeitado pelo teste de Grubbs.

Tabela 46. Limites definidos para a construção da carta de controlo de indivíduos no método da determinação do fosfato. Foi definido como valor alvo a média obtida, o limite superior de aviso (LSA), o limite superior de controlo (LSC), o limite inferior de controlo (LIC) e o limite inferior de aviso (LIA).

Limite	Valor (kg/mg)	Equação
Valor alvo	0,1532	-
LSA	0,1665	65
LSC	0,1731	67
LIC	0,1334	68
LIA	0,1400	66

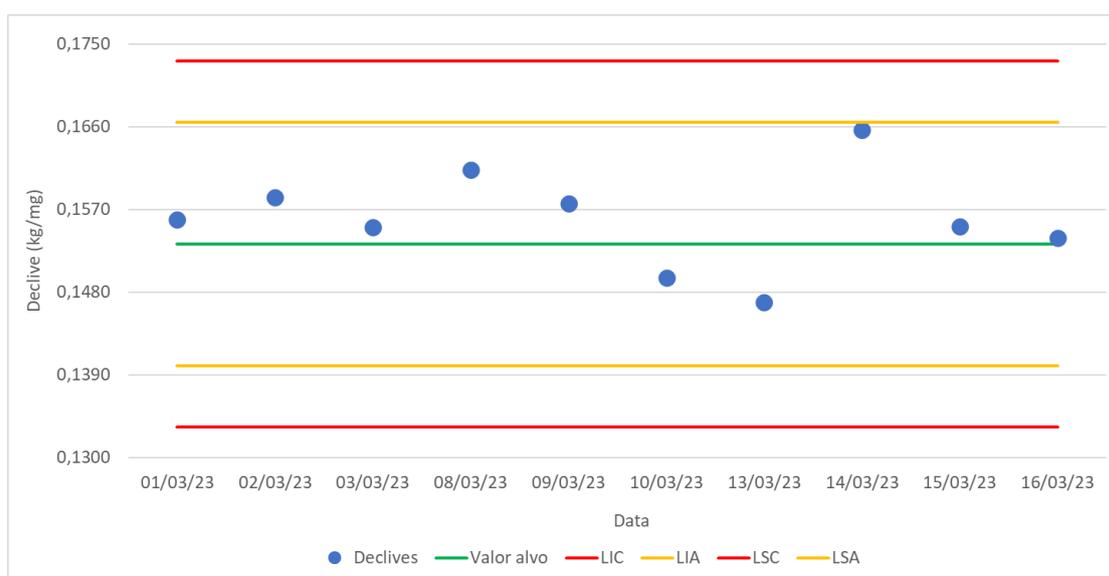


Figura 13. Carta de controlo de indivíduos para o método da determinação do teor de fosfato. Carta de controlo de indivíduos dos declives das retas de calibração traçadas da absorvância em função da concentração de fosfato das soluções padrão em mg/kg. O valor alvo definido para esta carta de controlo foi de 0,1532 kg/mg, o limite superior de aviso (LSA) foi de 0,1665 kg/mg, o limite superior de controlo (LSC) foi de 0,1731 kg/mg, o limite inferior de controlo (LIC) foi de 0,1334 kg/mg, o limite inferior de aviso (LIA) foi de 0,1400 kg/mg e os declives são os pontos experimentais que constam na carta de controlo.

A partir da **Figura 13** é possível visualizar que os declives situam-se dentro dos limites definidos na carta de controlo e que não se verifica nenhuma situação anómala, descrita no Guia RELACRE 3⁷⁰. Por estes motivos, conclui-se que os declives da reta de calibração permanecem constantes ao longo dos dias.

Além disto, as várias retas de calibração traçadas permitem aferir acerca da sensibilidade do método. A sensibilidade numa função linear corresponde ao declive da reta de calibração. Determinou-se o valor médio de 0,1560 kg/mg e o desvio padrão de 0,0054 kg/mg dos declives experimentais que constam

na carta de controlo (**Figura 13**). A partir destes calculou-se o coeficiente de variação (**Equação 29**) de 3,4 %. Dado o CV obtido ser inferior ao critério de aceitabilidade definido internamente de um CV < 10 %, considera-se que a sensibilidade do método permanece constante ao longo do tempo.

3.1.4.2. Verificação da reta de calibração

Conforme referido em **2.4.5.3.**, o documento normativo ISO 22241-2⁴ exige a verificação da reta de calibração (**Figura 12**) a cada 3 anos.⁴ Por isso, procedeu-se à análise de 3 concentrações (**Anexo 6.4.6.**) iguais às da reta de calibração (**Figura 12**), preparadas de acordo com o procedimento descrito em **2.4.5.3.** Os valores médios de absorvância obtidos das 3 réplicas independentes de cada concentração de fosfato encontram-se na **Tabela 47**. Segundo a norma ISO 22241-2⁴, a reta de calibração só é válida se os valores de absorvância mencionados na **Tabela 47** diferirem $\pm 2\%$ dos valores de absorvância reportados na **Tabela 44** para a mesma concentração de fosfato.⁴ Uma vez que, pela análise dos resultados de concentração de fosfato presentes nas **Tabelas 44** e **47**, se verifica o requisito exigido pela norma ISO 22241-2⁴, conclui-se que a reta de calibração é válida.

Tabela 47. Valores obtidos na verificação da reta de calibração. Valores das concentrações de fosfato (W_p) das 3 soluções, preparadas a partir de uma solução comercial de fosfato de $10,0 \pm 0,1$ mg/l, e respetivas incertezas associadas em mg/kg (**Anexo 6.4.6.**) e valores médios das leituras da absorvância em triplicado, a um $\lambda = 800$ nm para a verificação da reta de calibração.

$W_p \pm u$ (mg/kg)	Absorvância ($\lambda = 800$ nm)
0 ± 0	0,000
$0,0400 \pm 0,0012$	0,006
$0,2000 \pm 0,0026$	0,031
$0,4000 \pm 0,0049$	0,061

3.1.4.3. Gama de trabalho

A gama de trabalho é um dos parâmetros fulcrais na validação de um método analítico, visto que estabelece o intervalo de concentrações em que o analítico é quantificável, de modo a fornecer resultados fidedignos e conforme o objetivo em estudo.⁵⁶ De acordo com o Guia RELACRE 13⁵⁷, quando o método analítico implica a construção de uma reta de calibração o parâmetro da gama de trabalho é avaliado por recurso a um teste de homogeneidade de variâncias.⁵⁷ Segundo a norma ISO 8466-1⁶¹, neste teste analisam-se 10 réplicas independentes do primeiro e último padrão da reta de calibração (**Figura 12**).⁶¹ Assim sendo, a **Tabela 48** apresenta os valores de concentração de fosfato obtidos das 10 réplicas independentes para cada padrão e a **Tabela 49** ilustra a variância (S^2) (**Equação 21**) relativa ao

primeiro e ao último padrão. Determinou-se o valor de PG de acordo com a **Equação 23**, tendo este correspondido a 1,683 (**Tabela 49**). Comparou-se este valor com o valor tabelado de F de 4,026, referido na tabela “*two tailed test*”, para um $n = 9$ e para um nível de confiança de 95 % (**Tabela 49**). Como o PG calculado de 1,683 é menor que o valor de F tabelado de 4,026, conclui-se que as diferenças entre as variâncias não são significativas e, por isso, a gama de trabalho encontra-se bem ajustada (**Tabela 49**).

Tabela 48. Valores de concentração de fosfato para o teste da homogeneidade de variâncias. Valores da concentração de fosfato (W_p) obtidos para o teor de fosfato do primeiro (P1 – $0,03994 \pm 0,00030$ mg/kg (**Anexos 6.4.4. e 6.4.5.**)) e do último (P6 – $0,3998 \pm 0,0025$ mg/kg (**Anexos 6.4.4. e 6.4.5.**)) padrão da reta de calibração (**Figura 12**).

W_p	
P1	P6
0,04291	0,4198
0,06034	0,4089
0,03202	0,4416
0,03856	0,4198
0,04509	0,4067
0,04073	0,4154
0,04727	0,4133
0,04073	0,4263
0,03638	0,4198

Tabela 49. Valores provenientes do teste de homogeneidade de variâncias para o método da determinação de fosfato. Desvio padrão (S), variância (S^2), valor de PG e valor de F tabelado (considerando a tabela “*two tailed test*”, um $n=9$ e um nível de confiança de 95%).

Teste de homogeneidade de variâncias		
Variável	Valor	
	Primeiro padrão	Último padrão
S (mg/kg)	0,007602	0,009864
S^2 (mg/kg)	5,780E-05	9,729E-05
PG		1,683
F tabelado		4,026

3.1.4.4. Análise de padrão para a verificação do método

Conforme citado em 2.4.5.4., a norma ISO 22241-2⁴ exige a verificação do método de 3 em 3 meses recorrendo à análise de um padrão de fosfato de concentração conhecida. Os valores obtidos não podem diferir de $\pm 2\%$ do valor teórico do padrão de fosfato.⁴ Por isso, analisaram-se 3 réplicas independentes da solução padrão de fosfato de $0,2025 \pm 0,0010$ mg/kg (Anexo 6.4.7.), conforme descrito em 2.4.5.4. Os valores obtidos do teor de fosfato, em mg/kg, encontram-se na Tabela 50. Relativamente à solução padrão de fosfato $0,2025 \pm 0,0010$ mg/kg (Anexo 6.4.7.), os valores experimentais diferem mais de 2%. Contudo, a incerteza do presente método (20%), determinada em 3.1.4.8., associada aos valores experimentais contemplam o valor nominal de 0,2025 mg/kg, pelo que se considera válido o método da determinação de fosfato (Tabela 50).

Tabela 50. Valores nominal e experimentais para a verificação do método da determinação do teor de fosfato. Valor nominal da concentração de fosfato (W_p) com a respetiva incerteza, em mg/kg e valores experimentais, com a respetiva incerteza, da concentração de fosfato (W_p) em mg/kg da análise de 3 réplicas independentes (linhas) da solução padrão $0,2025 \pm 0,0010$ mg/kg (Anexo 6.4.7.).

$W_p \pm u$ (mg/kg)	W_p experimental $\pm u$ (mg/kg)
0,2025 \pm 0,0010	0,219 \pm 0,044
	0,232 \pm 0,046
	0,215 \pm 0,043

3.1.4.5. Limiares analíticos

Os limiares analíticos indicam o teor mínimo de fosfato que o método é capaz de detetar (limite de deteção) e de quantificar (limite de quantificação).

Inicialmente, determinou-se o limite de deteção e de quantificação do método. Por isso, analisaram-se 6 réplicas independentes do primeiro padrão da reta de calibração. Dado as 6 réplicas independentes terem sofrido o processo de tratamento da amostra (2.4.5.5.), preparou-se uma solução com a concentração igual à do primeiro padrão da reta de calibração (Figura 12), de $0,04049 \pm 0,00020$ mg/kg, a partir da solução intermédia de fosfato de $2,0245 \pm 0,0080$ mg/kg (Anexo 6.4.8.). Após os processos de tratamento da amostra (2.4.5.5.) e de determinação espectrofotométrica (2.4.5.6.), obtiveram-se os valores do teor de fosfato mencionados na Tabela 51, sendo que nenhum valor foi rejeitado pelo teste de Grubbs (Equação 63). Porém, visualmente, observa-se que o valor

relativo ao primeiro ensaio (0,08422 mg/kg) é metade dos restantes valores presentes na **Tabela 51**. Além disso, a inclusão do valor 0,08422 mg/kg (**Tabela 51**) nos cálculos resultaria num LQ superior ao antepenúltimo padrão da reta de calibração (**Figura 12**), englobando apenas os dois últimos padrões da reta de calibração (**Figura 12**). Por estes motivos, decidiu-se desprezar o valor de 0,08422 (**Tabela 51**) para o cálculo dos limiares analíticos do método.

Tabela 51. Valores obtidos experimentalmente para os limiares analíticos do método da determinação do fosfato. Resultados do teor de fosfato (W_p), expressos em mg/kg, provenientes da análise de seis réplicas independentes do primeiro padrão da reta de calibração.

Ensaio	W_p (mg/kg)
1	0,08422*
2	0,1174
3	0,1331
4	0,1682
5	0,1349
6	0,1516

*Valor rejeitado.

Assim, com base nos resultados apresentados na **Tabela 51**, estimou-se o desvio padrão de 0,014 mg/kg, o LD do método de 0,041 mg/kg e o LQ do método de 0,14 mg/kg, pelas **Equações 24, 25 e 26**, respetivamente (**Tabela 52**).

Determinaram-se também os limiares analíticos recorrendo ao método gráfico. Obteve-se um LD de 0,014 mg/kg (**Equação 27**) e um LQ de 0,044 mg/kg (**Equação 28**) (**Tabela 52**). É importante frisar que estes valores correspondem ao LD e ao LQ instrumental, uma vez que não se fez tratamento aos padrões.

Os resultados obtidos pelo LD/LQ do método e pelo LD/LQ instrumental diferem significativamente (**Tabela 52**). A divergência entre estes valores deve-se a diversos fatores, sendo o mais relevante o facto de que na determinação dos limiares analíticos do método o primeiro padrão da reta de calibração analisado sofreu o processo de tratamento da amostra. Visto que esta é uma etapa demorada e complexa, pode ter ocorrido perdas de fosfato, principalmente no processo de evaporação da amostra na estufa e da incineração da mesma na mufla. Tal motivo induz a um resultado do teor de fosfato inferior ao real, pelo que se torna impossível detetar e quantificar fosfato em concentrações muito baixas. De facto, observou-se que o método não conseguiu quantificar as duas primeiras soluções padrão da reta de calibração (**Figura 12**). Tal deveu-se ao facto do LQ do método ser superior

às concentrações das duas primeiras soluções padrão. Em virtude dos limiares analíticos do método retratarem melhor a determinação do teor de fosfato por este método, os limiares analíticos obtidos segundo esta metodologia são definidos como o LD e o LQ do presente método. Por este motivo e dado o intervalo de 0,05 mg/kg a 10 mg/kg, reportado na norma ISO 22241-2^a, em que é possível quantificar fosfato por este método, seria interessante no futuro alargar o intervalo de concentrações da reta de calibração para concentrações superiores ao último padrão da reta de calibração (**Figura 12**).

Tabela 52. Valores dos limiares analíticos para o método da determinação do teor de fosfato. Resultados do limite de detecção (LD) e do limite de quantificação (LQ) do método e instrumental, pelo método gráfico, para a determinação do teor de fosfato, em mg/kg.

	Método	Instrumental
LD (mg/kg)	0,041	0,014
LQ (mg/kg)	0,14	0,044

3.1.4.6. Precisão

A precisão foi estudada em condições de repetibilidade e de precisão intermédia. Por isso, analisou-se, em duplicado e durante seis dias, uma solução padrão de concentração em fosfato igual a $0,4049 \pm 0,0019$ mg/kg (**Anexo 6.4.9.**). Este nível de concentração foi escolhido tendo em conta o intervalo definido na norma ISO 22241-2^a de 0,218 mg/kg a 1,007 mg/kg aquando da avaliação da precisão do método e a gama de trabalho em que o método é capaz de determinar a quantidade de fosfato de forma rigorosa. A solução de $0,4049 \pm 0,0019$ mg/kg foi preparada a partir da solução intermédia de fosfato de $2,0245 \pm 0,0080$ mg/kg (**Anexo 6.4.9.**) e sofreu o processo de tratamento da amostra (**2.4.5.5.**), uma vez que o resultado do teste de significância t (**Equação 64**) indicou que os resultados das soluções com tratamento da amostra diferem dos resultados das soluções sem tratamento da amostra. Os valores obtidos do teor de fosfato, em mg/kg, constam na **Tabela 53**, sendo que nenhum valor foi desprezado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**).

Tabela 53. Valores obtidos para o estudo da precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia para o método da determinação do teor de fosfato. Ensaios em duplicado (colunas) do teor de fosfato (W_p), expresso em mg/kg durante seis dias (linhas).

Data	W_p (mg/kg)	
10/04/2023	0,4050	0,3870
11/04/2023	0,3860	0,3530
12/04/2023	0,3690	0,3670
13/04/2023	0,3200	0,3370
14/04/2023	0,3540	0,3690
17/04/2023	0,3860	0,4000

A Tabela 54 exibe os resultados provenientes das especificações da ANOVA: fator único.

Tabela 54. Informações relativas à ANOVA: fator único para o estudo da precisão no método da determinação do teor de fosfato. Informações retiradas da ANOVA: fator único, como a soma dos quadrados (SQ), graus de liberdade (g.l) e quadrado médio (QM) para o estudo da precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da determinação do teor de fosfato.

Fonte de variação	SQ	g.l	QM
Entre grupos	0,0060	5	0,0012
Dentro de grupos	0,0011	6	0,00018
Total	0,0071	11	-

A partir dos valores ilustrados na Tabela 54, determinou-se o desvio padrão de repetibilidade (S_r) de 0,013 mg/kg e o desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}) de 0,026 mg/kg, pelas Equações 40 e 42, respetivamente (Tabela 55). Como esperado, verificou-se uma maior variabilidade nos resultados de precisão intermédia em relação aos da repetibilidade. Consequentemente, calculou-se os coeficientes de variação de repetibilidade (CV_r) e de precisão intermédia (CV_{PI}) (Equações 30 e 32, respetivamente), tendo se obtido um CV_r de 3,6 % e um CV_{PI} de 7,1 % (Tabela 55). Estes CV revelaram-se inferiores ao CV estabelecido pelo laboratório ($CV < 10$ %) e, por isto, foram considerados aceites (Tabela 55). Por último, determinou-se o limite de repetibilidade (r_r) (Equações 31) e o limite de precisão intermédia (r_{PI}) (Equações 33), que corresponderam a 0,037 mg/kg e a 0,073 mg/kg, respetivamente (Tabela 55). Observou-se que o r_r experimental de 0,037 mg/kg foi ligeiramente

superior ao r_r descrito na norma ISO 222414-2⁴ de 0,028 mg/kg, aquando da avaliação da precisão do método (Tabela 55). Tal facto pode ter advindo do processo de tratamento da amostra, ou seja, pode ter ocorrido projeções da amostra no processo de evaporação desta na estufa ou na etapa de incineração na mufla. Estas perdas de amostra podem ter culminado num teor de fosfato inferior ao seu duplicado, afetando assim o desvio padrão de repetibilidade e, conseqüentemente, o limite de repetibilidade.

Tabela 55. Parâmetros para avaliar a precisão, em condições de repetibilidade e precisão intermédia no método da determinação do teor de fosfato. Valores do desvio padrão de repetibilidade (S_r), desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}), coeficiente de variação de repetibilidade (CV_r), coeficiente de variação de precisão intermédia (CV_{PI}), limite de repetibilidade (r_r) e limite de precisão intermédia (r_{PI}) experimentais, definidos na norma ISO22241-2⁴ e pelo laboratório para o teor de fosfato (W_p).

W_p			
Variável	Experimental	Norma ⁴	Laboratório
S_r (mg/kg)	0,013	-	-
S_{PI} (mg/kg)	0,026	-	-
CV_r (%)	3,6	-	< 10
CV_{PI} (%)	7,1	-	< 10
r_r (mg/kg)	0,037	0,028	-
r_{PI} (mg/kg)	0,073	-	-

3.1.4.7. Justeza

A justeza do presente método foi avaliada por recurso à análise de um material de referência (MR). Assim sendo, foram realizadas 10 réplicas independentes do material de referência de fosfato com a concentração igual a $0,3000 \pm 0,0038$ mg/kg em PO_4^{-3} . Nota-se que esta solução foi preparada a partir do material de referência comercial de $10,0 \pm 0,1$ mg/l (Anexo 6.4.10.) e que o nível de concentração de 0,3000 mg/kg foi escolhido dado a gama de trabalho do presente método (3.1.4.3.) e o LQ do método obtido em 3.1.4.5. Além disso, o material de referência sofreu o procedimento de tratamento da amostra (2.4.5.5.), dado que o teste de significância t (Equação 64) efetuado revelou que os valores com e sem a etapa do tratamento da amostra diferem

significativamente. Deste modo, os resultados da análise das 10 réplicas independentes encontram-se na **Tabela 56**.

Tabela 56. Valores do teor de fosfato para avaliação da justeza do método da determinação do teor de fosfato. Resultados do teor de fosfato (W_p), em mg/kg, provenientes da análise de 10 réplicas independentes do material de referência com concentração igual a $0,3000 \pm 0,0038$ mg/kg em PO_4^{-3} para a avaliação da justeza do método da determinação do teor de fosfato.

Réplicas	W_p (mg/kg)
1	0,2697
2	0,2524
3	0,2359
4	0,2523
5	0,3010
6	0,3359
7	0,2864
8	0,3536
9	0,2863
10	0,2527

Com base na **Tabela 56**, calculou-se o valor médio das 10 réplicas independentes, tendo se obtido o valor de 0,28 mg/kg (**Tabela 57**). Determinou-se também o *bias* (**Equação 46**) e o *bias* relativo (**Equação 47**), tendo estes correspondido a 0,017 mg/kg e a 5,8 %, respetivamente (**Tabela 57**). Em relação ao *bias* relativo, foi definido para este método um critério de aceitabilidade de *bias* relativo de 10 %, dado a gama de trabalho trabalhada apresentar baixas concentrações de fosfato e, por isso, espera-se obter um erro maior. Assim sendo, o *bias* relativo experimental de 5,8 % é inferior ao *bias* relativo definido de 10 % e, por isso, aceite (**Tabela 57**). Por fim, foi calculada a recuperação aparente (R), através da **Equação 48**, tendo se obtido o valor de 94,2 %, que se demonstra satisfatório dado a proximidade do R ideal de 100 % (**Tabela 57**).

Tabela 57. Parâmetros do estudo da justeza para o método da determinação do teor de fosfato. Valores experimentais e definidos pelo laboratório do valor médio, bias, bias relativo e recuperação aparente (R) da análise de 10 réplicas independentes do material de referência com concentração igual a $0,3000 \pm 0,0038$ mg/kg em PO_4^{-3} para avaliação da justeza no método da determinação do teor de fosfato (W_p).

Variável	W_p	
	Experimental	Laboratório
Valor médio(mg/kg)	0,28	-
<i>bias</i> (mg/kg)	0,017	-
<i>bias</i> relativo (%)	5,8	< 10
R (%)	94,2	100

3.1.4.8. Incerteza do método

A quantificação da incerteza do método baseou-se na norma ISO 11352:2012⁷⁷. Por este motivo, teve-se em consideração as informações relativas à precisão (erros aleatórios) e à justeza (erros sistemáticos) anteriormente estudadas.

Na componente da incerteza associada à precisão (u_{R_w}) assumiu-se o resultado do desvio padrão de precisão intermédia (S_{PI}), de 0,026 mg/kg, determinado anteriormente no estudo da precisão (Tabela 58). Consequentemente, determinou-se a incerteza relativa associada à precisão de 0,065 (Tabela 58).

Para a incerteza associada à justeza (u_b) teve-se em conta as informações relativas à avaliação da justeza recorrendo ao material de referência. Procedeu-se ao cálculo de u_b relativa pela Equação 62, tendo se obtido um valor de 0,073 (Tabela 58).

A incerteza relativa combinada, obtida pela Equação 56, foi de 0,098 (Tabela 58). Por conseguinte, a incerteza expandida (U), calculada pela Equação 57 e tendo em consideração um fator de expansão (k) igual a 2 para um nível de confiança de 95%, foi de 20 % (Tabela 58).

Todos os resultados intermédios assim como os valores finais para a quantificação da incerteza do método encontram-se ilustrados na Tabela 58.

Tabela 58. Dados para a determinação da incerteza do método da determinação do teor de fosfato. Desvio padrão da precisão intermédia (S_{PI}), incerteza associada à precisão (u_{R_w}), concentração do padrão de fosfato ($[PO_4^{-3}]$), bias (b), desvio padrão das réplicas independentes realizadas ao material de referência (S_{bM}), número de ensaios efetuados com o material de referência (n_M); incerteza do material de referência (u_{CrefM}), incerteza associada à justeza (u_b), incerteza combinada (u_c), fator de expansão (k) e incerteza expandida (U).

Variável	Valor
S_{PI} (mg/kg)	0,026
u_{R_w} (mg/kg)	0,026
$[PO_4^{-3}]$ (mg/kg)	0,4049
u_{R_w} relativa	0,065
$u_{R_w}^2$ relativa	0,0042
b relativo	0,058
b^2 relativo	0,0034
S_{bM} relativo	0,14
n_M	10
u_{CrefM}^2 relativa	0,00016
u_b relativa	0,073
u_b^2 relativa	0,0054
u_c relativa	0,098
k	2
U (%)	20

Em jeito de conclusão, os parâmetros de desempenho para este método foram avaliados com sucesso, sugerindo-se apenas como melhoria o alargamento da gama de concentrações na reta de calibração.

3.1.5. Determinação do teor de biureto

A verificação do método de determinação do teor de biureto iniciou-se com o estudo da reta de calibração, gama de trabalho e limiares analíticos. Além disso, foi efetuada a análise considerando o fator dia conforme exigido pela norma ISO 22241-2⁴.

O teor de biureto foi calculado por recurso à **Equação 74**⁴, descrita na norma ISO 22241-2⁴, e os resultados foram expressos com arredondamento a 0,01 % (m/m).⁴

$$W_{Bi} = \frac{A \times F_D \times 250}{m_s \times 10 \times 1000} \times 100 \quad \text{Equação 74}^4$$

em que W_{Bi} representa o teor de biureto em % (m/m), A a absorvância medida no comprimento de onda de 550 nm, F_D o fator dia em mg, calculado de acordo com a **Equação 75**⁴, e m_s a massa da amostra em g.⁴

$$F_D = \frac{8}{A} \quad \text{Equação 75}^4$$

em que F_D representa o fator dia em mg e A o valor médio das absorvâncias de 2 medições lidas no comprimento de onda de 550 nm.⁴

3.1.5.1. Reta de calibração

Na **Tabela 59** constam as concentrações efetivas e respectivas incertezas associadas das soluções padrão de biureto em mg/ml (**Anexo 6.5.5.**) e os valores médios das leituras de absorvância obtidos no comprimento de onda de 550 nm. A partir dos valores presentes na **Tabela 59** traçou-se uma reta de calibração da absorvância em função da concentração de biureto das soluções padrão em mg/ml (**Figura 14**).

Tabela 59. Valores para a construção da reta de calibração do método da determinação de biureto. Valores das concentrações efetivas de biureto das soluções padrão (W_{Bi}) e respectivas incertezas associadas (u) em mg/ml e valores médios da medição da absorvância em triplicado, a um $\lambda=550$ nm.

$W_{Bi} \pm u$ (mg/ml)	Absorvância ($\lambda = 550$ nm)
0 ± 0	0,000
$0,03118 \pm 0,00015$	0,008
$0,07796 \pm 0,00043$	0,019
$0,15592 \pm 0,00046$	0,039
$0,23388 \pm 0,00069$	0,057
$0,31184 \pm 0,00085$	0,077
$0,3898 \pm 0,0010$	0,095

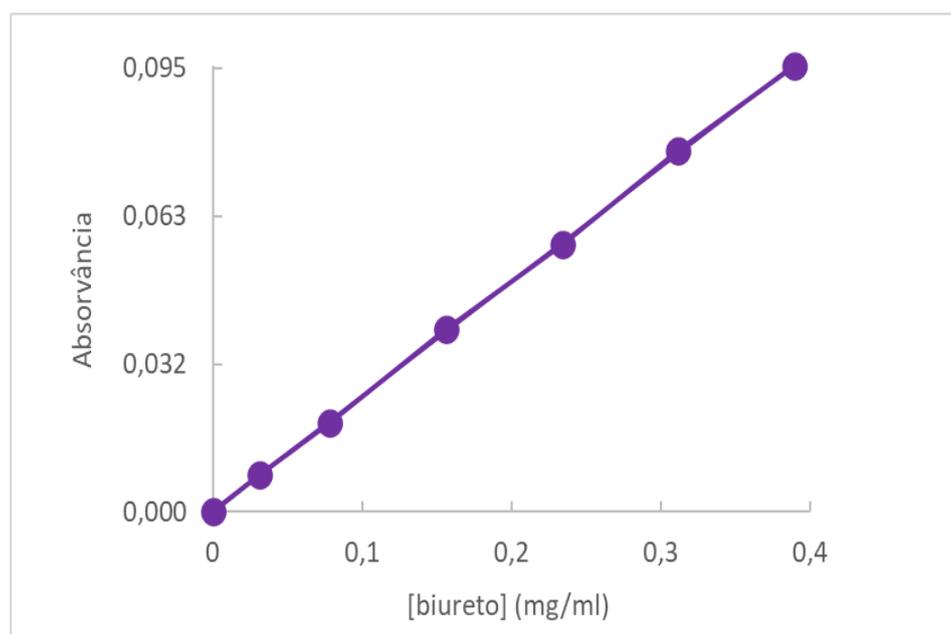


Figura 14. Reta de calibração do método da determinação do teor de biureto. Representação gráfica dos valores de absorvância ($\lambda = 550$ nm) obtidos em função da concentração das soluções padrão de biureto ([biureto]) em mg/ml.

A equação da reta da reta de calibração, ilustrada na **Figura 14**, é dada por: Absorvância = $(0,2442 \pm 0,0039)$ [biureto] (mg/ml) + $(0,00025 \pm 0,00093)$. Os limites de confiança do declive e da ordenada na origem foram determinados de acordo com as **Equações 15** e **16**, respetivamente. Observou-se que a incerteza relativa associada ao declive foi baixa (1,6 %) e que o intervalo de confiança da ordenada na origem abrange o ponto (0,0). De modo a verificar a existência de algum valor discrepante, realizou-se o teste para rejeição dos valores (**Equação 12**). A partir deste foi possível concluir que nenhum valor foi desprezado.

A linearidade da reta de calibração foi avaliada por recurso à análise do coeficiente de correlação (r). O valor obtido de 0,9999 demonstrou ser superior ao recomendado no Guia RELACRE 13⁵⁷ (0,995), indicando uma elevada linearidade do método ao longo da gama de trabalho. Esta conclusão foi corroborada pela realização de um teste de significância t (**Equação 19**), que evidenciou a existência de correlação significativa entre a absorvância e a concentração das soluções padrão de biureto.

Com o intuito de avaliar a estabilidade da reta de calibração ao longo do tempo, foi construída uma carta de controlo a partir das retas de calibração traçadas entre 27/02/23 e 18/05/23. A **Tabela 60** apresenta os declives dessas retas de calibração, sendo que o valor de 0,2740 ml/mg foi rejeitado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**) efetuado aos primeiros 11 declives. A partir destes declives, determinou-se o valor médio de 0,2498 ml/mg e o desvio padrão de 0,0030 ml/mg para definir o valor alvo, o limite superior de aviso (LSA) (**Equação 65**), o limite superior de controlo (LSC) (**Equação 67**), o limite inferior de controlo (LIC) (**Equação 68**) e o limite inferior de aviso (LIA) (**Equação 66**), presentes na **Tabela 61**, para a construção da carta de controlo de indivíduos ilustrada na **Figura 15**. Os restantes 10 declives presentes na **Tabela 60** foram dispostos na carta de controlo (**Figura 15**) como valores experimentais.

Tabela 60. Valores para a construção de uma carta de controlo de indivíduos do método da determinação do teor de biureto. Valores dos declives, em ml/mg, das retas de calibração traçadas desde o dia 27/02/23 até ao dia 18/05/23 para a elaboração de uma carta de controlo de indivíduos.

Data	Declive (ml/mg)
27/02/23	0,2740*
28/02/23	0,2480
01/03/23	0,2474
02/03/23	0,2470
03/03/23	0,2535
06/03/23	0,2514
07/03/23	0,2512
08/03/23	0,2550
17/03/23	0,2488
20/03/23	0,2459
21/03/23	0,2494
22/03/23	0,2498
23/03/23	0,2442
24/03/23	0,2515
27/03/23	0,2472
28/03/23	0,2540
29/03/23	0,2521
31/03/23	0,2483
15/05/23	0,2477
16/05/23	0,2515
18/05/23	0,2440

*valor rejeitado pelo teste de Grubbs.

Tabela 61. Limites definidos para a construção da carta de controle de indivíduos no método da determinação do teor de biureto. Definiu-se como valor alvo a média obtida, o limite superior de aviso (LSA), o limite superior de controle (LSC), o limite inferior de controle (LIC) e o limite inferior de aviso (LIA).

Limite	Valor (ml/mg)
Valor alvo	0,2498
LSA	0,2557
LSC	0,2586
LIC	0,2409
LIA	0,2439

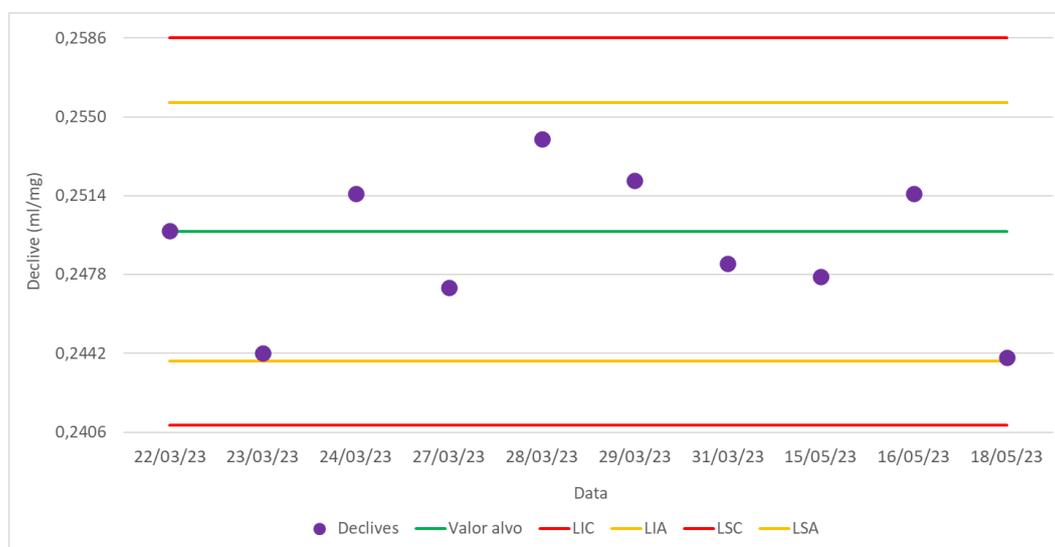


Figura 15. Carta de controle de indivíduos para o método da determinação do teor de biureto. Carta de controle de indivíduos dos declives das retas de calibração traçadas da absorvância em função da concentração de biureto das soluções padrão em mg/ml. O valor alvo definido para esta carta de controle de 0,2498 ml/mg, o limite superior de aviso (LSA) de 0,2557 ml/mg, o limite superior de controle (LSC) de 0,2586 ml/mg, o limite inferior de controle (LIC) de 0,2409 ml/mg, o limite inferior de aviso (LIA) de 0,2439 ml/mg.

Ao analisar a **Figura 15**, observa-se que todos os declives se encontram dentro dos limites estabelecidos na carta de controle. Porém, o segundo e último declive na carta de controle situam-se muito próximos do LIA. Visto que o terceiro ponto experimental está localizado na região ideal da carta de controle, conclui-se que o segundo declive foi um caso atípico, pelo que demonstrou não ser um problema no método. Relativamente ao último ponto experimental, seria desejável repetir a análise de forma a averiguar se o próximo ponto voltaria para a zona ideal da carta de controle.

A sensibilidade do método também foi avaliada pelas diversas retas de calibração traçadas. Para isso, calculou-se o valor médio de 0,2490 ml/mg e o desvio padrão de 0,0034 ml/mg a partir

dos 10 declives presentes na carta de controlo (**Figura 15**). Tais valores permitiram o cálculo do coeficiente de variação, pela **Equação 29**, tendo se obtido um valor de 1,4 %. Uma vez que o CV experimental (1,4 %) é inferior ao definido internamente de $CV < 10 \%$, conclui-se que a sensibilidade do método é estável ao longo do tempo.

3.1.5.2. Fator dia

Conforme indicado no documento normativo ISO 22241-2⁴, o fator dia deve se encontrar dentro de 5 % do fator de calibração.⁴ Com base nisso, foram realizadas duas análises consoante descrito em **2.5.5.2.**, tendo se obtido os valores de absorvância indicados na **Tabela 62**. A partir destes resultados determinou-se, pela **Equação 75**⁴, o fator dia de 200,00 mg. Deste modo, aferiu-se que o fator dia ($F_D = 200,00 \text{ mg}$) se situava dentro de 5 % do fator de calibração de 208,81 mg, calculado pela **Equação 76**⁴ e, por isso, cumpriu com a condição estabelecida pela norma ISO 22241-2⁴.

Tabela 62. Valores para o cálculo do fator dia. Valores obtidos de absorvância, a um $\lambda = 550 \text{ nm}$, para posterior cálculo do fator dia do método da determinação do teor de biureto.

Absorvância ($\lambda = 550 \text{ nm}$)	
0,040	0,040

$$F_c = \frac{\sum_{i=1}^6 m}{\sum_{i=1}^6 A} = \frac{61,6}{\sum_{i=1}^6 A} \quad \text{Equação 76}^4$$

em que F_c representa o fator de calibração em mg, m a massa de biureto de cada solução padrão da reta de calibração em mg e A a absorvância de cada solução padrão da reta de calibração lidas no comprimento de onda de 550 nm.⁴

3.1.5.3. Gama de trabalho

A gama de trabalho do método da determinação do teor de biureto foi averiguada pela realização do teste de homogeneidade de variâncias. A **Tabela 63** apresenta os valores do teor de biureto obtidos para as 10 réplicas independentes do primeiro e último padrão da reta de calibração (**Figura 14**) efetuadas, sendo que nenhum valor foi desprezado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**).

Tabela 63. Valores do teor de biureto para o teste da homogeneidade de variâncias. Valores do teor de biureto (W_{Bi}) obtidos para o primeiro (P1 – $0,03118 \pm 0,00015$ mg/ml (Anexo 6.5.5.)) e último (P6 – $0,3898 \pm 0,0010$ mg/ml (Anexo 6.5.5.)) padrão da reta de calibração (Figura 14).

W_{Bi}	
P1	P6
0,03172	0,3879
0,03172	0,3920
0,02763	0,3674
0,03172	0,3879
0,03582	0,3879
0,03172	0,3920
0,02763	0,4002
0,03172	0,3961
0,03172	0,3674

A partir destes resultados estimou-se para cada padrão a variância (S^2) (Equação 21), tendo correspondido uma S^2 de 0,0000054 mg/ml para o primeiro padrão e um S^2 de 0,00012 mg/ml para o último padrão (Tabela 64). Consequentemente, calculou-se o valor de PG de acordo com a Equação 23, tendo este correspondido a 22,10 (Tabela 64). Como este resultado de PG=22,10 é superior ao F tabelado de 4,026 (mencionado na tabela “two tailed test”, para um n=9 e para um nível de confiança de 95 %), a gama de trabalho não se encontra bem ajustada (Tabela 64). Assim sendo, no futuro seria interessante analisar 10 réplicas independentes do penúltimo padrão da reta de calibração (Figura 14) e repetir o teste de homogeneidade de variâncias para averiguar se será necessário eliminar o último padrão, ou seja, reduzir a gama de trabalho até esta se encontrar bem ajustada. Outra solução será utilizar a regressão ponderada, uma vez que as variâncias do padrão mais elevado e do mais baixo diferem.

Tabela 64. Informações do teste de homogeneidade de variâncias para o método da determinação do teor de biureto. Desvio padrão (S), variância (S²), valor de PG e valor de F tabelado (considerando a tabela “two tailed test”, um n=9 e um nível de confiança de 95%).

Teste de homogeneidade de variâncias		
Variável	Valor	
	Primeiro padrão	Último padrão
S (mg/ml)	0,0023	0,011
S ² (mg/ml)	0,0000054	0,00012
PG		22,10
F tabelado		4,026

3.1.5.4. Limiares analíticos

Para o estudo dos limiares analíticos do método, analisaram-se 6 réplicas independentes do primeiro padrão da reta de calibração ([biureto]= 0,03118 ± 0,00015 mg/ml), seguindo o procedimento descrito em 2.5.5.3.. Os valores do teor de biureto em % (m/m), calculados pela **Equação 74**, encontram-se na **Tabela 65**. Nenhum valor apresentado na **Tabela 65** foi desprezado pelo teste de Grubbs (**Equação 63**).

Tabela 65. Valores obtidos experimentalmente para os limiares analíticos do método da determinação do teor de biureto. Resultados do teor de biureto (W_{Bi}), expresso em % (m/m), provenientes da análise de seis réplicas independentes do primeiro padrão da reta de calibração.

Ensaio	W_{Bi} % (m/m)
1	0,03988
2	0,04941
3	0,05500
4	0,03947
5	0,05932
6	0,04839

A partir da **Tabela 65** estimou-se o desvio padrão (**Equação 24**) de 0,0056 % (m/m) e, conseqüentemente, o LD de 0,017 % (m/m) e o LQ de 0,056 % (m/m), pelas **Equações 25 e 26** respetivamente (**Tabela 66**). Deste modo, é possível concluir que os limiares analíticos obtidos experimentalmente permitem determinar com grande rigor os valores compreendidos na gama de trabalho de 0,1 a 0,5 % (m/m), conforme reportado na norma ISO 22241-2⁴.

Tabela 66. Valores dos limiares analíticos para o método da determinação do teor de biureto. Resultados do limite de deteção (LD) e do limite de quantificação (LQ) do método para a determinação do teor de biureto (W_{Bi}), em % (m/m).

	LD	LQ
W_{Bi} % (m/m)	0,017	0,056

Para o presente método pode-se concluir que os parâmetros de desempenho foram avaliados com sucesso. Apenas se sugere, como melhoria, reduzir a gama de trabalho ou utilizar a regressão ponderada.

3.2. Outras atividades

Além da verificação dos métodos de análise supracitados, foram desenvolvidas outras atividades em laboratório, nomeadamente, o controlo do pH e da condutividade da água desmineralizada utilizada na produção de AdBlue® e a verificação da qualidade do AdBlue® armazenado nos depósitos da empresa.

3.2.1. Análise da água desmineralizada usada na fabricação de AdBlue®

A água desmineralizada utilizada na produção de AdBlue® apresenta características muito próprias em relação à gama de pH e condutividade. Por este motivo, a água desmineralizada foi analisada uma vez por dia de forma a garantir o cumprimento das especificações de cada parâmetro mencionado.

Como referido anteriormente, o pH desta água deve situar-se entre 5,00 a 7,00.¹⁹ Por isso, para a carta de controlo apresentada na **Figura 16**, o limite inferior de controlo (LIC) definido foi de 5,00 e o limite superior de controlo (LSC) foi de 7,00.

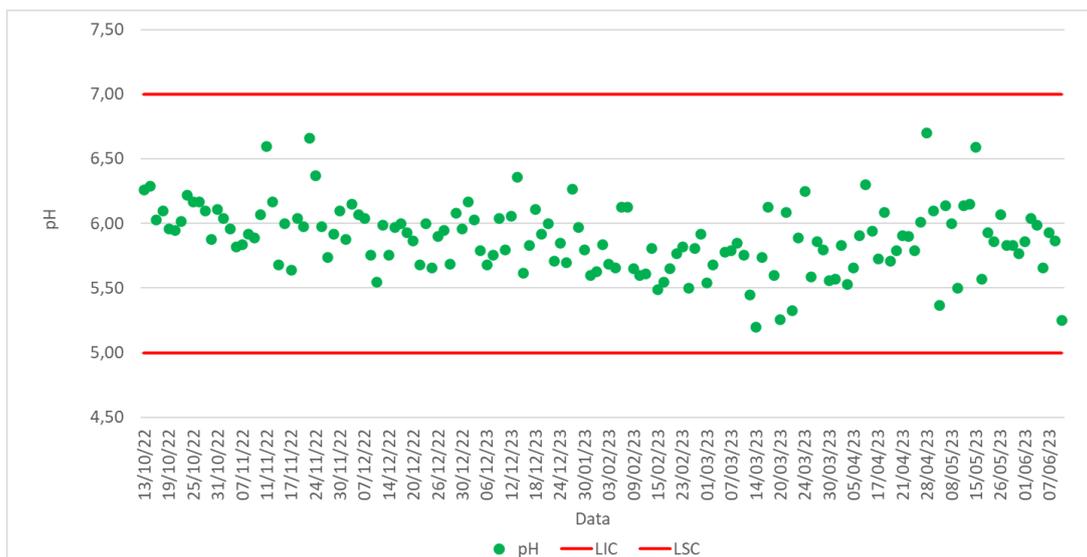


Figura 16. Carta de controlo do pH da água desmineralizada utilizada na produção de AdBlue®. Carta de controlo da análise diária ao parâmetro de pH desde o dia 13/10/22 até ao dia 07/06/23. Foi definido para esta carta de controlo um limite inferior de controlo (LIC) de 5,00 unidades de pH e um limite superior de controlo (LSC) de 7,00 unidades de pH.¹⁹

Pela análise da **Figura 16** observou-se que todos os resultados de pH obtidos se encontram dentro dos limites definidos na carta de controlo referente ao pH.

Por outro lado, elaborou-se uma carta de controlo alusiva ao parâmetro da condutividade, expressa em $\mu\text{S}/\text{cm}$ (**Figura 17**). Definiu-se como limite superior de controlo (LSC) o valor de 4,00 $\mu\text{S}/\text{cm}$, dado ser este o valor máximo que a condutividade desta água desmineralizada pode apresentar.¹⁹

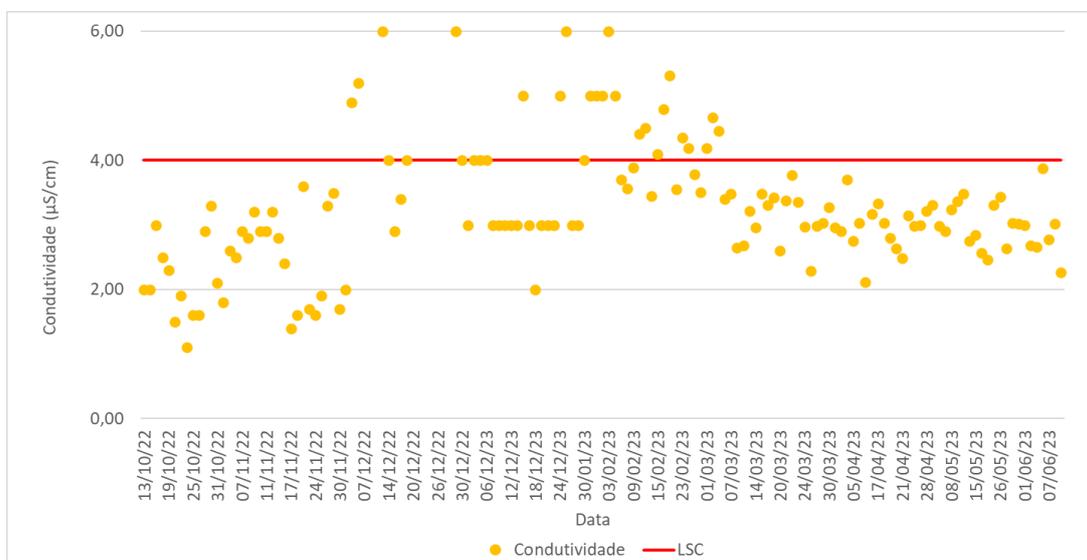


Figura 17. Carta de controlo da condutividade da água desmineralizada usada no fabrico de AdBlue®. Carta de controlo da análise diária ao parâmetro da condutividade, expressa em $\mu\text{S}/\text{cm}$, desde o dia 13/10/22 até ao dia 07/06/23. Foi definido para esta carta de controlo um limite superior de controlo (LSC) de 4,00 $\mu\text{S}/\text{cm}$.¹⁹

A partir da análise da carta de controlo presente na **Figura 17**, verificou-se que alguns valores foram superiores ao permitido, pelo que nestes casos foram tomadas, de imediato, medidas corretivas.

3.2.2. Controlo de qualidade do AdBlue® armazenado em depósitos

A empresa dispõe de três depósitos para armazenamento de AdBlue®, enquanto este não é escoado. Deste modo, foram realizadas, uma vez por semana, análises à concentração de ureia e ao índice de refração do AdBlue® presente nos depósitos 12, 13 e 14. Para controlo imediato dos parâmetros indicados, construiu-se uma carta de controlo para cada depósito e parâmetro em estudo. Assim, as **Figuras 18, 19 e 20** correspondem aos resultados obtidos das medições da concentração de ureia do AdBlue® presente nos depósitos 12, 13 e 14, respetivamente. O limite inferior de controlo (LIC) definido para as estas três cartas de controlo foi de 31,8 % (m/m), enquanto o limite superior de controlo (LSC) estabelecido foi de 33,2 % (m/m). Estes limites foram definidos atendendo ao intervalo de resultados que as amostras de AdBlue® podem apresentar de concentração de ureia, conforme reportado na norma ISO 22241-1² e na ficha técnica do AdBlue®¹⁷.

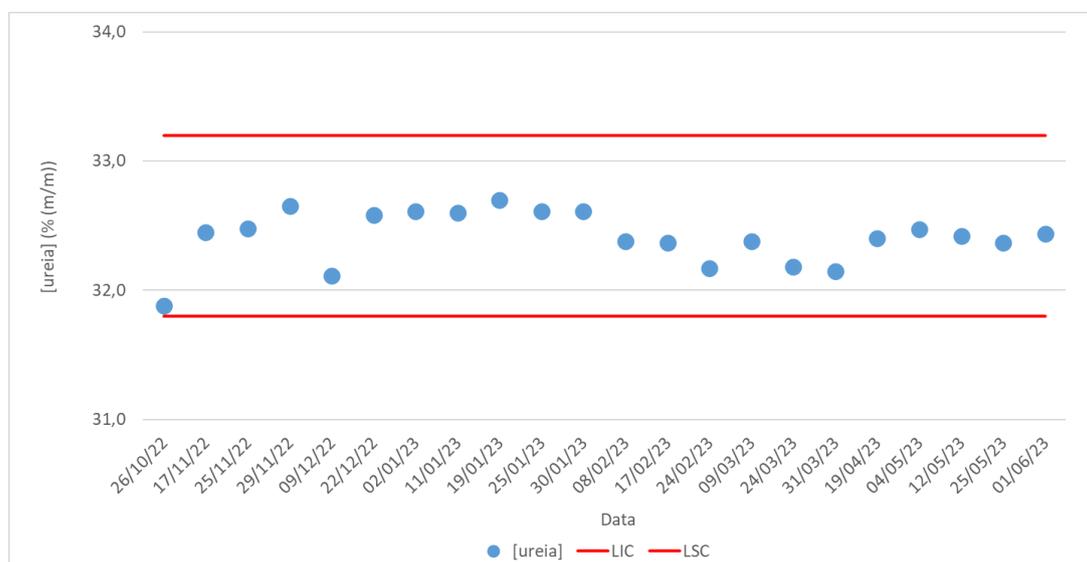


Figura 18. Carta de controlo da concentração de ureia do AdBlue® armazenado no depósito 12. Carta de controlo da análise semanal à concentração de ureia ([ureia]) do AdBlue® presente no depósito 12, expressa em % (m/m), desde o dia 26/10/22 até ao dia 01/06/23. Estabeleceu-se para esta carta de controlo um limite inferior de controlo (LIC) de 31,8 % (m/m) e um limite superior de controlo (LSC) de 33,2 % (m/m), visto que estes valores correspondem aos limites estipulados na ficha técnica do AdBlue®¹⁷ e na norma ISO 22241-2⁴.

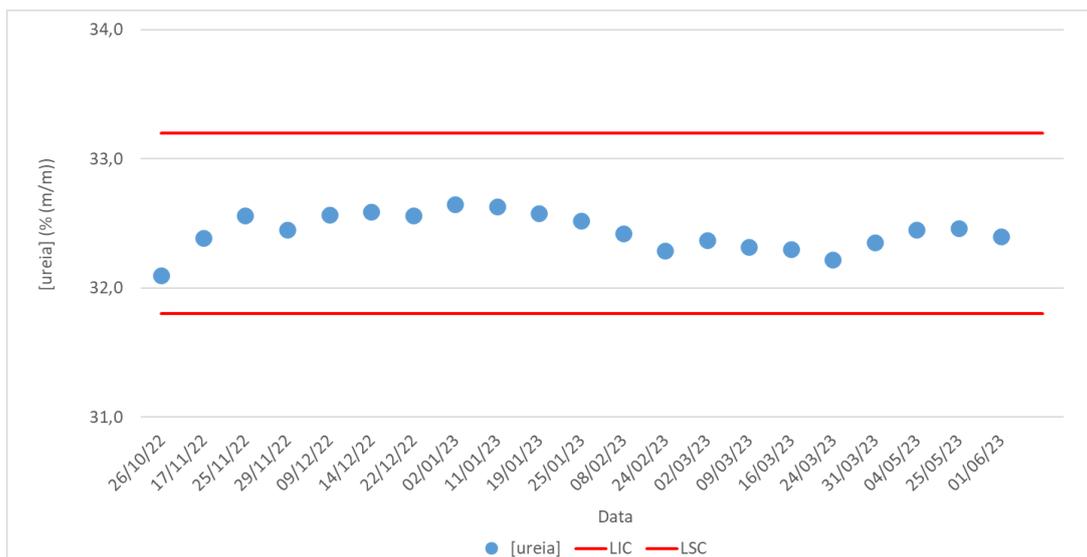


Figura 19. Carta de controle da concentração de ureia do AdBlue® presente no depósito 13. Carta de controle da análise semanal à concentração de ureia ([ureia]) do AdBlue® presente no depósito 13, expressa em % (m/m), desde o dia 26/10/22 até ao dia 01/06/23. Para esta carta de controle foi definido um limite inferior de controle (LIC) de 31,8 % (m/m) e um limite superior de controle (LSC) de 33,2 % (m/m), dado serem os valores estabelecidos na ficha técnica do AdBlue®¹⁷ e na norma ISO 22241-2⁴.

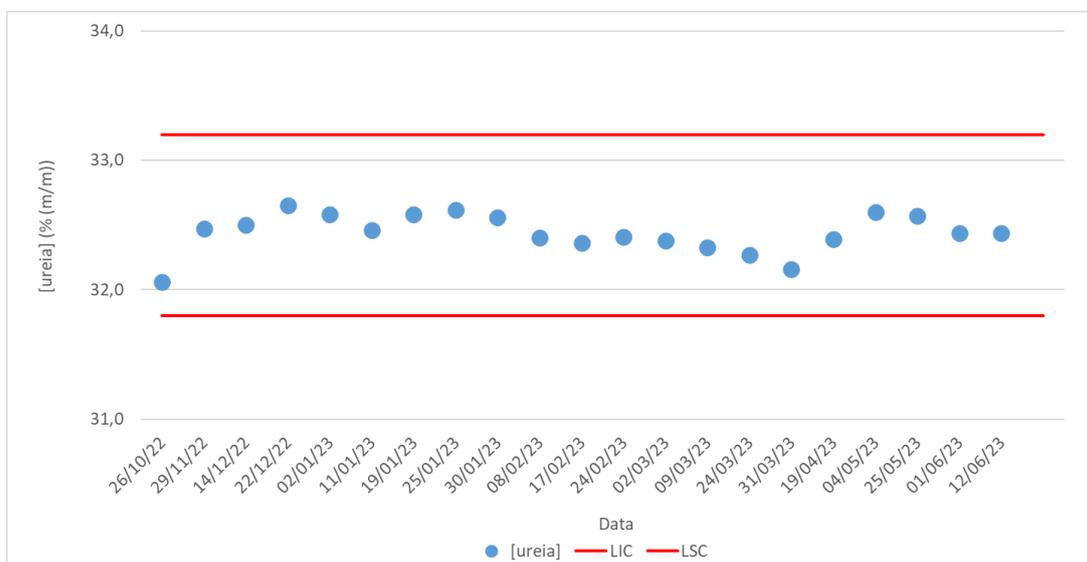


Figura 20. Carta de controle da concentração de ureia do AdBlue® armazenado no depósito 14. Carta de controle da análise semanal à concentração de ureia ([ureia]) do AdBlue® presente no depósito 14, expressa em % (m/m), desde o dia 26/10/22 até ao dia 12/06/23. Foi definido para esta carta de controle um limite inferior de controle (LIC) de 31,8 % (m/m) e um limite superior de controle (LSC) de 33,2 % (m/m), uma vez que são os limites estipulados na ficha técnica do AdBlue®¹⁷ e na norma ISO 22241-2⁴.

Ao longo do período de tempo em que foi monitorizada a concentração de ureia constatou-se que o AdBlue® se encontrava em conformidade com as especificações², dado nenhum resultado experimental ter ultrapassado os limites estipulados (Figuras 18, 19 e 20).

As cartas de controlo ilustradas nas Figuras 21, 22 e 23 referem-se às análises do índice de refração efetuadas ao AdBlue® armazenado nos depósitos 12, 13 e 14, respetivamente. Para as cartas de controlo indicadas nas Figuras 21, 22 e 23 estabeleceu-se um LIC de 1,3814 e um LSC de 1,3843, uma vez que a norma ISO 22241-1² e a ficha técnica do AdBlue®¹⁷ estabelecem estes valores como limite mínimo e máximo permitido para este parâmetro.

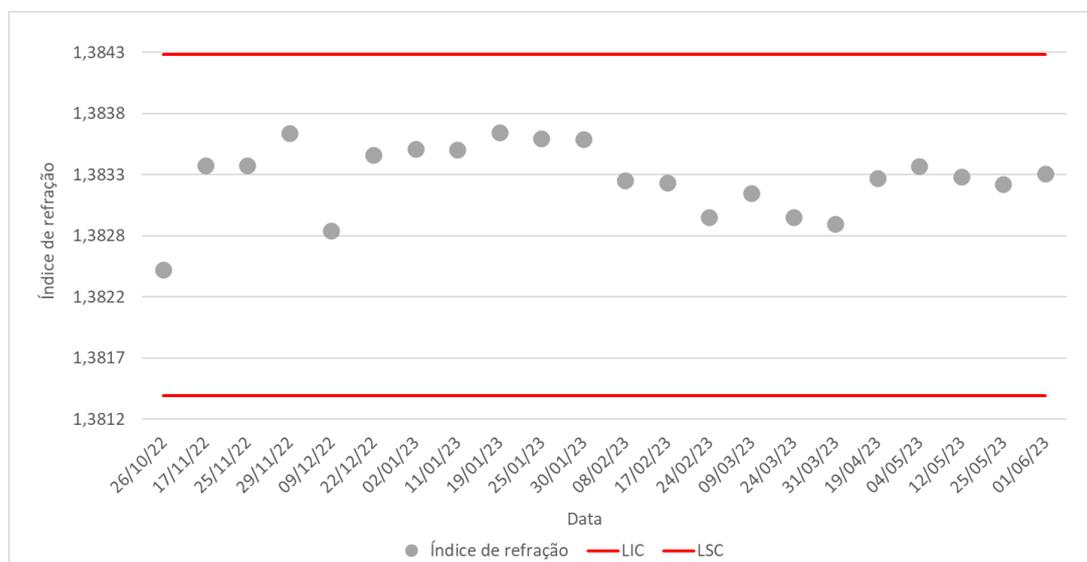


Figura 21. Carta de controlo do índice de refração do AdBlue® armazenado no depósito 12. Carta de controlo da análise semanal ao índice de refração, desde o dia 26/10/22 até ao dia 01/06/23. Foi definido para esta carta de controlo um limite inferior de controlo (LIC) de 1,3814 e um limite superior de controlo (LSC) de 1,3843, dado serem estes os limites estipulados na ficha técnica do AdBlue®¹⁷ e na norma ISO 22241-2¹.

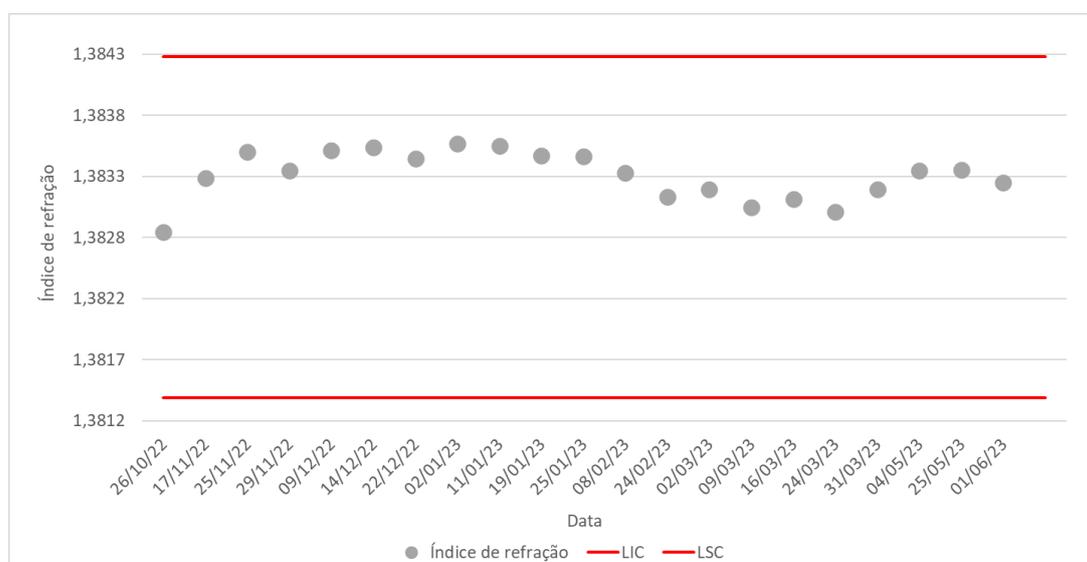


Figura 22. Carta de controlo do índice de refração do AdBlue® armazenado no depósito 13. Carta de controlo da análise semanal ao índice de refração, desde o dia 26/10/2022 até ao dia 01/06/2023. Estabeleceu-se para esta carta de controlo um limite inferior de controlo (LIC) de 1,3814 e um limite superior de controlo (LSC) de 1,3843, visto que foram estes os limites definidos na ficha técnica do AdBlue®¹⁷ e na norma ISO 22241-2¹.

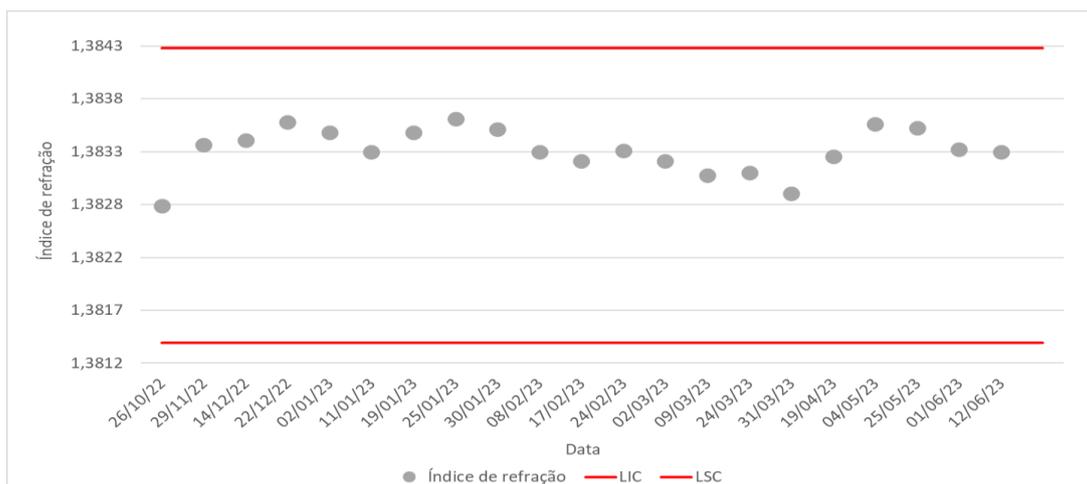


Figura 23. Carta de controle do índice de refração do AdBlue® presente no depósito 14. Carta de controle da análise semanal ao índice de refração, desde o dia 26/10/2022 até ao dia 12/06/2023. Para esta carta de controle foi definido um limite inferior de controle (LIC) de 1,3814 e um limite superior de controle (LSC) de 1,3843, dado serem estes os valores limite descritos na ficha técnica do AdBlue®¹⁷ e na norma ISO 22241-2¹.

Através das **Figuras 21, 22 e 23** concluiu-se que nenhum valor determinado excedeu os limites definidos, corroborando a evidência que o AdBlue® se encontrava de acordo com os critérios exigidos².

4. Conclusão

A presente dissertação teve como principal objetivo a verificação de alguns dos métodos de análise de AdBlue®, associados à norma ISO 22241-2⁴. Por esta razão, em cada método caracterizou-se os parâmetros analíticos de forma a verificar os mesmos. Procedeu-se à verificação do método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração, seguindo-se o método da determinação da alcalinidade, determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico, determinação de fosfato e determinação de biureto. Com base nas considerações apresentadas no fim de cada método de análise pode-se salientar as seguintes conclusões gerais.

Na determinação da concentração de ureia pelo índice de refração foram avaliados os limiares analíticos, a precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia, a justeza e a incerteza do método. Os resultados demonstraram que o método é adequado ao objetivo, apresentando valores de limites de deteção e quantificação adequados, precisão dentro dos critérios de aceitação e justeza satisfatória, assim como incerteza do método extremamente baixa.

No caso da determinação da alcalinidade, os mesmos parâmetros de desempenho foram estudados e o método foi considerado adequado para a análise de amostras de AdBlue®. Os limiares analíticos, a precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia, bem como a justeza e a incerteza do método, estavam em conformidade com a norma ISO 22241-2⁴ e critérios de aceitação definidos.

Para a matéria insolúvel pelo método gravimétrico, os parâmetros de desempenho foram avaliados. O limite de deteção obtido foi adequado ao objetivo. A precisão do método mostrou-se aceitável, e a justeza foi considerada satisfatória, com uma recuperação aparente próxima do valor ideal. A incerteza do método também foi determinada e estava dentro dos padrões aceitáveis.

No que diz respeito à determinação do teor de fosfato, a sensibilidade, a gama de trabalho, os limiares analíticos, a precisão em condições de repetibilidade e precisão intermédia, a justeza e a incerteza do método foram avaliados. A calibração foi considerada ser linear e o método foi verificado com sucesso. Nos limiares analíticos sugeriu-se o alargamento da gama de concentrações. A precisão e a justeza estavam em conformidade com os critérios internos de aceitação e a incerteza do método foi quantificada.

Finalmente, o método da determinação do teor de biureto foi avaliado quanto à reta de calibração, ao fator dia, à gama de trabalho e aos limiares analíticos. A linearidade da reta de calibração foi confirmada e o método demonstrou ser sensível e estável ao longo do tempo. Foi sugerida

uma melhoria na gama de trabalho para garantir um melhor ajuste. Os limiares analíticos do método foram considerados adequados para as concentrações em questão.

Em conclusão, os métodos de análise em estudo referente ao produto AdBlue® foram verificados e demonstraram ser adequados para as respectivas determinações no laboratório. Os resultados obtidos estavam em conformidade com a norma ISO 22241-2⁴ e com os critérios de aceitação internos do laboratório. Essa abordagem rigorosa garante a precisão e confiabilidade das análises realizadas, contribuindo para a qualidade e confiabilidade do produto final. Assim, é possível garantir a comercialização adequada deste produto químico pela RNM. Além disso, estes fatores contribuem para o cumprimento das normas Euro e, conseqüentemente, para a redução dos poluentes atmosféricos e seus impactos negativos no meio ambiente e na saúde pública.

Este projeto individual possibilitou a aplicação de conceitos e de metodologias de análise, permitindo a aquisição de novos conhecimentos e a interação com novos equipamentos. Além disso, representou uma oportunidade de desenvolvimento profissional em ambiente empresarial.

5. Bibliografia

- (1) ISO 22241-4:2019(En), Diesel Engines – NOx Reduction Agent AUS 32 – Part 4: Refilling Interface.
- (2) ISO 22241-1:2019(En), Diesel Engines – NOx Reduction Agent AUS 32 – Part 1: Quality Requirements.
- (3) ISO 22241-3:2017(En), Diesel Engines – NOx Reduction Agent AUS 32 – Part 3: Handling, Transportation, and Storage.
- (4) ISO 22241-2:2019(En), Diesel Engines – NOx Reduction Agent AUS 32 – Part 2: Test Methods.
- (5) RNM, G. Manual de Acolhimento, 2019.
- (6) Grupo RNM. <https://www.grupornm.pt/galeria.php> (accessed 2023-03-21).
- (7) Grupo RNM - *Produção e transporte de produtos químicos*. <https://www.grupornm.pt/> (accessed 2022-11-14).
- (8) Demir, U.; Kozan, A.; Özer, S. Experimental Investigation of the Effect of Urea Addition to Fuel on Engine Performance and Emissions in Diesel Engines. *Fuel* **2022**, *311*, 122578. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122578>.
- (9) *An Introduction to Passenger Car Emissions and Test Cycles/Portuguese-Introducao-as-emissoes-de-carros-de-passageiros.pdf*. ConcaWE. <https://www.concawe.eu/publication/introduction-passenger-car-emissions-test-cycles/> (accessed 2023-03-23).
- (10) Schumacher, O.; Mildenerberger, M.; Gambaryan-Roisman, T.; Stephan, P. Wetting and Evaporation of Pinned Urea–Water-Droplets on Substrates of Different Wettability. *Int. J. Heat Fluid Flow* **2021**, *92*, 108886. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatfluidflow.2021.108886>.
- (11) Shi, Z.; Peng, Q.; E, J.; Xie, B.; Wei, J.; Yin, R.; Fu, G. Mechanism, Performance and Modification Methods for NH₃-SCR Catalysts: A Review. *Fuel* **2023**, *331*, 125885. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.125885>.
- (12) Salaev, M. A.; Kulchakovskaya, E. V.; Liotta, L. F.; Vodyankina, O. V. Bimetallic Ag-Based Catalysts for Low-Temperature SCR: Quo Vadis? *Appl. Catal. Gen.* **2022**, *644*, 118815. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2022.118815>.
- (13) aus der Wiesche, S. Numerical Heat Transfer and Thermal Engineering of AdBlue (SCR) Tanks for Combustion Engine Emission Reduction. *Appl. Therm. Eng.* **2007**, *27* (11), 1790–1798. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2007.01.008>.
- (14) Barreau, M.; Courtois, X.; Can, F. Selective Catalytic Reduction of NO at Low Temperature Using a (Ethanol+ammonia) Mixture over a Ag/Al₂O₃ + WO₃/Cex-ZryO₂ Dual-Bed Catalytic System: Reactivity Insight of WO₃/Cex-ZryO₂. *Catal. Today* **2020**, *355*, 375–384. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2019.08.019>.
- (15) Europeia, C. *Proposta de regulamento do Parlamento Europeu e do Conselho*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/HTML/?uri=CELEX:52019PC0208&from=IT> (accessed 2023-03-23).
- (16) *Commission proposes new Euro 7 standards*. European Commission - European Commission. https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_22_6495 (accessed 2023-03-21).
- (17) BlueChem. Ficha técnica AdBlue®, 2021.
- (18) Maizak, D.; Wilberforce, T.; Olabi, A. G. DeNO_x Removal Techniques for Automotive Applications – A Review. *Environ. Adv.* **2020**, *2*, 100021. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2020.100021>.
- (19) RNM, G. Plano de controlo da produção de AdBlue® - IT88, 2022.
- (20) *AdBlue®*. <https://www.vda.de/en/topics/innovations/emission-reduction/adblue> (accessed 2023-07-02).
- (21) Terzis, A.; Kirsch, M.; Vaikuntanathan, V.; Geppert, A.; Lamanna, G.; Weigand, B. Splashing Characteristics of Diesel Exhaust Fluid (AdBlue) Droplets Impacting on Urea-Water Solution Films. *Exp. Therm. Fluid Sci.* **2019**, *102*, 152–162. <https://doi.org/10.1016/j.expthermflusci.2018.11.002>.

- (22) Praveena, V.; Martin, M. L. J. A Review on Various after Treatment Techniques to Reduce NO_x Emissions in a CI Engine. *J. Energy Inst.* **2018**, *91* (5), 704–720. <https://doi.org/10.1016/j.joei.2017.05.010>.
- (23) Guan, B.; Zhan, R.; Lin, H.; Huang, Z. Review of State of the Art Technologies of Selective Catalytic Reduction of NO_x from Diesel Engine Exhaust. *Appl. Therm. Eng.* **2014**, *66* (1), 395–414. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2014.02.021>.
- (24) *A Beginner Guide to AdBlue® Diesel Exhaust Fluid*. <https://www.ao-cheng.com/news/a-beginner-guide-to-adblue-r-diesel-exhaust-fluid> (accessed 2023-03-21).
- (25) Stein, M.; Bykov, V.; Kuntz, C.; Börnhorst, M.; Deutschmann, O.; Maas, U. Modeling the Decomposition of Urea-Water-Solution in Films and Droplets under SCR Conditions with Chemistry in the Liquid Phase. *Int. J. Heat Fluid Flow* **2022**, *94*, 108936. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatfluidflow.2022.108936>.
- (26) Gan, X.; Yao, D.; Wu, F.; Dai, J.; Wei, L.; Li, X. Modeling and Simulation of Urea-Water-Solution Droplet Evaporation and Thermolysis Processes for SCR Systems. *Chin. J. Chem. Eng.* **2016**, *24* (8), 1065–1073. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2016.04.026>.
- (27) Krum, K.; Allingham, J.; Poulsen, S.; Christensen, H.; Hashemi, H.; Li, S.; Glarborg, P.; Wu, H. Modeling the Decomposition and Byproduct Formation of a Urea-Water-Solution Droplet. *Chem. Eng. Sci.* **2021**, *237*, 116587. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2021.116587>.
- (28) Chen, Y.; Huang, H.; Li, Z.; Wang, H.; Hao, B.; Chen, Y.; Huang, G.; Guo, X. Study of Reducing Deposits Formation in the Urea-SCR System: Mechanism of Urea Decomposition and Assessment of Influential Parameters. *Chem. Eng. Res. Des.* **2020**, *164*, 311–323. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2020.10.010>.
- (29) *O AdBlue*. TEXOLEO.com Blog. <https://blog.texoleo.eu/o-adblue/> (accessed 2023-07-02).
- (30) RNM, G. Recolha de amostras de AdBlue® - IT75, 2022.
- (31) Mohan, S.; Kato, E.; Drennen, J. K.; Anderson, C. A. Refractive Index Measurement of Pharmaceutical Solids: A Review of Measurement Methods and Pharmaceutical Applications. *J. Pharm. Sci.* **2019**, *108* (11), 3478–3495. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.06.029>.
- (32) Bassey, C. E.; Siguenza, C. A. Detection Of Drinks Contamination Using Optical Refractometry Technique (ORT). *Biophys. J.* **2009**, *96* (3, Supplement 1), 633a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2008.12.3349>.
- (33) ISO 5661:1983, Petroleum Products—Hydrocarbon Liquids—Determination of Refractive Index.
- (34) Phansi, P.; Ferreira, S. L. C.; Cerdà, V. Accurate Calculation of Equilibrium Constants Using Potentiometric Titrations. *TRAC Trends Anal. Chem.* **2022**, *155*, 116676. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116676>.
- (35) Harris, D. C. *Quantitative Chemical Analysis*, Sétima.; W. H. Freeman and Company, 2007.
- (36) Hulanicki, A.; Maj-Żurawska, M.; Glab, S. TITRIMETRY | Potentiometry☆. In *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*; Worsfold, P., Poole, C., Townshend, A., Miró, M., Eds.; Academic Press: Oxford, 2013; pp 121–128. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.00546-1>.
- (37) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater; 2017; p 1504.
- (38) Sane, R. T. GRAVIMETRY. In *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)*; Worsfold, P., Townshend, A., Poole, C., Eds.; Elsevier: Oxford, 2005; pp 215–221. <https://doi.org/10.1016/B0-12-369397-7/00247-8>.
- (39) Chang, R.; Goldsby, K. A. *Chemistry*, 11^ª.; The McGraw-Hill Education.
- (40) 4500-p Phosphorus. In *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*; Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater; American Public Health Association, 2018. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.093>.

- (41) Doku, G. N.; Agbozo, W. K.; Haswell, S. J.; Mccree, T. Phosphomolybdenum Blue Detection – A Review of Characteristics, Achievements, Challenges and Future Prospects. **2020**. <https://doi.org/10.4314/gjs.v61i1.4>.
- (42) Marczenko, Z.; Balcerzak, M. Chapter 2 - Principles of Spectrophotometry. In *Analytical Spectroscopy Library*, Marczenko, Z., Balcerzak, M., Eds.; Separation, Preconcentration and Spectrophotometry in Inorganic Analysis; Elsevier, 2000; Vol. 10, pp 26–38. [https://doi.org/10.1016/S0926-4345\(00\)80066-8](https://doi.org/10.1016/S0926-4345(00)80066-8).
- (43) Eyring, M. B.; Martin, P. Spectroscopy in Forensic Science☆. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*, Elsevier, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.05455-X>.
- (44) Germer, T. A.; Zwinkels, J. C.; Tsai, B. K. Chapter 1 - Introduction. In *Experimental Methods in the Physical Sciences*, Germer, T. A., Zwinkels, J. C., Tsai, B. K., Eds.; Spectrophotometry; Academic Press, 2014; Vol. 46, pp 1–9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386022-4.00001-7>.
- (45) UV-Visible Spectrophotometer Systems. In *Analytical Techniques in the Sciences*; Graham Currell, 2000.
- (46) L.C. Passos, M.; M.F.S. Saraiva, M. L. Detection in UV-Visible Spectrophotometry: Detectors, Detection Systems, and Detection Strategies. *Measurement* **2019**, *135*, 896–904. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2018.12.045>.
- (47) Costa, S. Apontamentos da Unidade Curricular Análise Estrutural do Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química, Universidade do Minho, 2021.
- (48) *UV-Vis Spectroscopy: Principle, Strengths and Limitations and Applications*. Analysis & Separations from Technology Networks. <http://www.technologynetworks.com/analysis/articles/uv-vis-spectroscopy-principle-strengths-and-limitations-and-applications-349865> (accessed 2023-07-19).
- (49) Sánchez Rojas, F.; Bosch Ojeda, C. Recent Development in Derivative Ultraviolet/Visible Absorption Spectrophotometry: 2004–2008: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *635* (1), 22–44. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.12.039>.
- (50) Parmar, A.; Sharma, S. Derivative UV-Vis Absorption Spectra as an Invigorated Spectrophotometric Method for Spectral Resolution and Quantitative Analysis: Theoretical Aspects and Analytical Applications: A Review. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2016**, *77*, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.12.004>.
- (51) Forano, C.; Farhat, H.; Mousty, C. Recent Trends in Electrochemical Detection of Phosphate in Actual Waters. *Curr. Opin. Electrochem.* **2018**, *11*, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2018.07.008>.
- (52) Warwick, C.; Guerreiro, A.; Soares, A. Sensing and Analysis of Soluble Phosphates in Environmental Samples: A Review. *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *41*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.07.012>.
- (53) Berchmans, S.; Issa, T. B.; Singh, P. Determination of Inorganic Phosphate by Electroanalytical Methods: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *729*, 7–20. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.03.060>.
- (54) Geraldo, D.; Bettencourt, A. P. Apontamentos da Unidade Curricular Controlo de Qualidade e Validação de Métodos Analíticos do Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química, Universidade do Minho, 2022.
- (55) V. Barwick (Ed). Eurachem/CITAC Guide: Guide to Quality in Analytical Chemistry: An Aid to Accreditation, 2016.
- (56) Magnusson, B.; Örnemark, U. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2014.

- (57) RELACRE. Guia RELACRE 13 - Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química, 2000.
- (58) NP EN ISO/IEC 17025, General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories, 2021.
- (59) Abreu, R. Validação estatística de métodos analíticos em Química Alimentar, Universidade do Minho, 2020.
- (60) IPAC. Guia para a aplicação da NP EN ISO/IEC 17025, 2018.
- (61) ISO 8466-1:2021, Water Quality – Calibration and Evaluation of Analytical Methods – Part 1: Linear Calibration Function.
- (62) ISO 8466-2:1993, Water Quality – Calibration and Evaluation of Analytical Methods and Estimation of Performance Characteristics – Part 2: Calibration Strategy for Non-Linear Second Order Calibration Functions.
- (63) V. Barwick (ed.). Planning and Reporting Method Validation Studies – Supplement to Eurachem Guide on the Fitness for Purpose of Analytical Methods, 2019.
- (64) Rina, R.; Baile, M.; Jain, A. A Review: Analytical Method Development and Validation. **2021**, *12* (8).
- (65) Barwick, V.; Prichard, E. Eurachem Guide: Terminology in Analytical Measurement - Introduction to VIM 3, 2011.
- (66) C Miller, J.; N Miller, J. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Sexta.; 2010.
- (67) H. Zar, J. *Biostatistical Analysis*, Quinta.
- (68) Machado, R. Implementação e validação de catiões por cromatografia iónica, Universidade do Minho, 2021.
- (69) ISO/IEC 17043:2010, Conformity Assessment – General Requirements for Proficiency Testing, 2010.
- (70) RELACRE. Guia RELACRE 3 - Validação de Resultados em Laboratórios Químicos, 1996.
- (71) RELACRE. Guia RELACRE 7 - Ensaio Interlaboratoriais em Química, 1996.
- (72) Brookman, B.; Mann, I. Eurachem Guide: Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes, 2021.
- (73) Ravisankar, P.; Sankar, R. A Review on Step-by-Step Analytical Method Validation. **2015**, 7–19.
- (74) European co-operation for accreditation. EA-4/16: guidelines on the expression of uncertainty in quantitative testing, 2004.
- (75) Ellison, S. L. R.; Williams, A. EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement.
- (76) RELACRE. Guia RELACRE 31 - Quantificação da Incerteza de Medição em Ensaio Químicos e Físico-Químicos, 2018.
- (77) ISO 11352:2012, Water Quality – Estimation of Measurement Uncertainty Based on Validation and Quality Control Data.
- (78) Committee, A. M.; No. 69, A. Using the Grubbs and Cochran Tests to Identify Outliers. *Anal. Methods* **2015**, *7*(19), 7948–7950. <https://doi.org/10.1039/C5AY90053K>.
- (79) RNM, G. Calibração/verificação do refratómetro.
- (80) RNM, G. Calibração/verificação do medidor de pH - IT06, 2016.
- (81) Scientific, T. F. Ficha de dados de segurança do reagente ácido clorídrico 1 mol/l, 2020.
- (82) VWR®. Ficha de dados de segurança do reagente amoníaco 28 % GPR RECTAPUR®, 2023.
- (83) *Saúde e segurança: Frases H/P - SAMANCTA*. https://ec.europa.eu/taxation_customs/dds2/SAMANCTA/PT/Safety/HP_PT.htm (accessed 2022-12-28).
- (84) Supelco®. Ficha de dados de segurança do reagente celulose microcristalina para cromatografia em camada fina.

- (85) Roth, C. Ficha de dados de segurança do reagente ácido clorídrico 25 %, extra puro, 2021.
- (86) Roth, C. Ficha de dados de segurança do reagente ácido sulfúrico 96 %, 2021.
- (87) Sigma-Aldrich. Ficha de dados de segurança do reagente ácido L-ascórbico, 2023.
- (88) Supelco®. Ficha de dados de segurança do reagente carbonato de cálcio 99,95 % Supraour®, 2023.
- (89) Supelco®. Ficha de dados de segurança do reagente dihidrogenofosfato de potássio, 2023.
- (90) Supelco®. Ficha de dados de segurança do reagente heptamolibdato de amónio tetrahidratado, 2022.
- (91) Scientific, T. F. Ficha de dados de segurança do reagente tartarato de antimónio de potássio sesquihidratado, 2020.
- (92) Supelco®. Ficha de dados de segurança do reagente tartarato de sódio e potássio tetrahidratado, 2021.
- (93) VWR®. Ficha de dados de segurança do reagente sulfato de cobre(II) pentahidratado, 2023.
- (94) Supelco®. Ficha de dados de segurança do reagente hidróxido de sódio, 2023.
- (95) Scientific, T. F. Ficha de dados de segurança do reagente biureto, 2020.

6. Anexos

6.1. Verificação do método da determinação da concentração de ureia pelo índice de refração

6.1.1. Instruções de calibração/verificação do refratómetro⁷⁹

Diariamente:

1. Ligar o equipamento no ON/OFF e esperar que o mesmo estabilize para uma temperatura de 20 °C;
2. Após surgir a mensagem “calibração automática (ajuste o zero)”, pressionar a tecla “Aceitar”, introduzir o pin e, em seguida, pressionar a tecla “Enter”;
3. Após indicação, limpar o prisma com água desmineralizada e pressionar a tecla “Enter”;
4. Irá surgir no ecrã “Punto objetivo: 1,33299”, manter o valor, adicionar água desmineralizada ao prisma e pressionar a tecla “Enter”;
5. Após aparecer a mensagem “Calibração terminada”, pressionar a tecla “Enter”;

Semanalmente:

1. A verificação do refratómetro é realizada usando água desmineralizada e usar pelo menos um MRC com $\geq 1,3827$ nD20;
2. Confirmar a aceitabilidade do valor obtido. Se o índice de refração de qualquer MRC desviar mais de 0,00005 nD20 do valor mencionado no certificado, deve-se proceder à recalibração do refratómetro.

Mensalmente:

1. O refratómetro é verificado utilizando no mínimo 3 MRC que vão além da gama de medição de 1,3814 a 1,3843 nD20 e água desmineralizada;
2. Confirmar a aceitabilidade do valor obtido. Se o índice de refração de qualquer MRC desviar mais de 0,00005 nD20 do valor mencionado no certificado, deve-se proceder à recalibração do refratómetro.

6.2. Verificação do método da determinação da alcalinidade

6.2.1. Instruções de calibração/verificação do potenciómetro⁸⁰

1. Pressionar a tecla “CAL” e mergulhar o eléctrodo de pH e a sonda de temperatura na solução padrão solicitada pelo potenciómetro, agitar e deixar estabilizar;
2. Surgirá no ecrã do potenciómetro o sinal “CFM”;

3. Pressionar a tecla “CFM” para confirmar calibração;
4. O segundo padrão será solicitado pelo medidor de pH. Repetir igualmente o procedimento até agora descrito;
5. Quando a leitura estiver estável, a mensagem “READY” aparecerá e, em seguida, “CFM”;
6. Pressionar a tecla “CFM” para confirmar a calibração;
7. Verificar a calibração, mergulhando o eléctrodo de pH e a sonda de temperatura num padrão de um fornecedor diferente em relação ao utilizado na calibração. Se a leitura do pH corresponder ao pH do padrão, o aparelho está operacional.

Nota: Medições numa gama ácida exigem como primeiro padrão o de pH = 7,01, seguindo-se o padrão de pH = 4,01. Já para medições na zona alcalina o primeiro padrão usado é o de pH = 7,01 e, em seguida, o padrão de pH = 10,01.

6.2.2. Frases de perigo e prudência

Tabela 67. Legenda das siglas das frases de perigo (H) e prudência (P). Adaptada de: https://ec.europa.eu/taxation_customs/dds2/SAMANCTA/PT/Safety/HP_PT.htm⁸³ e da ficha de dados de segurança dos reagentes ácido clorídrico 1 mol/l⁸⁴ e amónia⁸⁵.

Ácido clorídrico 1 mol/l	
Sigla	Legenda
H290	Pode ser corrosivo para metais.
P234	Manter o produto no recipiente original.
P390	Absorver o reagente derramado de forma a não provocar danos.
Amónia	
Sigla	Legenda
H314	Provoca queimaduras na pele e danos oculares graves.
H335	Provoca irritação nas vias respiratórias.
H400	Perigoso para o meio aquático.
P273	Evitar libertação para o meio ambiente.
P280	Utilizar proteção adequada: luvas, proteção ocular e facial, vestuário.
P301+P330+P331	Em caso de ingestão, enxaguar a boca e não provocar o vómito.
P304+P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P308+P310	Em caso de exposição, contactar o médico/centro de antivenenos.

6.2.3. Cálculo da concentração efetiva da solução de ácido clorídrico 0,010 mol/l

A concentração efetiva da solução de ácido clorídrico ($C_{sol. HCl 0,010}$) foi calculada pela **Equação 77**, tendo em conta a concentração inicial de 1 mol/l, o volume pipetado de 0,005 l e o volume final de 0,5 l.

$$C_{sol. HCl 0,010} = \frac{1 \times 0,05}{0,5} = 0,010 \text{ mol/l} \quad \text{Equação 77}$$

6.2.4. Cálculo da concentração efetiva da solução de amónia e respetiva incerteza associada

A concentração efetiva da solução de amónia ($C_{sol. amónia}$) foi calculada pela **Equação 78**, tendo em conta a concentração inicial de 28,18 % (m/m), o volume pipetado de 0,5 ml e o volume final de 50 ml.

$$C_{sol. amónia} = \frac{28,18 \times 0,5}{50} = 0,2818 \% \text{ (m/m)} \quad \text{Equação 78}$$

A incerteza associada à solução de amónia 0,2818 % (m/m) foi determinada com base na abordagem passo a passo ilustrada na **Figura 9**. O diagrama em espinha de peixe da **Figura 24** indica as fontes de incerteza para este caso particular.

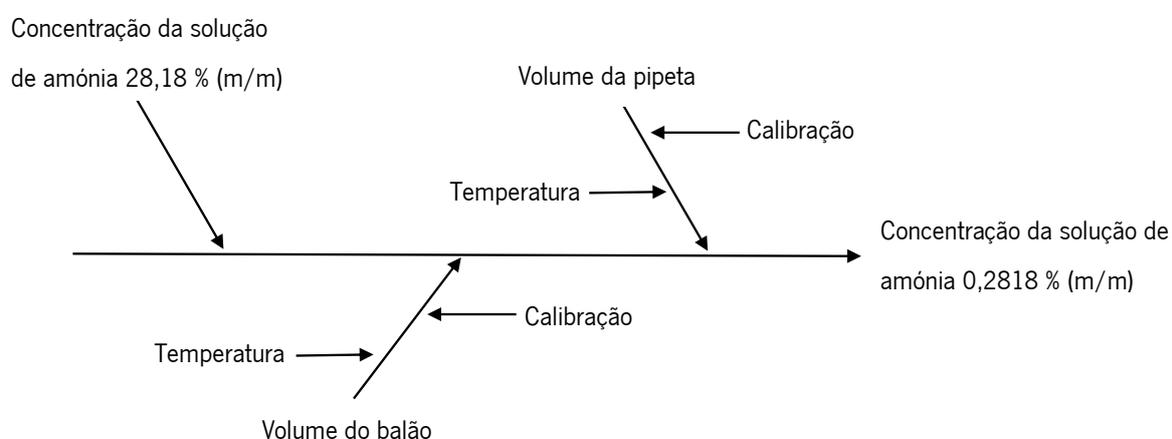


Figura 24. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução de amónia 0,2818 % (m/m). Apresentação das fontes de incerteza tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução de amónia 0,2818 % (m/m).

A incerteza padrão ($u(x)$) da componente da concentração da solução de amónia 28,18 % (m/m) foi calculada a partir da **Equação 49**, tendo sido obtido o valor de 0,058 % (m/m). Por sua vez, a incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) foi de 0,0020. Quanto à incerteza associada ao volume da pipeta teve-se em consideração fatores como a calibração e a temperatura, obtendo-se uma incerteza padrão do volume da pipeta de 0,0029 ml (**Equação 53**) e uma incerteza padrão relativa associada ao volume da pipeta de 0,0057. Para o volume do balão procedeu-se da mesma forma, tendo se obtido uma $u(x)$ de 0,031 ml (**Equação 53**). Por conseguinte, a $u(x)/x$ obtida para o volume do balão foi de 0,00061. Posto isto, a incerteza combinada da concentração da solução de amónia 0,2818 % (m/m) foi de 0,0017 % (m/m) (**Equação 54**) e a incerteza expandida foi de 0,0034 % (m/m) considerando um fator de expansão igual a dois (**Equação 55**). Na **Tabela 68** constam os resultados da incerteza padrão e da incerteza padrão relativa para as diferentes fontes de incerteza, assim como a incerteza expandida associada à concentração da solução de amónia 0,2818 % (m/m).

Tabela 68. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução de amónia 0,2818 % (m/m). Valores da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e expandida (U) para a concentração da solução de amónia 0,2818 % (m/m).

Concentração da solução de amónia – 28,18 % (m/m)			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
concentração da solução	0,10 % (m/m)	0,058 % (m/m)	0,0020
Volume da pipeta – 0,5 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,0070 ml	0,0029 ml	
temperatura	0,00032 ml	0,00018 ml	
volume da pipeta		0,0029 ml	0,0057
Volume do balão - 50 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,060 ml	0,024 ml	
temperatura	0,032 ml	0,018 ml	
volume do balão		0,031 ml	0,00061
Concentração da solução de amónia – 0,2818 % (m/m)			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	0,0017 % (m/m)	2	0,0034 % (m/m)

6.3. Verificação do método da determinação da matéria insolúvel pelo método gravimétrico

6.3.1. Frases de perigo e prudência

Tabela 69. Legenda das siglas das frases de perigo (H) e prudência (P). Adaptada de: https://ec.europa.eu/taxation_customs/dds2/SAMANCTA/PT/Safety/HP_PT.htm⁸³ e da ficha de dados de segurança do reagente celulose microcristalina para cromatografia em camada fina⁸⁴.

Celulose microcristalina	
Sigla	Legenda
P280	Utilizar proteção ocular/ luvas/ vestuário.
P304+P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P301 + P330 + P331	Em caso de ingestão, enxaguar a boca com água.
P303 + P361 + P353	Em caso de contacto com a pele, retirar a roupa contaminada e enxaguar a pele com água.
P305+P351+P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.

6.3.2. Cálculo da concentração efetiva e da incerteza associada à solução mãe de celulose microcristalina

A concentração efetiva da solução mãe de celulose microcristalina ($C_{sol.m\tilde{a}e\ cellulose\ microcristalina}$) foi obtida a partir da **Equação 79**, atendendo à massa pesada de 5001,0 mg e ao volume final de 1 l.

$$C_{sol.m\tilde{a}e\ cellulose\ microcristalina} = \frac{5001,0}{1} = 5001,0\ mg/l \quad \text{Equação 79}$$

A incerteza associada à solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l foi determinada tendo em conta todas as etapas da abordagem passo a passo, ilustradas na **Figura 9**. Primeiramente, estabeleceu-se um diagrama em espinha de peixe (**Figura 25**) com o intuito de identificar as fontes de incerteza.

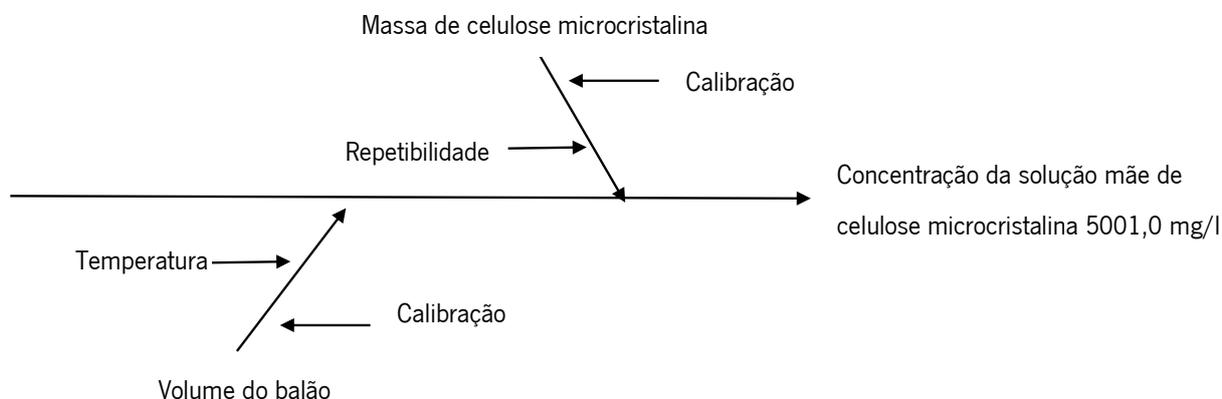


Figura 25. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l.

A seguir, procedeu-se à quantificação das componentes da incerteza. Para a massa de celulose microcristalina, determinou-se a incerteza padrão ($u(x)$) (**Equação 52**), tendo em conta as principais fontes de incerteza para a pesagem: calibração e repetibilidade. Por isso, obteve-se uma $u(x)$ igual a 0,38 mg. Além disso, determinou-se a incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) de 0,000075. Para o cálculo da $u(x)$ associada ao volume do balão teve-se em consideração fatores como a calibração e a temperatura. A partir da **Equação 53** determinou-se a $u(x)$ associada ao volume do balão de 0,00040 l. Posteriormente, calculou-se a $u(x)/x$ do volume do balão de 0,00039. Consequentemente, determinou-se a incerteza combinada de 2,0 mg/l (**Equação 54**). Por fim, a incerteza expandida (U) da solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l, de 4,1 mg/l, foi obtida segundo a **Equação 55** e tendo em conta um fator de expansão (k) igual a 2. A **Tabela 70** apresenta os resultados da incerteza combinada e expandida da solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l, assim como os resultados intermédios das fontes de incerteza.

Tabela 70. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e expandida (U), considerando um fator de expansão igual a 2, para a concentração da solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l.

Massa de celulose microcristalina – 5001,0 mg			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,15 mg		
repetibilidade	0,22 mg		
massa pesada de celulose microcristalina		0,38 mg	0,000075
Volume do balão – 1 l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,0004 l	0,00016 l	
temperatura	0,00063 l	0,00036 l	
volume do balão		0,00040 l	0,00039
Concentração da solução mãe de celulose microcristalina - 5001,0 mg/l			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	2,0 mg/l	2	4,1 mg/l

6.3.3. Cálculo da concentração efetiva e da incerteza associada à solução intermédia de celulose microcristalina

A concentração efetiva da solução intermédia de celulose microcristalina ($C_{sol.intermédia\ c.m.}$) foi obtida a partir da **Equação 80**, tendo em conta a concentração efetiva da solução mãe de celulose microcristalina de 5001,0 mg/l, o volume inicial de 0,1 l e o volume final de 1 l.

$$C_{sol.intermédia\ c.m.} = \frac{5001,0 \times 0,1}{1} = 500,1\ mg/l \quad \text{Equação 80}$$

A determinação da incerteza associada à solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 mg/l baseou-se na abordagem passo a passo (**Figura 9**). Por este motivo, a **Figura 26** apresenta, sob a forma de diagrama de peixe, as fontes de incerteza.

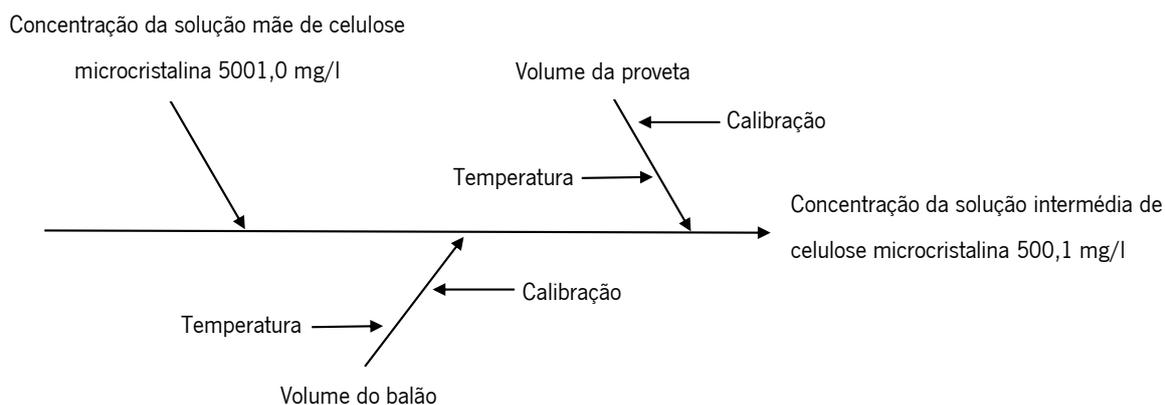


Figura 26. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 mg/l. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 mg/l.

A incerteza padrão ($u(x)$) associada à concentração da solução mãe de celulose microcristalina 5001,0 mg/l, de 2,3 mg/l, foi calculada a partir da **Equação 49** e considerando o valor da incerteza expandida determinada no **Anexo 6.3.2**. Por sua vez, a incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) foi de 0,00047. Na componente da incerteza do volume da proveta obteve-se uma $u(x)$ de 0,00041 l (**Equação 53**) e uma $u(x)/x$ de 0,0041. Para a componente associada ao volume do balão procedeu-se da mesma forma que para o volume da proveta, tendo se obtido uma $u(x)$ de 0,00040 l (**Equação 53**) e uma $u(x)/x$ de 0,00040. Deste modo, a incerteza combinada da concentração da solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 mg/l foi de 2,1 mg/l (**Equação 54**) e a incerteza expandida foi de 4,1 mg/l para um fator de expansão igual a 2 (**Equação 55**). A **Tabela 71** apresenta os resultados da incerteza padrão e da incerteza padrão relativa para as diferentes fontes de incerteza, assim como a incerteza expandida associada à concentração da solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 mg/l.

Tabela 71. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 mg/l. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e expandida (U), considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para a concentração da solução intermédia de celulose microcristalina 500,1 mg/l.

Concentração da solução mãe de celulose microcristalina - 5001,0 mg/l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
concentração da solução	4,1 mg/l	2,3 mg/l	0,00047
Volume da proveta – 0,01 l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,001 l	0,00041 l	
temperatura	0,000063 l	0,000036 l	
volume da proveta		0,00041 l	0,0041
Volume do balão – 1 l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,0004 l	0,00016 l	
temperatura	0,00063 l	0,00036 l	
volume do balão		0,00040 l	0,00040
Concentração da solução intermédia de celulose microcristalina – 500,1 mg/l			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	2,1 mg/l	2	4,1 mg/l

6.3.4. Cálculo da concentração efetiva e da incerteza associada à solução padrão de celulose microcristalina

A concentração efetiva da solução padrão de celulose microcristalina ($C_{sol.padrão\ c.m.}$) foi obtida a partir da **Equação 81**, tendo em conta a concentração da solução intermédia de celulose microcristalina de 500,1 mg/l, o volume inicial de 0,01 l e o volume final de 0,250 l.

$$C_{sol.padrão\ c.m.} = \frac{500,1 \times 0,01}{0,250} = 20,00\ mg/l \quad \text{Equação 81}$$

O cálculo da incerteza associada à solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l apoiou-se na abordagem passo a passo, ilustrada na **Figura 9**. Por este motivo, a **Figura 27** identifica as fontes de incerteza da solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l.

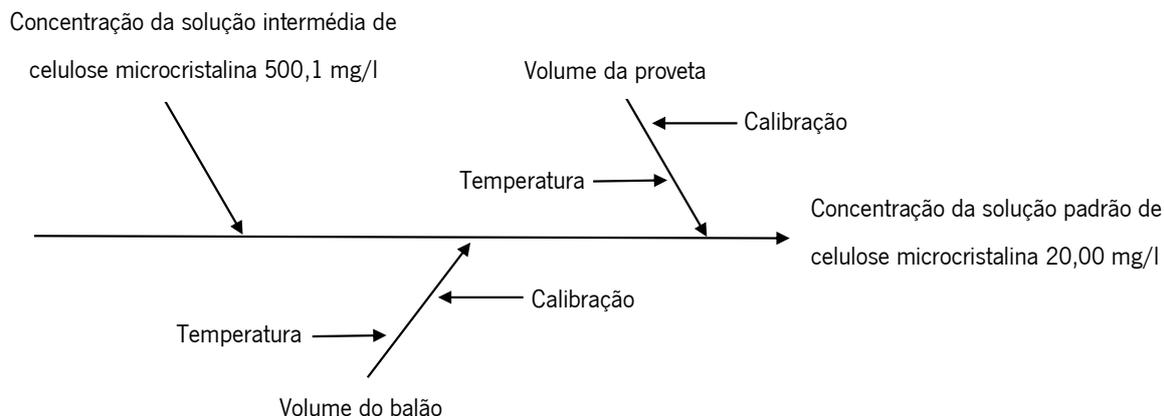


Figura 27. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l.

Para a incerteza padrão ($u(x)$) da concentração da solução intermédia de celulose microcristalina 20,00 mg/l considerou-se o valor da incerteza expandida determinada no **Anexo 6.3.3.**, tendo se obtido uma $u(x)$ de 2,4 mg/l, pela **Equação 49**. A partir desta foi possível determinar a incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) de 0,0048. Em seguida, calculou-se a $u(x)$ associada ao volume da proveta de 0,00010 l (**Equação 53**) e a incerteza padrão relativa de 0,010. Para a incerteza associada ao volume do balão procedeu-se da mesma maneira, tendo se obtido uma $u(x)$ de 0,00011 l (**Equação 53**). Consequentemente, a $u(x)/x$ obtida para o volume do balão foi de 0,00044. Desta forma, a incerteza combinada da concentração da solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l foi de 0,23 mg/l (**Equação 54**) e a incerteza expandida foi de 0,45 mg/l para um fator de expansão igual a 2 (**Equação 55**). Na **Tabela 72** constam os resultados da incerteza padrão e da incerteza padrão relativa para as diferentes fontes de incerteza, assim como a incerteza combinada e expandida associada à concentração da solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l.

Tabela 72. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e da incerteza expandida (U), considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para a concentração da solução padrão de celulose microcristalina 20,00 mg/l.

Concentração da solução intermédia de celulose microcristalina – 500,1 mg/l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
concentração da solução	4,1 mg/l	2,4 mg/l	0,0048
Volume da proveta – 0,01 l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,00025 l	0,00010 l	
temperatura	0,0000063 l	0,0000036 l	
volume da proveta		0,00010 l	0,010
Volume do balão – 0,250 l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,00015 l	0,000061 l	
temperatura	0,00016 l	0,000091 l	
volume do balão		0,00011 l	0,00044
Concentração da solução padrão de celulose microcristalina – 20,00 mg/l			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	0,23 mg/l	2	0,45 mg/l

6.4. Verificação do método da determinação do teor de fosfato

6.4.1. Frases de perigo e prudência

Tabela 73. Legenda das siglas das frases de perigo (H) e prudência (P) para o método da determinação do teor de fosfato. Adaptada de: https://ec.europa.eu/taxation_customs/dds2/SAMANCTA/PT/Safety/HP_PT.htm⁸³ e da ficha de dados de segurança dos reagentes ácido ascórbico⁸⁷, ácido clorídrico 25 %⁸⁸, ácido sulfúrico⁸⁸, carbonato de cálcio⁸⁸, dihidrogenofosfato de potássio⁸⁹, heptamolibdato de amónio tetrahidratado⁹⁰ e tartarato de antimónio de potássio sesquihidratado⁹¹.

Ácido ascórbico	
Sigla	Legenda
P280	Utilizar proteção ocular adequada.
P304+P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P301 + P330 + P331	Em caso de ingestão, enxaguar a boca com água.
P303 + P361 + P353	Em caso de contacto com a pele, retirar a roupa contaminada e enxaguar a pele com água.
P305+P351+P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.
Ácido clorídrico 25 %	
Sigla	Legenda
H290	Pode ser corrosivo para metais.
H314	Provoca queimaduras na pele e danos oculares graves.
H335	Provoca irritação nas vias respiratórias.
P280	Utilizar proteção adequada: luvas, proteção ocular e facial, vestuário.
P310	Contactar imediatamente um centro de informação de antivenenos ou médico.
P304+P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P303 + P361 + P353	Em caso de contacto com a pele, retirar a roupa contaminada e enxaguar a pele com água.
P305+P351+P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.

Ácido sulfúrico

Sigla	Legenda
H290	Pode ser corrosivo para metais.
H314	Provoca queimaduras na pele e danos oculares graves.
P280	Utilizar proteção adequada: luvas, proteção ocular e facial, vestuário.
P310	Contactar imediatamente um centro de informação de antivenenos ou médico.
P301+P330+P331	Em caso de ingestão, enxaguar a boca e não provocar o vômito.
P303 + P361 + P353	Em caso de contacto com a pele, retirar a roupa contaminada e enxaguar a pele com água.
P305+P351+P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.

Carbonato de cálcio

Sigla	Legenda
P304+P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P301+P330+P331	Em caso de ingestão, enxaguar a boca e não provocar o vômito.
P303 + P361 + P353	Em caso de contacto com a pele, retirar a roupa contaminada e enxaguar a pele com água.
P305+P351+P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.

Dihidrogenofosfato de potássio

Sigla	Legenda
P280	Utilizar proteção adequada: luvas, proteção ocular e facial, vestuário.
P304+P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P301+P330+P331	Em caso de ingestão, enxaguar a boca e não provocar o vômito.
P303 + P361 + P353	Em caso de contacto com a pele, retirar a roupa contaminada e enxaguar a pele com água.

P305+P351+P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.
----------------	---

Heptamolibdato de amónio tetrahidratado

Sigla	Legenda
P280	Utilizar proteção adequada: luvas, proteção ocular e facial, vestuário.
P304+P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P301+P330+P331	Em caso de ingestão, enxaguar a boca e não provocar o vómito.
P303 + P361 + P353	Em caso de contacto com a pele, retirar a roupa contaminada e enxaguar a pele com água.
P305+P351+P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.

Tartarato de antimónio de potássio sesquihidratado

Sigla	Legenda
H411	Tóxico para o ambiente aquático por longos períodos de tempo.
H302 + H332	Prejudicial por ingestão e inalação.
P261	Evitar respirar fumos, névoas, gases, poeiras, aerossóis, vapores.
P264	Após utilização, lavar cuidadosamente.
P273	Evitar libertação para o meio ambiente.
P312	Em caso de indisposição, contactar o médico ou centro de informação de antivenenos.
P304 + P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P301 + P330 + P331	Em caso de ingestão, enxaguar a boca e não provocar o vómito.

6.4.2. Cálculo da concentração efetiva da solução mãe de fosfato e respectiva incerteza associada

A massa efetiva de PO_4^{-3} ($m_{\text{PO}_4^{-3}}$) foi calculada através da **Equação 82**, tendo em conta a massa pesada de KH_2PO_4 de 0,2904 g, a massa molar de KH_2PO_4 de 136,09 g/mol e a massa molar de PO_4^{-3} de 94,97 g/mol.

$$m_{\text{PO}_4^{-3}} = \frac{0,2904 \times 94,97}{136,09} = 0,20265 \text{ g} \quad \text{Equação 82}$$

Por sua vez, a concentração efetiva da solução mãe de fosfato ($C_{\text{sol. mãe PO}_4^{-3}}$) foi determinada pela **Equação 83**, considerando a massa efetiva de PO_4^{-3} de 202,65 mg, calculada anteriormente, a pureza de KH_2PO_4 de 99,9 % e o volume final de 1 l.

$$C_{\text{sol. mãe PO}_4^{-3}} = \frac{202,65 \times 0,999}{1} = 202,45 \text{ mg/l} \quad \text{Equação 83}$$

A determinação da incerteza associada à solução mãe de fosfato baseou-se na abordagem passo a passo (**Figura 9**). Por isso, as fontes de incerteza da solução mãe de fosfato encontram-se identificadas na **Figura 28**.

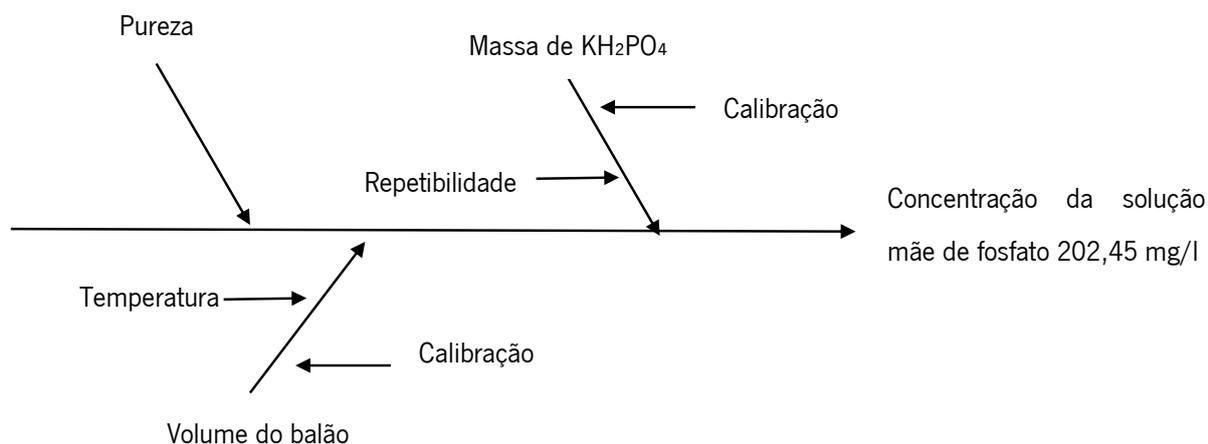


Figura 28. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução mãe de fosfato 202,45 mg/l. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução mãe de fosfato 202,45 mg/l.

Em seguida, quantificaram-se as componentes de incerteza ilustradas na **Figura 28**. Para a pureza de 99,9 % obteve-se uma $u(x)$ de 0,058 % (**Equação 49**) e uma incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) de 0,00058. Para a massa pesada de KH_2PO_4 obteve-se uma $u(x)$ de 0,00038 g (**Equação 52**) e uma

$u(x)/x$ de 0,0013. Para o volume do balão volumétrico de 1000 ml obteve-se uma $u(x)$ de 0,40 ml (**Equação 53**) e uma $u(x)/x$ de 0,00040. Posteriormente, calculou-se a incerteza combinada da solução mãe de fosfato (u_c) de 0,30 mg/l pela **Equação 54**. Por fim, através da **Equação 55**, determinou-se a incerteza expandida da solução mãe de fosfato de 0,60 mg/l, tendo em conta um fator de expansão (k) igual a 2. Todos os resultados intermédios, assim como a incerteza combinada e expandida associada à solução mãe de fosfato estão mencionados na **Tabela 74**.

Tabela 74. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução mãe de fosfato 202,45 mg/l. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e da incerteza expandida (U), considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para a concentração da solução mãe de fosfato 202,45 mg/l.

Pureza – 99,9 %			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
pureza	0,1 %	0,058 %	0,00058
Massa de KH_2PO_4 – 0,2904 g			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,00015 g		
repetibilidade	0,00022 g		
massa de KH_2PO_4		0,00038 g	0,0013
Volume do balão – 1000 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,40 ml	0,16 ml	0,00016
temperatura	0,63 ml	0,36 ml	0,00036
volume do balão		0,40 ml	0,00040
Concentração da solução mãe de fosfato – 202,45 mg/l			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	0,30 mg/l	2	0,60 mg/l

6.4.3. Cálculo da concentração efetiva da solução intermédia de fosfato e respetiva incerteza associada

A concentração efetiva da solução intermédia de fosfato ($C_{sol. \text{ intermédia } PO_4^{-3}}$) foi calculada através da **Equação 84**, tendo em consideração a concentração efetiva da solução mãe de fosfato de $202,45 \pm 0,60$ mg/l, calculada em **6.4.2.**, o volume inicial de 0,01l e o volume final de 1l.

$$C_{sol. \text{ intermédia } PO_4^{-3}} = \frac{202,45 \times 0,01}{1} = 2,0245 \text{ mg/l} \quad \text{Equação 84}$$

A quantificação da incerteza associada à solução intermédia de fosfato apoiou-se na abordagem passo a passo (**Figura 9**). Como tal, as fontes de incerteza encontram-se mencionadas na **Figura 29**.

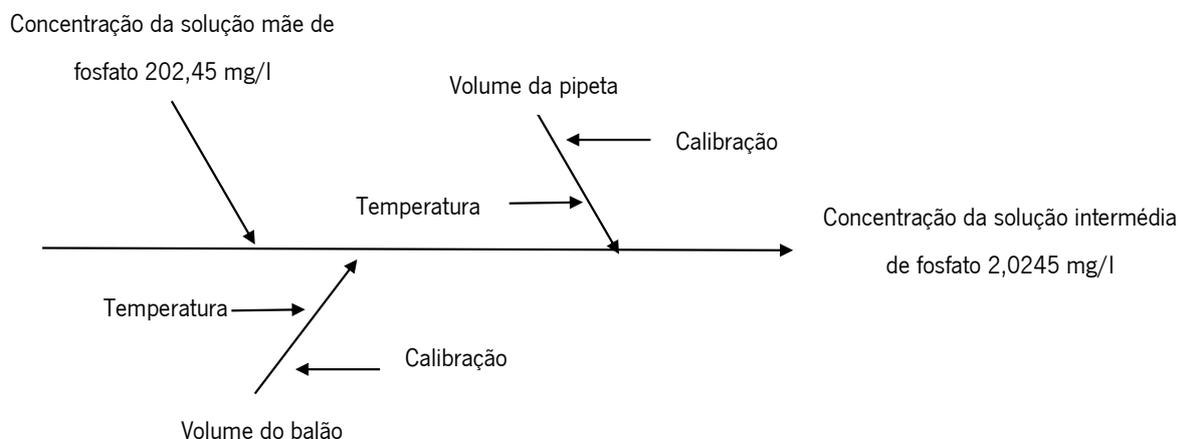


Figura 29. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução intermédia de fosfato 2,0245 mg/l. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução intermédia de fosfato 2,0245 mg/l.

A $u(x)$ associada à concentração da solução mãe de fosfato foi de 0,34 mg/l (**Equação 49**) e a $u(x)/x$ foi de 0,0017. Por conseguinte, a $u(x)$ do volume da pipeta foi de 0,0089 ml (**Equação 53**) e a $u(x)/x$ foi de 0,00089. Para o volume do balão de 1 l obteve-se uma $u(x)$ de 0,40 ml (**Equação 53**) e uma $u(x)/x$ de 0,00040. A incerteza combinada (u_c) da solução intermédia de fosfato foi calculada a partir da **Equação 54**, tendo correspondido a 0,0040 mg/l. Por fim, obteve-se uma incerteza expandida (U) de 0,0080 mg/l (**Equação 55**), tendo em consideração um fator de expansão igual a 2. Todos os resultados das incertezas que contribuíram para a incerteza expandida da solução intermédia de fosfato encontram-se na **Tabela 75**.

Tabela 75. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução intermédia de fosfato 2,0245 mg/l. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e da incerteza expandida (U), considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para a concentração da solução intermédia de fosfato 2,0245 mg/l.

Concentração da solução mãe de fosfato – 202,45 mg/l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
concentração da solução mãe	0,60 mg/l	0,34 mg/l	0,0017
Volume da pipeta – 10 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,020 ml	0,0082 ml	0,00082
temperatura	0,0063 ml	0,0036 ml	0,00036
volume da pipeta		0,0089 ml	0,00089
Volume do balão – 1000 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,40 ml	0,16 ml	0,00016
temperatura	0,63 ml	0,36 ml	0,00036
volume do balão		0,40 ml	0,00040
Concentração da solução intermédia de fosfato – 2,0245 mg/l			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	0,0040 mg/l	2	0,0080 mg/l

6.4.4. Cálculo das concentrações efetivas das soluções padrão de fosfato e respetivas incertezas associadas para a reta de calibração

As concentrações efetivas das soluções padrão de fosfato para a reta de calibração foram calculadas tendo em consideração a concentração efetiva da solução intermédia de fosfato de 2,0245 \pm 0,0080 mg/l, o volume final de 0,050 l e o volume inicial. A **Equação 85** exemplifica o cálculo efetuado para a determinação da concentração da primeira solução padrão de fosfato da reta de

calibração ($C_{\text{PO}_4^{-3}}$ primeira solução padrão reta calibração). Para o cálculo da concentração efetiva das restantes soluções padrão da reta de calibração foi efetuado o mesmo cálculo variando apenas o volume inicial pipetado. A **Tabela 76** apresenta os volumes iniciais pipetados para cada solução padrão da reta de calibração, assim como a concentração efetiva de cada solução padrão da reta de calibração.

$$C_{\text{PO}_4^{-3}} \text{ primeira solução padrão reta calibração} = \frac{2,0245 \times 0,001}{0,050} = 0,04049 \text{ mg/l} \quad \text{Equação 85}$$

Tabela 76. Valores para as soluções padrão de fosfato da reta de calibração. Concentrações efetivas das soluções padrão de fosfato em mg/l, calculadas de acordo com a **Equação 85**, e volumes iniciais pipetados em ml para cada solução padrão de fosfato para a reta de calibração.

Concentração efetiva de fosfato (mg/l)	Volume inicial (ml)
0,04049	1
0,08098	2
0,1417	3,5
0,2025	5
0,3037	7,5
0,4049	10

As incertezas associadas às concentrações das soluções padrão de fosfato da reta de calibração tiveram em conta a abordagem passo a passo (**Figura 9**). Por este motivo, a **Figura 30** ilustra as fontes de incerteza identificadas.

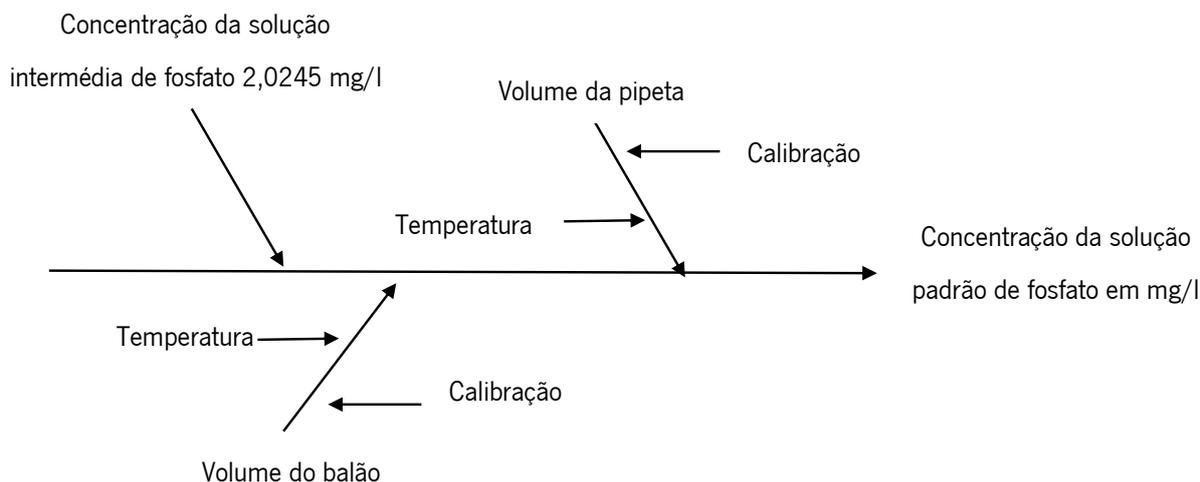


Figura 30. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada a cada solução padrão de fosfato da reta de calibração. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação de cada solução padrão de fosfato da reta de calibração em mg/l.

A $u(x)$ para a concentração da solução intermédia de fosfato foi de 0,0046 mg/l (Equação 49) e a $u(x)/x$ foi de 0,0023. Por sua vez, a $u(x)$ e a $u(x)/x$ associadas ao balão volumétrico de 50 ml corresponderam a 0,031 ml (Equação 53) e a 0,00061, respetivamente. Em contrapartida, a $u(x)$ e a $u(x)/x$ associada ao volume da pipeta foi estimada individualmente para cada solução padrão, visto que foram pipetados diferentes volumes. Assim sendo, a incerteza combinada de cada solução padrão, assim como a incerteza expandida (considerando um $k=2$) diferiram. Por este motivo, as incertezas combinadas e expandidas de cada solução padrão encontram-se na Tabela 77.

Tabela 77. Incertezas associadas à concentração das soluções padrão de fosfato da reta de calibração. Incerteza combinada em mg/l e incerteza expandida em mg/l, considerando um fator de expansão igual a 2, associada à concentração efetiva de cada solução padrão de fosfato em mg/l para a reta de calibração.

Concentração efetiva de fosfato (mg/l)	Incerteza combinada (mg/l)	Incerteza expandida (mg/l)
0,04049	0,00015	0,00030
0,08098	0,00025	0,00051
0,1417	0,00060	0,0012
0,2025	0,00069	0,0014
0,3037	0,0011	0,0022
0,4049	0,0013	0,0025

6.4.5. Conversão de unidades de mg/l em mg/kg das soluções padrão de fosfato da reta de calibração

Com o intuito de expressar a concentração das soluções padrão de fosfato da reta de calibração (**Figura 12**) em mg/kg foi efetuada uma conversão de unidades de mg/l para mg/kg. A **Equação 86** exemplifica o cálculo da conversão de unidades para a primeira solução padrão. Para as restantes soluções padrão procedeu-se da mesma forma. Por isso, os valores das concentrações efetivas das soluções padrão em mg/l, das densidades de cada solução padrão em kg/l e do teor de fosfato de cada solução padrão em mg/kg encontram-se na **Tabela 78**.

$$W_p = \frac{c}{\rho} = \frac{0,04049}{1,0138} = 0,03994 \text{ mg/kg} \quad \text{Equação 86}$$

em que W_p representa o teor de fosfato de cada solução padrão em mg/kg, c a concentração de fosfato de cada solução padrão em mg/l e ρ a densidade de cada solução padrão em kg/l.

Tabela 78. Conversão de unidades das soluções padrão de fosfato da reta de calibração. Concentração efetiva de cada solução padrão em mg/kg, densidade de cada solução padrão em kg/l e teor de fosfato de cada solução padrão em mg/kg.

Concentração efetiva (mg/l)	Densidade (kg/l)	Teor de fosfato (mg/kg)
0,04049	1,0138	0,03994
0,08098	1,0149	0,07979
0,1417	1,0134	0,1398
0,2025	1,0130	0,1999
0,3037	1,0140	0,2995
0,4049	1,0127	0,3998

6.4.6. Cálculo das concentrações efetivas das soluções padrão de fosfato e respetivas incertezas associadas para a verificação da reta de calibração

As soluções padrão de fosfato utilizadas para a verificação da reta de calibração foram preparadas a partir da diluição de uma solução padrão comercial de $10,0 \pm 0,1$ mg/l em PO_4^{-3} . A **Equação 87** exemplifica o cálculo efetuado para a determinação da concentração efetiva da solução padrão de fosfato de 0,0400 mg/l ($C_{\text{PO}_4^{-3} \text{ sol. padrão verificação reta calibração}}$). Para a determinação da concentração efetiva das soluções padrão de fosfato de 0,20 mg/l e de 0,40 mg/l procedeu-se da

mesma forma, atendendo à concentração inicial de 10,0 mg/l, ao volume final de 0,050 l e ao volume inicial que variou consoante a solução padrão. A **Tabela 79** menciona os volumes pipetados para cada solução padrão, assim como a concentração efetiva de cada solução padrão em mg/l. Dado a densidade destas soluções ser igual a 1, expressou-se sempre as concentrações efetivas em unidades de mg/kg.

$$C_{\text{PO}_4^{-3} \text{ sol. padrão verificação reta calibração}} = \frac{10,0 \times 0,0002}{0,050} = 0,0400 \text{ mg/l} \quad \text{Equação 87}$$

Tabela 79. Valores para as soluções padrão de fosfato da verificação da reta de calibração. Concentrações efetivas das soluções padrão de fosfato em mg/l, calculadas de acordo com a **Equação 87**, concentrações efetivas das soluções padrão de fosfato em mg/kg e volumes iniciais pipetados em l para cada solução padrão de fosfato para a verificação da reta de calibração.

Volume inicial (l)	Concentração efetiva de fosfato (mg/l)	Concentração efetiva de fosfato (mg/kg)
0,0002	0,0400	0,0400
0,001	0,2000	0,2000
0,002	0,4000	0,4000

A determinação das incertezas associadas às soluções padrão de fosfato na verificação da reta de calibração baseou-se na abordagem passo a passo (**Figura 9**). Como tal, a **Figura 31** ilustra as fontes de incerteza associadas.

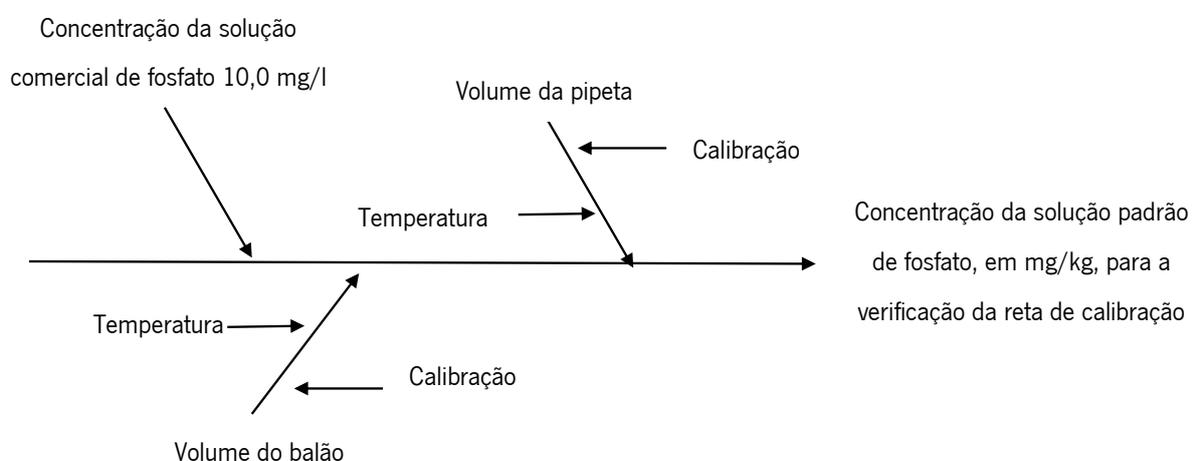


Figura 31. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada a cada solução padrão de fosfato para a verificação da reta de calibração. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação de cada solução padrão de fosfato para a verificação da reta de calibração em mg/kg.

A $u(x)$ associada à concentração da solução padrão de fosfato comercial foi de 0,058 mg/l (**Equação 49**) e a incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) de 0,0058. Por conseguinte, a $u(x)$ e a $u(x)/x$ associadas ao balão volumétrico de 50 ml corresponderam a 0,031 ml (**Equação 53**) e a 0,00061, respetivamente. Em contrapartida, a $u(x)$ e a $u(x)/x$ associada ao volume da pipeta foi estimada individualmente para cada solução padrão, dado que foram pipetados diferentes volumes. Assim, a incerteza combinada de cada solução padrão (**Equação 54**), assim como a incerteza expandida (**Equação 55**) (considerando um $k=2$) diferiram. Por este motivo, as incertezas combinadas e expandidas de cada solução padrão encontram-se apresentadas na **Tabela 80**.

Tabela 80. Incertezas associadas à concentração das soluções padrão de fosfato na verificação da reta de calibração. Incerteza combinada em mg/kg e incerteza expandida em mg/kg, considerando um fator de expansão igual a 2, associada à concentração efetiva de cada solução padrão de fosfato em mg/kg para a verificação da reta de calibração.

Concentração efetiva de fosfato (mg/kg)	Incerteza combinada (mg/kg)	Incerteza expandida (mg/l)
0,0400	0,00062	0,0012
0,2000	0,0013	0,0026
0,4000	0,0025	0,0049

6.4.7. Cálculo da concentração efetiva da solução padrão de fosfato e respetiva incerteza associada para a verificação do método

Visto que as soluções preparadas para a examinação do método sofreram o processo de tratamento da amostra (2.4.5.5.), inicialmente, preparou-se uma solução por diluição da solução intermédia de fosfato (2.4.4.3.). Através da **Equação 88** determinou-se a concentração efetiva da solução padrão de fosfato utilizada na verificação do método ($C_{\text{PO}_4^{-3} \text{ sol. padrão verificação método}}$), considerando a concentração da solução intermédia de fosfato de $2,0245 \pm 0,0080$ mg/l, o volume inicial de 0,025 l e o volume final de 0,250 l. Atendendo ao facto da densidade da solução em questão ser igual a 1 kg/l, expressou-se a concentração efetiva da solução padrão de fosfato para a verificação do método em mg/kg.

$$C_{\text{PO}_4^{-3} \text{ sol. padrão verificação método}} = \frac{2,0245 \times 0,025}{0,250} = 0,2025 \text{ mg/l} \quad \text{Equação 88}$$

A quantificação da incerteza associada à solução padrão de fosfato para a verificação do método apoiou-se na metodologia passo a passo (Figura 9). Assim, a Figura 32 apresenta as fontes de incerteza associadas à solução padrão de fosfato para a verificação do método.

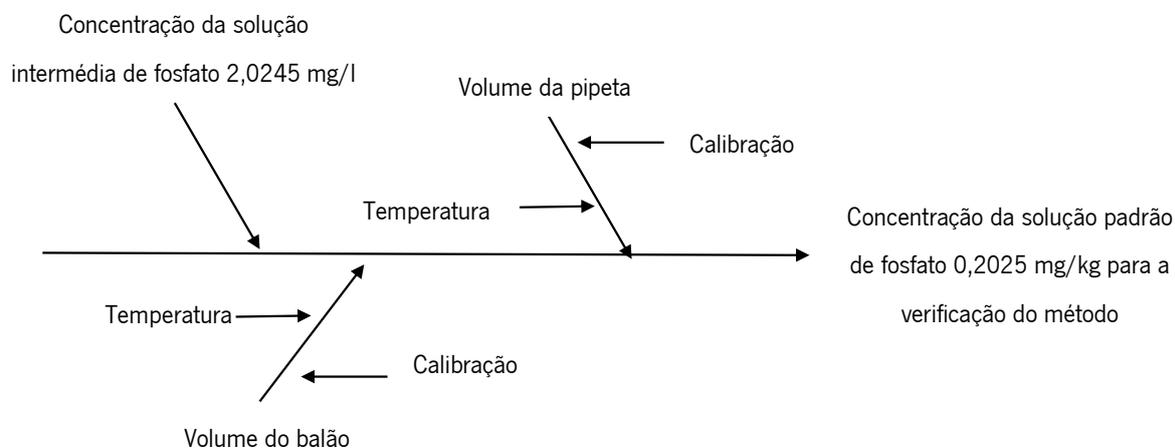


Figura 32. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução padrão de fosfato 0,2025 mg/kg para a verificação do método. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução padrão de fosfato 0,2025 mg/kg para a verificação do método.

A $u(x)$ obtida para a concentração da solução intermédia de fosfato foi de 0,0046 mg/l (Equação 49) e a $u(x)/x$ de 0,0023. Para o volume da pipeta obteve-se uma $u(x)$ de 0,015 ml (Equação 53) e uma $u(x)/x$ de 0,00061. Já para o volume do balão obteve-se uma $u(x)$ de 0,11 ml (Equação 53) e uma $u(x)/x$ de 0,00044. A incerteza combinada (Equação 54) obtida de 0,00048 mg/kg permitiu o cálculo da incerteza expandida (Equação 55) de 0,0010 mg/kg, considerando um $k=2$. Os resultados intermédios e finais das incertezas constam na Tabela 81.

Tabela 81. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução padrão de fosfato 0,2025 mg/kg para a verificação do método. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e da incerteza expandida (U), considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para a concentração da solução padrão de fosfato 0,2025 mg/kg para a verificação do método.

Concentração da solução intermédia de fosfato – 2,0245 mg/l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
concentração da solução intermédia	0,0080 mg/l	0,0046 mg/l	0,0023
Volume da pipeta – 25 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,030 ml	0,012 ml	0,00049
temperatura	0,016 ml	0,0091 ml	0,00036
volume da pipeta		0,015 ml	0,00061
Volume do balão – 250 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,15 ml	0,061 ml	0,00024
temperatura	0,16 ml	0,091 ml	0,00036
volume do balão		0,11 ml	0,00044
Concentração da solução padrão de fosfato - 0,2025 mg/kg			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	0,00048 mg/kg	2	0,0010 mg/kg

6.4.8. Cálculo da concentração efetiva da solução padrão de fosfato e respetiva incerteza associada para o estudo dos limiares analíticos do método

A solução padrão de fosfato utilizada para o estudo dos limiares analíticos do método sofreu o processo de tratamento da amostra (2.4.5.5.). Por isso, esta solução foi preparada por diluição da solução intermédia de fosfato (2.4.4.3.). Através da **Equação 89** determinou-se a concentração efetiva da solução padrão de fosfato para o estudo dos limiares analíticos

($C_{\text{PO}_4^{3-} \text{ sol. padrão limiares anlíticos}}$), realçando que se considerou para o cálculo a concentração efetiva da solução intermédia de fosfato de $2,0245 \pm 0,0080$ mg/l, o volume inicial de 0,010 l e o volume final de 0,500 l. Atendendo ao facto da densidade da solução em questão ser igual a 1 kg/l, expressou-se a concentração efetiva da solução padrão de fosfato para o estudo dos limiares analíticos do método em mg/kg.

$$C_{\text{PO}_4^{3-} \text{ sol. padrão limiares anlíticos}} = \frac{2,0245 \times 0,010}{0,500} = 0,04049 \text{ mg/l} \quad \text{Equação 89}$$

A determinação da incerteza associada à solução padrão de fosfato para o estudo dos limiares analíticos do método teve como base a metodologia passo a passo (**Figura 9**). A **Figura 33** menciona as fontes de incerteza associadas à solução padrão de fosfato para o estudo dos limiares analíticos do método.

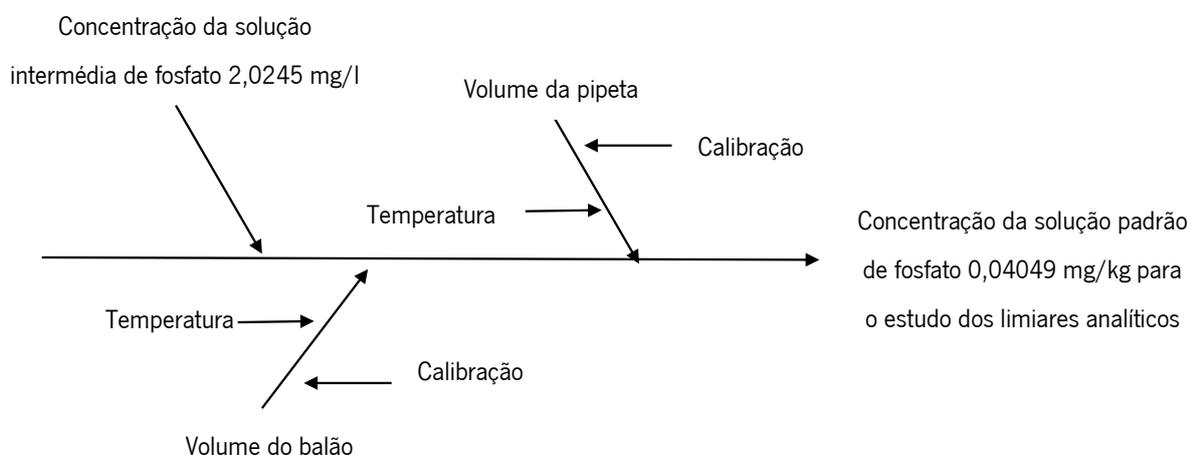


Figura 33. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução padrão de fosfato 0,04049 mg/kg para o estudo dos limiares analíticos do método. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução padrão de fosfato 0,04049 mg/kg para o estudo dos limiares analíticos do método.

Para a incerteza associada à concentração da solução intermédia de fosfato obteve-se um $u(x)$ de 0,0046 mg/l (**Equação 49**) e uma $u(x)/x$ de 0,0023. Para o volume da pipeta obteve-se uma $u(x)$ (**Equação 53**) e uma $u(x)/x$ de 0,0089 ml e de 0,00089, respetivamente. Na incerteza associada ao volume do balão obteve-se uma $u(x)$ de 0,21 ml (**Equação 53**) e uma $u(x)/x$ de 0,00042. Por último, determinou-se a incerteza combinada (u_c) (**Equação 54**) e a incerteza expandida (U) (**Equação 55**), para um $k=2$, tendo correspondido a 0,00010 mg/kg e a 0,00020 mg/kg, respetivamente. Todos os valores de $u(x)$ e de $u(x)/x$ para cada fator, assim como a u_c e a U encontram-se apresentadas na **Tabela 82**.

Tabela 82. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução padrão de fosfato 0,04049 mg/kg para o estudo dos limiares analíticos do método. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e da incerteza expandida (U), considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para a concentração da solução padrão de fosfato 0,04049 mg/kg para o estudo dos limiares analíticos do método.

Concentração da solução intermédia de fosfato – 2,0245 mg/l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
concentração da solução intermédia	0,0080 mg/l	0,0046 mg/l	0,0023
Volume da pipeta – 10 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,020 ml	0,0082 ml	0,0008
temperatura	0,0063 ml	0,0036 ml	0,00036
volume da pipeta		0,0089 ml	0,00089
Volume do balão – 500 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,25 ml	0,10 ml	0,00020
temperatura	0,32 ml	0,18 ml	0,00036
volume do balão		0,21 ml	0,00042
Concentração da solução padrão de fosfato - 0,04049 mg/kg			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	0,00010 mg/kg	2	0,00020 mg/kg

6.4.9. Cálculo da concentração efetiva da solução padrão de fosfato e respetiva incerteza associada para o estudo da precisão

A solução padrão de fosfato preparada para o estudo da precisão sofreu o procedimento de tratamento da amostra, descrito em 2.4.5.5.. Por isto, preparou-se a solução padrão de fosfato por diluição da solução intermédia de fosfato (2.4.4.3.). A partir da Equação 90 calculou-se a concentração efetiva da solução padrão de fosfato utilizada para o estudo da precisão ($C_{PO_4^{-3} sol. padrão precisão}$),

tendo em conta a concentração efetiva da solução intermédia de fosfato de $2,0245 \pm 0,0080$ mg/l, o volume inicial de 0,040 l e o volume final de 0,200 l. Atendendo ao facto da densidade da solução em questão ser igual a 1 kg/l, expressou-se a concentração efetiva da solução padrão de fosfato para o estudo da precisão em mg/kg.

$$C_{\text{PO}_4^{-3} \text{ sol. padrão precisão}} = \frac{2,0245 \times 0,040}{0,200} = 0,4049 \text{ mg/l} \quad \text{Equação 90}$$

A quantificação da incerteza associada à solução padrão de fosfato para o estudo da precisão baseou-se na abordagem passo a passo (**Figura 9**). A **Figura 34** refere as fontes de incerteza associadas à solução padrão de fosfato para a avaliação da precisão.

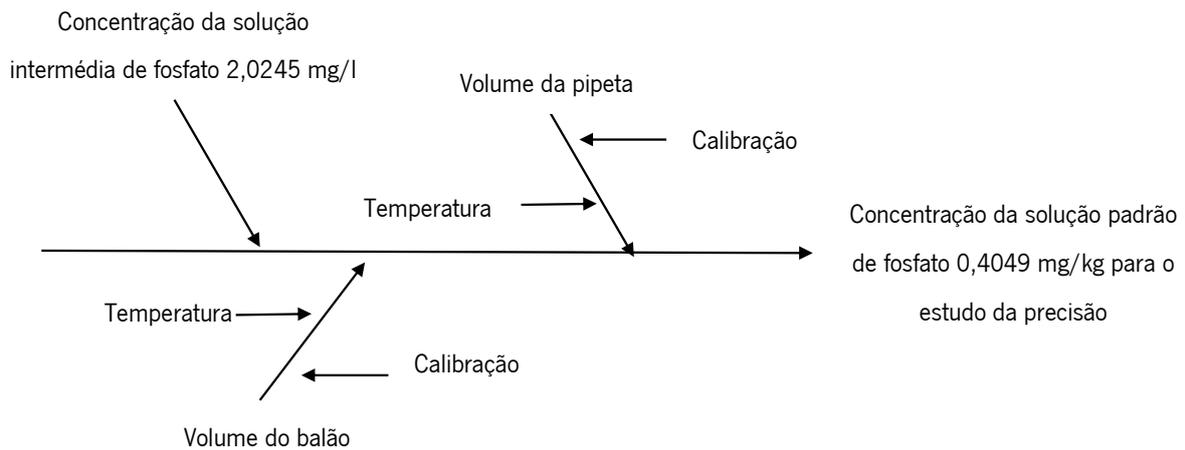


Figura 34. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução padrão de fosfato 0,4049 mg/kg para o estudo da precisão. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução padrão de fosfato 0,4049 mg/kg para o estudo da precisão.

Para a incerteza associada à solução intermédia de fosfato obteve-se uma $u(x)$ de 0,0046 mg/l (**Equação 49**) e uma $u(x)/x$ de 0,0023. Por conseguinte, para a incerteza associada ao volume da pipeta obteve-se um $u(x)$ de 0,019 ml (**Equação 53**) e uma $u(x)/x$ de 0,00048. Para o volume do balão também se determinou a $u(x)$ (**Equação 53**) e a $u(x)/x$, tendo correspondido a 0,095 ml e a 0,00048, respetivamente. Por último, calculou-se a incerteza combinada (u_c) (**Equação 54**) de 0,0010 mg/kg e a incerteza expandida (U) (**Equação 55**) de 0,0019 mg/kg, considerando um $k=2$. Os valores das $u(x)$ e das $u(x)/x$ de cada fator, assim como a (u_c) e a U encontram-se na **Tabela 83**.

Tabela 83. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução padrão de fosfato 0,4049 mg/kg para o estudo da precisão. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e da incerteza expandida (U), considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para a concentração da solução padrão de fosfato 0,4049 mg/kg para o estudo da precisão.

Concentração da solução intermédia de fosfato – 2,0245 mg/l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
concentração da solução intermédia	0,0080 mg/l	0,0046 mg/l	0,0023
Volume da pipeta – 40 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,030 ml	0,012 ml	0,00031
temperatura	0,025 ml	0,015 ml	0,00036
volume da pipeta		0,019 ml	0,00048
Volume do balão – 200 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,15 ml	0,061 ml	0,00031
temperatura	0,13 ml	0,073 ml	0,00036
volume do balão		0,095 ml	0,00048
Concentração da solução padrão de fosfato - 0,4049 mg/kg			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	0,0010 mg/kg	2	0,0019 mg/kg

6.4.10. Cálculo da concentração efetiva do material de referência de fosfato e respetiva incerteza associada para o estudo da justeza

O material de referência (MR) em PO_4^{-3} utilizado para o estudo da justeza passou pelo processo de tratamento da amostra (2.4.5.5.) antes da determinação espectrofotométrica (2.4.5.6.). O MR foi diluído para uma concentração de 0,3 mg/kg. A Equação 91 indica a concentração efetiva do MR preparado para o estudo da justeza ($C_{\text{PO}_4^{-3}\text{MR}}^{\text{justeza}}$), tendo em conta a concentração do MR

comercial de 10,0 mg/l, o volume inicial de 0,0075 l e o volume final de 0,250 l. Atendendo ao facto da densidade da solução em questão ser igual a 1 kg/l, expressou-se a concentração efetiva do MR preparado para o estudo da justeza em mg/kg.

$$C_{\text{PO}_4^{-3} \text{MR } \textit{justeza}} = \frac{10,0 \times 0,0075}{0,250} = 0,3000 \text{ mg/l} \quad \text{Equação 91}$$

A quantificação da incerteza associada ao MR preparado para o estudo da justeza fundamentou-se na abordagem passo a passo (**Figura 9**). A **Figura 35** indica as fontes de incerteza associadas ao MR preparado para avaliar a justeza.

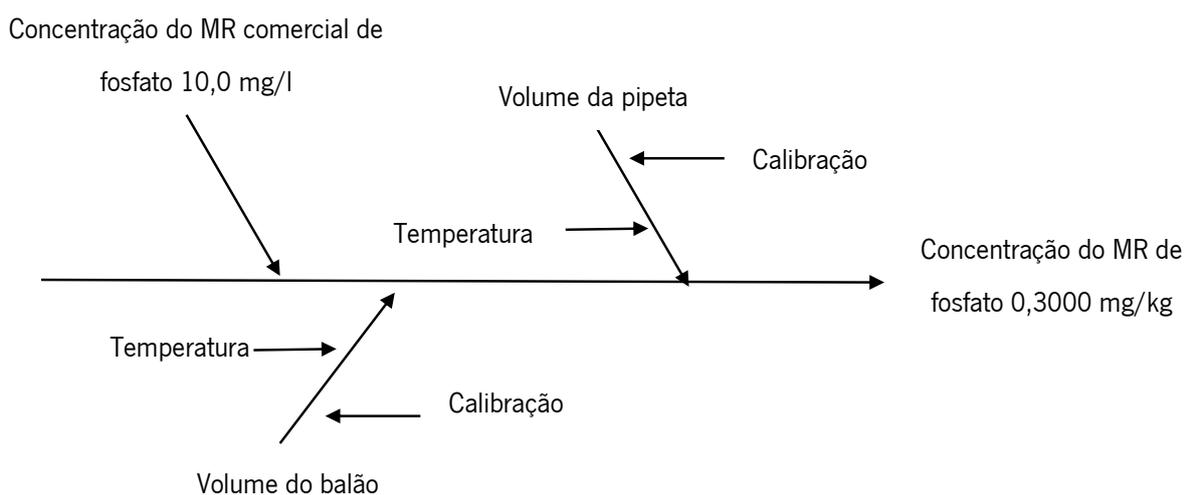


Figura 35. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada ao MR de 0,3000 mg/kg para o estudo da **justeza**. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação do MR de 0,3000 mg/kg para o estudo da justeza.

Na incerteza associada à concentração do MR comercial obteve-se uma $u(x)$ de 0,058 mg/l (**Equação 49**) e uma $u(x)/x$ de 0,0058. Por sua vez, na incerteza associada ao volume da pipeta obteve-se uma $u(x)$ de 0,021 ml (**Equação 53**) e uma $u(x)/x$ de 0,0027. Para o volume do balão, obteve-se uma $u(x)$ de 0,11 ml (**Equação 53**) e uma $u(x)/x$ de 0,00044. Por fim, determinou-se a incerteza combinada (u_c) (**Equação 54**) de 0,0019 mg/kg e a incerteza expandida (U) (**Equação 55**) de 0,0038 mg/kg, para um $k=2$. Os valores das $u(x)$ e das $u(x)/x$ de cada fator, assim como a (u_c) e a U encontram-se na **Tabela 84**.

Tabela 84. Resultados para a incerteza associada à preparação do MR de fosfato 0,3000 mg/kg para o estudo da justeza. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e da incerteza expandida (U), considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para a concentração do MR de fosfato 0,3000 mg/kg para o estudo da justeza.

Concentração do MR comercial de fosfato – 10,0 mg/l			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
concentração do MR comercial	0,1 mg/l	0,058 mg/l	0,0058
Volume da pipeta – 7,5 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,050 ml	0,020 ml	0,0027
temperatura	0,0047 ml	0,0027 ml	0,00036
volume da pipeta		0,021 ml	0,0027
Volume do balão – 250 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,15 ml	0,061 ml	0,00024
temperatura	0,16 ml	0,091 ml	0,00036
volume do balão		0,11 ml	0,00044
Concentração do MR de fosfato - 0,3000 mg/kg			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	0,0019 mg/kg	2	0,0038 mg/kg

6.5. Verificação do método da determinação do teor de biureto

6.5.1. Frases de perigo e prudência

Tabela 85. Legenda das siglas das frases de perigo (H) e prudência (P). Adaptada de: https://ec.europa.eu/taxation_customs/dds2/SAMANCTA/PT/Safety/HP_PT.htm⁸⁵ e da ficha de dados de segurança dos reagentes ácido clorídrico 1mol/l⁸¹, biureto⁸⁵, hidróxido de sódio⁸¹, sulfato de cobre(II) pentahidratado⁸⁵ e tartarato de sódio e potássio tetrahidratado⁸².

Ácido clorídrico 1 mol/l	
Sigla	Legenda
H290	Pode ser corrosivo para metais.
P234	Manter o produto no recipiente original.
P390	Absorver o reagente derramado de forma a não provocar danos.

Biureto	
Sigla	Legenda
H315	Provoca irritação na pele.
H319	Provoca irritação ocular grave.
H335	Provoca irritação das vias respiratórias.
P280	Utilizar proteção ocular/ luvas/ vestuário.
P312	Em caso de indisposição, contactar um centro de informação de antivenenos ou médico.
P302 + P352	Em contacto com a pele, lavar abundantemente com água.
P304 + P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P332 + P313	Em caso de irritação cutânea, contactar um médico.
P337 + P313	Em caso da irritação ocular persistir, consultar um médico.

Hidróxido de sódio	
Sigla	Legenda
H290	Pode ser corrosivo para metais.
H314	Provoca queimaduras na pele e danos oculares graves.
P234	Manter o produto no recipiente original.
P260	Não inalar fumos, névoas, gases, poeiras, aerossóis, vapores.
P280	Utilizar proteção ocular/ luvas/ vestuário.
P303 + P361 + P353	Em caso de contacto com a pele, retirar a roupa contaminada e enxaguar

	a pele com água.
P304 + P340 + P310	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração. Contactar imediatamente um centro de informação de antivenenos ou médico.
P305 + P351 + P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.

Sulfato de cobre(II) pentahidratado

Sigla	Legenda
H302	Tóxico por ingestão.
H318	Causa danos oculares graves.
H410	Bastante tóxico para os organismos aquáticos durante um longo período.
P273	Impedir lançar para o meio ambiente.
P280	Utilizar proteção ocular/ luvas/ vestuário.
P308 + P310	Em caso de exposição, contactar um centro de informação de antivenenos ou médico.
P301 + P330 + P331	Em caso de ingestão, lavar a boca e não causar o vómito.
P305 + P351 + P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.

Tartarato de sódio e potássio tetrahidratado

Sigla	Legenda
P304+P340	Em caso de inalação, mover a pessoa para um local arejado e colocá-la numa posição que não prejudique a respiração.
P301 + P330 + P331	Em caso de ingestão, enxaguar a boca com água.
P303 + P361 + P353	Em caso de contacto com a pele, retirar a roupa contaminada e enxaguar a pele com água.
P305+P351+P338	Em contacto com os olhos, lavar cuidadosamente com água. Em caso de uso de lentes de contacto, retirar se possível e continuar a enxaguar com água.

6.5.2. Cálculo da concentração efetiva da solução de ácido clorídrico 0,10 mol/l

A concentração efetiva da solução preparada de ácido clorídrico ($C_{sol. HCl 0,10}$) foi calculada pela **Equação 92**, tendo em conta a concentração da solução comercial de ácido clorídrico 1 mol/l, o volume pipetado de 0,025 l e o volume final de 0,250 l.

$$C_{sol.HCl 0,10} = \frac{1 \times 0,025}{0,250} = 0,10 \text{ mol/l} \quad \text{Equação 92}$$

6.5.3. Cálculo da concentração efetiva da solução mãe de biureto e respetiva incerteza associada

A concentração efetiva da solução mãe de biureto ($C_{sol. mãe biureto}$) foi calculada pela **Equação 93**, atendendo à massa pesada de biureto ($m = 803,7 \text{ mg}$), à pureza do reagente biureto de 97 % e ao volume final de 1000 ml.

$$C_{sol. mãe biureto} = \frac{803,7 \times 0,97}{1000} = 0,7796 \text{ mg/ml} \quad \text{Equação 93}$$

Em seguida, quantificou-se a incerteza associada à preparação da solução mãe de biureto. Esta baseou-se na abordagem passo a passo (**Figura 9**), sendo que na **Figura 36** constam as fontes de incerteza identificadas.

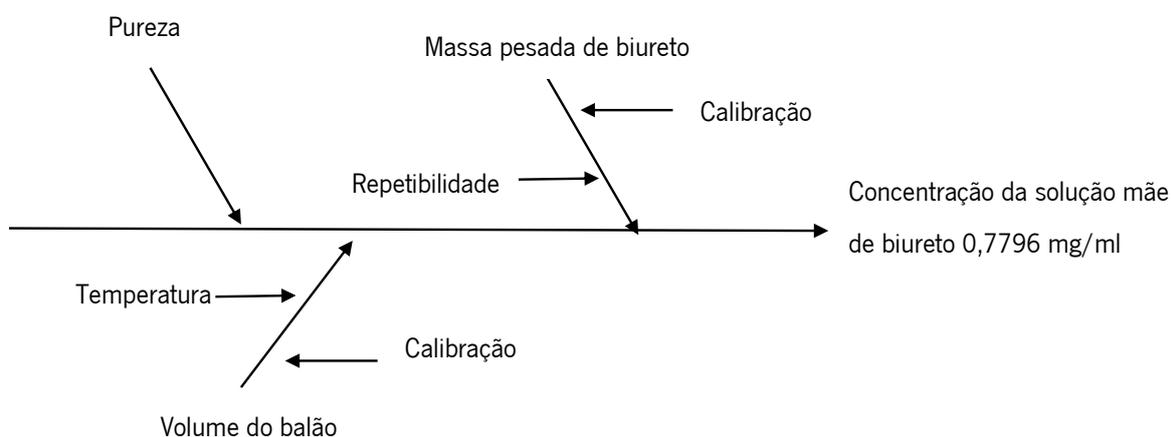


Figura 36. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada à solução mãe de biureto 0,7796 mg/ml. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação da solução mãe de biureto 0,7796 mg/ml.

Para a pureza de 97 % obteve-se uma $u(x)$ de 0,058 % (**Equação 49**) e uma incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) de 0,00060. No caso da massa pesada de biureto obteve-se uma $u(x)$ de 0,38 mg (**Equação**

53) e uma $u(x)/x$ de 0,00047. A $u(x)$ e a $u(x)/x$ associadas ao volume do balão foram de 0,40 ml (Equação 53) e de 0,00040, respetivamente. Consequentemente, determinou-se a incerteza combinada associada à solução mãe de biureto de 0,00067 mg/ml (Equação 54) e a incerteza expandida de 0,0013 mg/ml (Equação 55), para um fator de expansão (k) igual a 2. Os resultados intermédios, assim como a incerteza combinada e expandida associada à solução mãe de biureto encontram-se na Tabela 86.

Tabela 86. Resultados para a incerteza associada à preparação da solução mãe de biureto 0,7796 mg/ml. Valores obtidos da incerteza padrão ($u(x)$) e da incerteza padrão relativa ($u(x)/x$) para as fontes de incerteza, assim como o resultado da incerteza combinada (u_c) e da incerteza expandida (U), considerando um fator de expansão (k) igual a 2, para a concentração da solução mãe de biureto 0,7796 mg/ml.

Pureza – 97%			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
pureza	0,1 %	0,058 %	0,00060
Massa de biureto – 803,7 mg			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,15 mg		
repetibilidade	0,22 mg		
massa de biureto		0,38 mg	0,00047
Volume do balão – 1000 ml			
Descrição	Valor da incerteza	$u(x)$	$u(x)/x$
calibração	0,40 ml	0,16 ml	0,00016
temperatura	0,63 ml	0,36 ml	0,00036
volume do balão		0,40 ml	0,00040
Concentração da solução mãe de biureto – 0,7796 mg/ml			
Descrição	u_c	k	U
concentração da solução	0,00067 mg/ml	2	0,0013 mg/ml

6.5.4. Cálculo da concentração efetiva da solução de sulfato de cobre

A concentração efetiva da solução de sulfato de cobre ($C_{sol. sulfato de cobre}$) foi calculada a partir da **Equação 94**, tendo em conta a massa pesada de sulfato de cobre(II) pentahidratado de 15,03 g e o volume final de 1000 ml.

$$C_{sol. sulfato de cobre} = \frac{15,03}{1000} = 0,015 \text{ g/ml} \quad \text{Equação 94}$$

6.5.5. Cálculo das concentrações efetivas das soluções padrão de biureto e respetivas incertezas associadas para a reta de calibração

As concentrações efetivas das soluções padrão de biureto foram calculadas tendo em conta a concentração efetiva da solução mãe de biureto de 0,7796 mg/ml, o volume final de 50 ml e o volume inicial pipetado que variou consoante a solução padrão. A **Equação 95** exemplifica o cálculo da concentração efetiva da primeira solução padrão de biureto da reta de calibração ($C_{sol. padrão biureto r.c}$). Para as restantes soluções padrão de biureto da reta de calibração foi efetuado o mesmo cálculo. Na **Tabela 87** constam os volumes pipetados em ml e as concentrações efetivas de cada solução padrão de biureto em mg/ml para a reta de calibração.

$$C_{sol. padrão biureto r.c} = \frac{0,7796 \times 2}{50} = 0,03118 \text{ mg/ml} \quad \text{Equação 95}$$

Tabela 87. Valores para as soluções padrão de biureto da reta de calibração. Concentrações efetivas das soluções padrão de biureto em mg/ml, calculadas de acordo com a **Equação 95**, e volumes iniciais pipetados em ml para cada solução padrão de biureto para a reta de calibração.

Volume inicial (ml)	Concentração efetiva de biureto (mg/ml)
2	0,03118
5	0,07796
10	0,15592
15	0,23388
20	0,31184
25	0,3898

As incertezas associadas à concentração das soluções padrão de biureto da reta de calibração foram determinadas seguindo a abordagem passo a passo, presente na **Figura 9**. Assim sendo, a **Figura 37** ilustra as fontes de incerteza identificadas.

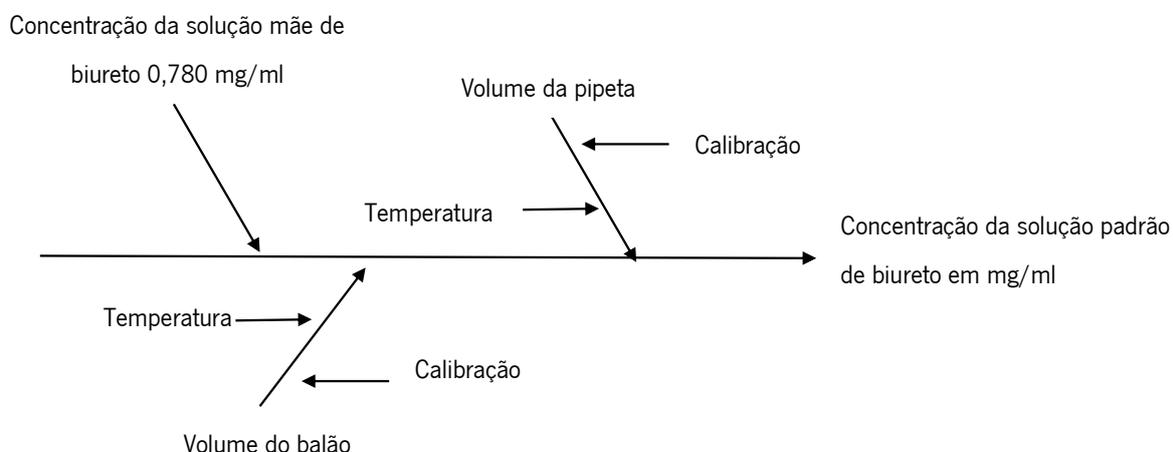


Figura 37. Diagrama em espinha de peixe para a determinação da incerteza associada a cada solução padrão de biureto da reta de calibração. Apresentação das fontes de incerteza que foram tidas em consideração para a quantificação da incerteza associada à preparação de cada solução padrão de biureto da reta de calibração em mg/ml.

A incerteza padrão ($u(x)$) para a concentração da solução mãe de biureto foi de 0,00077 mg/ml (**Equação 49**) e a $u(x)/x$ foi de 0,0010. A $u(x)$ e a $u(x)/x$ associadas ao balão volumétrico de 50 ml corresponderam a 0,031 ml (**Equação 53**) e a 0,00061, respectivamente. Em contrapartida, a $u(x)$ e a $u(x)/x$ associada ao volume da pipeta foi estimada individualmente para cada solução padrão, dado que foram pipetados diferentes volumes. Assim sendo, a incerteza combinada de cada solução padrão, assim como a incerteza expandida (considerando um $k=2$) diferiram. Por este motivo, as incertezas combinadas e expandidas de cada solução padrão encontram-se na **Tabela 88**.

Tabela 88. Incertezas associadas à concentração das soluções padrão de biureto da reta de calibração. Incerteza combinada em mg/ml e incerteza expandida em mg/ml, considerando um fator de expansão igual a 2, associada à concentração efetiva de cada solução padrão de biureto em mg/ml para a reta de calibração.

Concentração efetiva de biureto (mg/ml)	Incerteza combinada (mg/ml)	Incerteza expandida (mg/ml)
0,03118	0,00007	0,00015
0,07796	0,00021	0,00043
0,15592	0,00023	0,00046
0,23388	0,00034	0,00069
0,31184	0,00042	0,00085
0,3898	0,00051	0,0010