



**Escola Superior
Agrária**

Politécnico de Coimbra

ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE COIMBRA

MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

Inês Filipa Pinto Correia

Implementação e validação de métodos analíticos

Determinação de acidez em refrigerantes

Orientador: Prof^a. Maria Manuel Balseiro Vidal

Orientador externo: Dr^a. Maria Manuela Moreira Santos Pereira

Coimbra, 2023



**Escola Superior
Agrária**

Politécnico de Coimbra

ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE COIMBRA

MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

Inês Filipa Pinto Correia

Implementação e validação de métodos analíticos

Determinação de acidez em refrigerantes

Relatório de estágio apresentado à Escola Superior Agrária
de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à
obtenção do grau mestre em ENGENHARIA ALIMENTAR

Orientador: Prof^a. Maria Manuel Balseiro Vidal

Orientador externo: Dr^a. Maria Manuela Moreira Santos Pereira

Coimbra, 2023

Agradecimentos

Antes de mais gostaria de agradecer à empresa *Sumol+Compal* a oportunidade de realizar este trabalho nas suas instalações. Agradecer à minha orientadora externa Dr.^a Manuela Pereira e à Dr.^a Angelina Perestrelo por toda a ajuda e pelo voto de confiança depositado em mim para a realização deste trabalho.

À professora Maria Vidal, minha orientadora de estágio, um agradecimento gigante por todo o apoio, disponibilidade e conhecimento transmitido ao longo deste percurso.

A todos os meus colegas de trabalho por toda a ajuda na realização dos ensaios laboratoriais e por toda a partilha de conhecimento, com particular agradecimento ao Luís e à Joana por toda a paciência e por todo o tempo perdido em prol do meu sucesso.

A todos os meus amigos agradeço do fundo do coração, por todo o apoio prestado nos momentos mais difíceis, por me conseguirem abstrair nos piores momentos e por terem ouvido todos os meus desabafos.

À minha família, em especial aos meus pais, ao meu irmão e à minha avó, por estarem ao meu lado nesta longa caminhada, por acreditarem sempre em mim e por nunca me deixarem desistir, sem eles nada disto teria sido possível!

Ao meu namorado um muito obrigada por toda a paciência, compreensão, companheirismo e por toda a força e motivação ao longo deste desafio. Agradeço todas as palavras de força que me ajudaram a erguer quando mais precisei,

A todos vós, muito obrigada!

Resumo

O presente trabalho surge no âmbito da dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar da Escola Superior Agrária de Coimbra (ESAC) tendo como objetivo implementar a determinação de acidez em refrigerantes num titulador potenciométrico automático, modelo *916 Ti-Touch* da *Metrohm*, recentemente adquirido pelos laboratórios da fábrica *Sumol+Compal* em Pombal.

A implementação do método analítico no novo titulador implicou a validação prévia dos resultados obtidos, sendo esta o objeto do relatório agora apresentado. Inicialmente foi feita uma pesquisa bibliográfica de modo a perceber quais os testes estatísticos mais adequados para a validação do titulador em causa. Posteriormente, procedeu-se à análise de seis refrigerantes, utilizando o titulador potenciométrico automático novo, e o titulador potenciométrico automático em uso atualmente, também da *Methrom*, modelo *848 Titrino plus*. Para cada uma das amostras analisadas, com recurso ao *Microsoft Office Excel*[®], efetuaram-se os testes estatísticos, teste *F* de *Snedecor/Fisher* para análise de variâncias e *t-student* para comparação de médias.

Por fim, após a análise dos testes estatísticos concluiu-se que o titulador automático em estudo está parcialmente apto à utilização, pois necessita de ajustes em relação a alguns parâmetros do método de análise. Será de esperar a realização de ensaios interlaboratoriais de forma a comparar resultados com um laboratório acreditado.

Palavras-chaves: Validação de métodos analíticos, Titulação Potenciométrica, Acidez, Titulador Automático, Controlo de Qualidade

Abstract

This work arises within the scope of the Master's thesis in Food Engineering at the Escola Superior Agrária de Coimbra (ESAC) with the objective of implementing acidity analysis in soft drinks using an automatic potentiometric titrator, model *916 Ti-Touch* from Metrohm, recently acquired by the laboratories of the *Sumol+Compal* factory in Pombal.

The implementation of the analytical method on the new titrator involved the previous validation of the obtained results, which is the subject of the report presented here. Initially, a literature review was conducted to understand which statistical tests were most suitable for the validation of the titrator in question. Posteriorly, the analysis of six soft drinks was conducted using the new automatic potentiometric titrator and the currently used automatic potentiometric titrator, also from *Metrohm*, model *848 Titrino plus*. For each of the analyzed samples, statistical tests, *Fisher's F-test* for analysis of variances, and the *t-student* test for mean comparison were performed using *Microsoft Office Excel*[®].

Finally, after the analysis of the statistical tests, it was concluded that the automatic titrator under study is partially suitable for use, as it requires adjustments in relation to some parameters of the analysis method. It will be expected to conduct interlaboratory trials in order to compare results with an accredited laboratory.

Keywords: Analytic method validation, Potentiometric Titration, Acidity, Automatic Titrator, Quality Control.

Índice

Agradecimentos	9
Resumo	8
Abstract	8
Índice de Figuras	10
Índice de Tabelas	12
1. Introdução	14
1.1 Empresa de acolhimento	14
1.2 Refrigerantes	15
1.2.1 Processo produtivo de refrigerantes	18
1.3 Determinação de acidez em refrigerantes	21
1.3.1 Titulação potenciométrica.....	22
1.4 Titulador automático <i>916 Ti-Touch</i>	23
1.5 Validação dos resultados obtidos com o titulador automático <i>916 Ti-Touch</i> .	26
2. Procedimento experimental	31
2.1 Instalação e operacionalização do titulador <i>916 Ti-Touch</i>	31
2.2 Tratamento da amostra.....	36
3. Resultados e Discussão	39
3.1 Validação do titulador automático	39
4. Conclusão.....	55
5. Bibliografia	57
6. Anexos	60

Índice de Figuras

Figura 1: A) Logotipo da empresa Sumol+Compal; B) Fotografia da unidade fabril em Pombal (Portugal).	14
Figura 2: Fluxograma relativo à preparação de xarope de açúcar.	19
Figura 3: Fluxograma relativo à preparação do xarope composto.	20
Figura 4: Titulador volumétrico da Metrohm adquirido pela unidade fabril de Pombal da Sumol+Compal 916 Ti-Touch, combinando, num único equipamento, a unidade de titulação, agitador magnético e ecrã touch screen.	24
Figura 5: Representações esquemáticas dos diferentes tipos de titulação automática. A) DET; B) MET; C) SET; D) STAT.	25
Figura 6: Representação da etapa de inserir a temperatura em °C, antes da calibração do equipamento.	34
Figura 7: Representação da etapa de reconhecimento da solução tampão, durante calibração do equipamento.	35
Figura 8: Instrumento de descarbonatação SOMEX.	36
Figura 9: Representação gráfica dos valores de acidez do Refrigerante A, em g/L de ACA, determinados no 916 Ti-Touch e no 848 Titrino Plus.	40
Figura 10: Representação gráfica dos valores de pH finais de titulação do Refrigerante A, determinados no 916 Ti-Touch e no 848 Titrino Plus.	41
Figura 11: Representação gráfica dos valores de acidez do Refrigerante B, expressa em ml de NaOH por 100,00 ml de amostra, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.	42
Figura 12: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante B, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.	43
Figura 13: Representação gráfica de % ACA no Refrigerante C, calculado a partir dos dois instrumentos de medição.	45
Figura 14: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante C, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.	45
Figura 15: Representação gráfica da acidez do Refrigerante D, expressa em % de ACA determinada nos dois instrumentos de medição.	47
Figura 16: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante B, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.	47

Figura 17: Representação gráfica da acidez do Refrigerante E, expressa em % de ACA determinada nos dois instrumentos de medição.	49
Figura 18: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante E, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.	50
Figura 19: Representação gráfica dos valores de acidez do Refrigerante F, expressa em ml de NaOH por 100 ml de amostra, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.	51
Figura 20: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante F, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.	52

Índice de Tabelas

Tabela 1: Parâmetros definidos para determinação de acidez em refrigerantes através do titulador automático 916 Ti-Touch para o modo de titulação SET – Specified Endpoint Titration: V_0 – volume inicial adicionado até ao ponto final; pH_{PF} – valor do pH do titulado no ponto final; $T_{máx}$ e $T_{mín}$ – taxa de adição máxima e mínima do titulante.	33
Tabela 2: Valores limites dos intervalos nos quais os valores de slope e pH (0) devem estar incluídos no final da calibração do eletrodo.....	35
Tabela 3: Fórmulas para cálculo de acidez e respetivo refrigerante.....	38
Tabela 4: Média da acidez expressa em g/L de ACA, média pH final de titulação, erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.....	41
Tabela 5: Média de acidez do Refrigerante B, expressa em ml de NaOH, média pH final de titulação, erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.	43
Tabela 6: Média de acidez do Refrigerante C, expressa em % de ACA, média pH final de titulação erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.	46
Tabela 7: Média da acidez expressa em % de ACA, média pH final de titulação, erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.....	50
Tabela 8: Média de acidez do Refrigerante F, expressa em ml de NaOH, média pH final de titulação, erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.	52
Tabela 9: Resultados de um breve ensaio interlaboratorial.	53

Lista de Abreviaturas

ACA- Ácido cítrico anidro

BIB - Sigla inglesa de *bag in box*

BRCGS – Sigla inglesa para *Brand Reputation Compliance Global Standard*

CAE – Classificação Portuguesa de Atividades Económicas

CV- Coeficiente de variação

DET- *Dynamic equivalence point titration*

DGVA – Direção Geral da Agricultura e Veterinária

ESAC- Escola Superior Agrária de Coimbra

IEC - Sigla inglesa de *International Electrotechnical Commission*

INE – Instituto Nacional de Estatística

ISO – Sigla inglesa de *International Organization for Standardization*

IUPAC – Sigla inglesa de *International Union and Applied Chemistry*

MAT- *Manual titration*

MET - *Monotonic equivalence point titration*

MRC- Materiais de referência certificados

NP – Norma Portuguesa

OMS – Organização Mundial de Saúde

PE- Ponto de equivalência

PET – Polietileno tereftalato

s – Desvio-padrão

SET - *Specified Endpoints Titration*

STAT - *Titration with constant maintenance of the measured value*

UE – União Europeia

XC – Xarope composto

X_m -Média dos resultados

1. Introdução

1.1 Empresa de acolhimento

A *Sumol+Compal S.A.*, é uma empresa multinacional do setor agroalimentar, com sede em Carnaxide, concelho de Oeiras, resultante da fusão, em 2009, dos grupos *Sumolis* e *Compal*, cada um com mais de 50 anos de história e detentoras de duas marcas emblemáticas portuguesas. Desde então, esta empresa do setor agroalimentar, tem vindo a liderar o mercado de bebidas não alcoólicas em Portugal, e como fruto de uma continuada aposta e investimento no processo de internacionalização, o seu negócio tem vindo a crescer nos mercados externos, estando já presente em mais de 70 países [1].

A *Sumol+Compal* está presente no mercado de bebidas não alcoólicas e possui uma gama de marcas que se inserem nas diversas categorias de negócio: Nutrição (*Compal*, *Um Bongo*), Bebidas refrescantes (*Sumol*, *Pepsi*, *7Up*, *Guaraná*, *B!*) e por último Águas (*Serra da Estrela* e *Frize*). Toda a produção das marcas comercializadas pela *Sumol+Compal* está dividida por várias unidades de fabrico em Portugal (Vila Flor, Gouveia, Almeirim, Pombal) e Moçambique. O presente trabalho foi realizado na fábrica de Pombal (Figura 1B) estando esta unidade fabril centrada na produção de refrigerantes em embalagens de plástico PET (Polietileno tereftalato), lata, vidro e BIB (*bag in box*) [1].



Figura 1: A) Logotipo da empresa *Sumol+Compal*; B) Fotografia da unidade fabril em Pombal (Portugal).

O foco da empresa centra-se na criação de valor para o consumidor através das suas marcas únicas e inovadoras, desenvolvidas com ciência e arte, orgulhando-se de contribuir para um mundo mais sustentável. Deste modo, a *Sumol+Compal* implementou um conjunto de procedimentos e técnicas avançadas de controlo dos seus processos. Estando inserido nesse conjunto de procedimentos o controlo de qualidade, um conceito que tem ganho relevância na indústria alimentar, visto que, é necessário normalizar e regulamentar todas as atividades de forma a uniformizar todos os procedimentos englobados nos processos de fabrico, para garantir a eficiência, qualidade e segurança do produto que chega ao consumidor.

Com o propósito de garantir qualidade e de reduzir as “não conformidades” pela identificação prévia de erros a *Sumol+Compal* é, até ao momento, uma empresa certificada na área da Gestão de Qualidade de acordo com a Norma Portuguesa (NP) EN ISO 9001:2015, Gestão Ambiental segundo a NP ISO 14001/2015 e da Segurança de Alimentos consoante a NP BRCGS. Apresentando ainda os certificados [1]:

- *AIB International* – Segurança Alimentar;
- *HALAL* – Atesta que os produtos fabricados seguem os preceitos do Islamismo;
- *Kosher* – Atesta que os produtos fabricados seguem as normas específicas que regem a dieta judaica ortodoxa.

1.2 Refrigerantes

Segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE), bebidas refrigerantes não alcoólicas constam na Classificação Portuguesa de Atividades Económicas na divisão C11, grupo 110, classe 1107 e subclasse 11072. Nesta categoria estão incluídos os refrigerantes de sumo, bebidas à base de extratos vegetais, tónicas, bebidas energéticas e águas aromatizadas [3].

De acordo com a Portaria nº. 703/96, de 6 de dezembro, da Direção Geral da Agricultura e Veterinária (DGAV), refrigerante ou bebida refrigerante define-se como sendo um, “líquido constituído por água contendo em solução, emulsão ou suspensão qualquer dos ingredientes previstos no número seguinte (da referida Portaria), e eventualmente aromatizado e/ou gaseificado com dióxido de carbono”, sendo este classificado como gaseificado quando apresenta um teor de dióxido de carbono superior a 2,00 g/L [6].

De forma a assegurar as características organoléticas e a segurança dos produtos, os refrigerantes têm na sua composição, de uma forma geral, os seguintes ingredientes [2]:

❖ Água

Representando esta a maior parte do volume do refrigerante, entre 87% a 92%. Esta deve obedecer aos parâmetros legalmente fixados para a água para consumo humano [6].

❖ Açúcares

Para a produção de refrigerantes são utilizados vários tipos de açúcares, sendo estes definidos e caracterizados pelo Decreto-Lei nº. 188/2005, de 4 de novembro, dos quais podem ser a sacarose, frutose, glucose e açúcares naturalmente presentes nas frutas. Em massa, a sua quantidade deve estar entre os 8% e os 12% [5,7].

❖ Sumo de fruta e extratos vegetais

Segundo a Portaria referida acima, a fruta pode ser adicionada aos refrigerantes em diversas formas, entre as quais [7]:

- Produto líquido, fermentescível, mas não fermentado denominado, sumo;
- Sumo concentrado que é obtido de sumo por eliminação física de pelo menos 50% da água da sua constituição ou o sumo desidratado que é obtido pela eliminação da quase totalidade de água;
- O polme, sendo este um produto pastoso, extraído diretamente da parte comestível de frutos ou de produtos hortícolas, sem eliminação do sumo;
- Néctar, que resulta da adição de água e de açúcares ou mel a um dos produtos referidos anteriormente ou a uma mistura de quaisquer destes produtos.

A adição de sumo de fruta ou dos seus concentrados, bem como extratos vegetais fornecem o aroma, cor, textura e o sabor aos refrigerantes [5].

❖ Aditivos

Os aditivos são adicionados aos refrigerantes de modo a garantir a segurança alimentar dos mesmos e/ou conferir sabores ou aparências desejadas para o refrigerante em causa [5,8].

O Regulamento n.º 231/2012, de 9 de março, que é relativo aos aditivos alimentares, dita que estes “devem respeitar as especificações aprovadas, as quais deverão incluir informações de molde a identificar adequadamente o aditivo alimentar” [8].

De uma vasta lista de aditivos alimentares os mais utilizados na produção de refrigerantes são os seguintes [8]:

- Edulcorantes, estes têm o objetivo de reduzir a capacidade energética, sendo exemplo destes o aspartame, acesulfame K e sucralose;
- Antioxidantes, com o intuito de estender o prazo de conservação, como o ácido ascórbico;
- Corantes, pretendem compensar alterações naturais da cor ou que ocorram durante a produção da bebida;
- Emulsionantes e Estabilizantes, com o propósito de conceder brilho e de dificultar a cristalização do açúcar, e.g., a pectina;
- Aromas, têm como objetivo aprimorar ou acentuar o cheiro e sabor dos refrigerantes;
- Conservantes, como o sorbato de potássio e o dicarbonato de dimetilo, estes expandem o prazo de validade e ajudam na prevenção do desenvolvimento de microrganismos;
- Reguladores de acidez, como o próprio nome indica, regulam a acidez prevenindo o desenvolvimento de microrganismos, reduzindo o pH dos refrigerantes. Temos como exemplo o ácido cítrico.

1.2.1 Processo produtivo de refrigerantes

O desenvolvimento de linhas de produção a alta velocidade e de diferentes tipos de embalagens e a melhoria nos sistemas de distribuição contribuiu para a redução de custos, aumento de produto disponível e comercialização de refrigerantes em todo o mundo. Com esta generalização, verificou-se o aumento significativo do consumo de refrigerantes durante a segunda metade do século XX. A relação do consumo exagerado de açúcar com inúmeros problemas de saúde, levou, nos últimos anos a recomendações de alerta por parte da Organização Mundial de Saúde (OMS) e a ações de desincentivo ao consumo de bebidas açucaradas, sendo exemplo disso o mais recente imposto especial sobre os refrigerantes aplicado nos países da União Europeia (UE). O setor dos refrigerantes é, pois, um dos setores mais dinâmicos da indústria alimentar, devido à necessidade de inovação, reformulação dos produtos e desenvolvimento de novas bebidas [9].

A produção industrial dos refrigerantes envolve uma série de etapas, que para além do tratamento de águas realizado por uma secção específica e outras matérias-primas de boa qualidade, implica uma série de operações que assegurem as características físico-químicas, organolépticas e microbiológicas do produto.

Este processo inicia-se pela preparação do xarope de açúcar, cujo fluxograma está representado em seguida [10]:

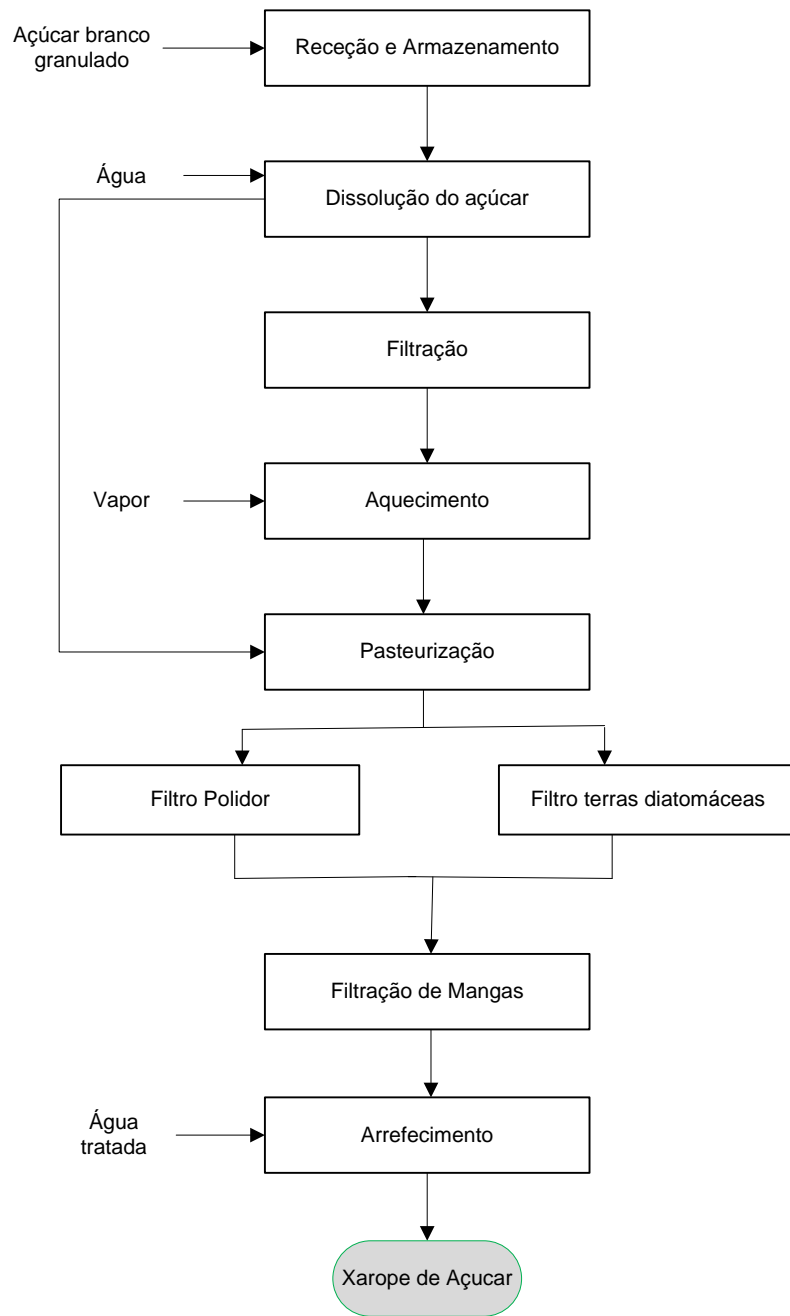


Figura 2: Fluxograma relativo à preparação de xarope de açúcar.

A preparação do xarope de açúcar, tem por base açúcar granulado e água, a partir destes é preparada uma solução aquosa concentrada de sacarose em grandes tanques para que depois possa ser utilizada em diversas formulações de xarope composto, ou seja de diferentes bebidas com adição de açúcar [10].

A preparação da bebida concentrada (denominado Xarope Composto, XC) consiste na adição para um depósito, dos diversos ingredientes: de xarope de açúcar (quando aplicável), concentrados, sumos de fruta e outros ingredientes previamente dissolvidos, de acordo com o procedimento de formulação [10,11]. O procedimento de adição e dissolução é específico para cada produto e está devidamente documentado [10].

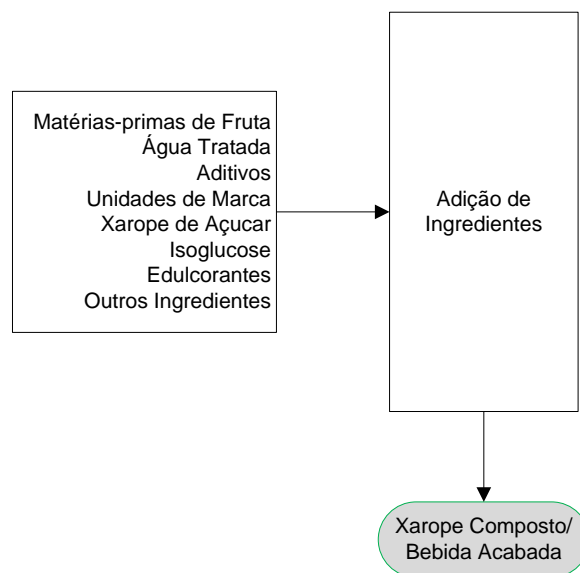
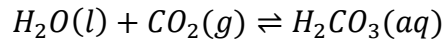


Figura 3: Fluxograma relativo à preparação do xarope composto.

Após a preparação, o xarope composto é enviado para a linha, onde no sistema denominado *intermix* é diluído em água tratada, numa relação pré-estabelecida.

Já em linha de enchimento, se o refrigerante é carbonatado, sucede-se a fase de gaseificação ou carbonatação que é conseguida pela injeção de uma quantidade específica de dióxido de carbono nos refrigerantes (entre 1,50 e 5,00 g/L). Quando o dióxido de carbono é dissolvido em água forma ácido carbónico (equação 1), o que, para além de conferir acidez, cria um meio antimicrobiano eficaz, especialmente contra bolores e leveduras [12].



Equação 1

De forma a evitar perdas de CO₂, as bebidas são imediatamente enviadas para a linha refrigerada de embalagem o que, para além de vantagens asséticas, favorece a solubilidade do gás na bebida. As embalagens mais utilizadas são as latas de alumínio, as garrafas de vidro e as de PET, embora estas últimas exijam concentrações superiores de CO₂ de forma a compensar as perdas do gás através do material plástico [13].

As bebidas não gaseificadas, por outro lado, devido à presença de oxigénio atmosférico que permanece no espaço vazio da embalagem (*headspace*), são mais suscetíveis à degradação oxidativa. Este problema é solucionado pressurizando as embalagens com azoto líquido o que, para além de conferir resistência física à embalagem, preenche o *headspace*, reduzindo o oxigénio disponível, e consequentemente a sua incorporação durante o transporte e armazenamento deste tipo de bebida. [4].

A boa conservação destes produtos pode ainda requerer a sua passagem por processos de pasteurização em produto já embalado que ocorre pelo meio de um pasteurizador em túnel, este submete o produto acabado a sucessivos banhos de água a específicas temperaturas [14]. A pasteurização poderá ocorrer também por *flash*, que consiste em aquecer a bebida a altas temperaturas antes de ocorrer o enchimento [15].

1.3 Determinação de acidez em refrigerantes

A acidez pode estar presente nos alimentos e bebidas de forma natural, desenvolvida durante processos fermentativos, ou adicionada, influenciando propriedades do refrigerante como o sabor e aspeto [16]. Os refrigerantes têm na sua composição, como referido no ponto 1.2., frutas e outros componentes que lhes conferem essa acidez, como por exemplo, ácido cítrico em frutas cítricas e ácido málico em maçãs, no entanto, podem ser adicionados ácidos para que as características microbiológicas sejam respeitadas. Assim sendo, a monitorização da acidez desempenha um papel fundamental ao longo de toda a linha de produção, desde as matérias-primas, misturas de xarope composto ao produto final embalado [17].

A acidez nos refrigerantes pode ser analisada através de acidez total titulável que é a quantidade de ácido presente numa amostra que reage com uma solução básica e expressa-se o seu resultado em gramas de ácido orgânico por 100 g de amostra. A acidez de cada alimento é relacionada ao ácido orgânico presente em maior quantidade, no caso dos refrigerantes em causa neste trabalho, será o ácido cítrico anidro (ACA) [17].

1.3.1 Titulação potenciométrica

Uma análise volumétrica ou titulação consiste num método analítico utilizado na quantificação de uma determinada espécie química presente numa amostra, adicionando, de forma gradual e lenta, um reagente, na forma de solução padrão, o qual deve reagir de forma rápida e completa com a espécie a quantificar – *o analito* [18].

Numa titulação, a solução que contém o analito recebe o nome de *titulado* enquanto a solução padronizada, em geral adicionada ao titulado, é chamada *titulante*. O ponto da titulação no qual o volume de titulante adicionado é o necessário e suficiente para fazer reagir a totalidade do analito presente na amostra é chamado de *ponto de equivalência* ou *ponto estequiométrico (PE)*. Este corresponde ao ponto da titulação no qual titulante e titulado estão presentes nas quantidades estequiométricas indicadas na equação química acertada que traduz a reação entre titulante e titulado. O resultado analítico de uma titulação corresponde assim, ao volume de titulante adicionado até atingir o PE a partir do qual, juntamente com a concentração do titulante, é possível calcular a quantidade do analito com base na estequiometria da respetiva reação química [16,18].

No caso particular dos refrigerantes, a acidez total titulável corresponde à quantidade de ácido cítrico anidro presente na amostra que reage com uma solução básica, de concentração previamente determinada, o hidróxido de sódio 0,1 mol/l [16].

Esta determinação pode ser realizada pela titulação volumétrica de uma quantidade conhecida da amostra, podendo estas ser realizadas manualmente ou utilizando um titulador automático que tem incorporado um sensor. Essa técnica fornece um método de teste de acidez mais preciso para o teor de ácido total da amostra [18].

A titulação automática tem diversas vantagens como por exemplo:

- Facilidade de execução;
- Possibilidade de ajustar parâmetros;
- Adaptabilidade de uma grande gama de concentrações;
- Simplicidade na interpretação de resultados;
- Cálculo automático de acidez a partir de fórmulas inseridas no equipamento;
- Exatidão do ponto final de titulação.

1.4 Titulador automático 916 Ti-Touch

Na *Sumol+Compal*, a determinação da acidez total titulável dos xaropes de açúcar ou bebida final, é realizada através de titulações ácido-base, recorrendo-se a tituladores automáticos da Methrom.

O titulador *916 Ti-Touch* da *Metrohm* é um instrumento desenhado para uso em laboratórios analíticos que combina, num único equipamento, a unidade de titulação, agitador magnético e um ecrã *touch screen*, permitindo operar de forma eficiente o tipo de titulante, sensores, métodos, entre outros. Para além de incluir uma memória interna, permite a ligação a dispositivos de armazenamento externos, por exemplo, *pen USB*, internet ou computador pessoal [19].

Este equipamento é adequado para processar produtos químicos e amostras inflamáveis. Possui um sistema de adição, denominado dosímetro de 50,00 ml \pm 50,00 μ l de capacidade e que pode ser ligado diretamente ao recipiente que contém o reagente titulante, desenvolvido com um sistema anti bolhas, o que significa que apenas é contabilizado o reagente adicionado, não causando erros sistemáticos na quantidade de titulante dispensado. Este dosímetro pode ser alterado para qualquer capacidade desejada [19].

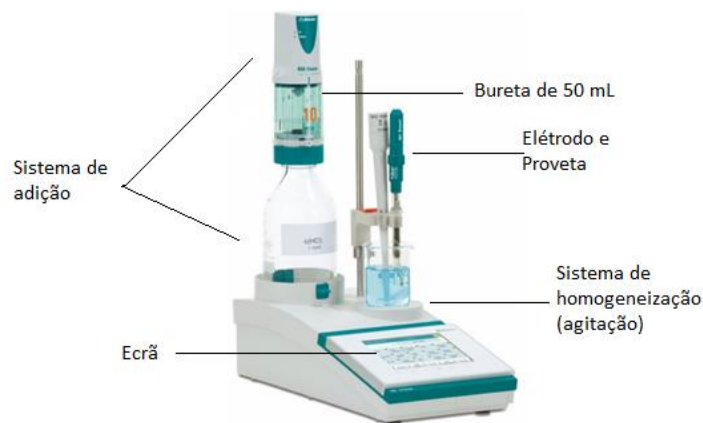


Figura 4: Titulador volumétrico da *Metrohm* adquirido pela unidade fabril de Pombal da *Sumol+Compal 916 Ti-Touch*, combinando, num único equipamento, a unidade de titulação, agitador magnético e ecrã *touch screen*.

O equipamento *916 Ti-Touch* tem incorporado modos programados para a execução da titulação, dos quais se destacam [19]:

- **Titulação ponto de equivalência dinâmico** (*Dynamic equivalence point titration* - DET) consistindo na adição automática de volumes variáveis de titulante, procurando obter variações constantes no sinal analítico tal como ilustrado na Figura 5A;
- **Titulação ponto de equivalência monotónico** (*Monotonic equivalence point titration* - MET) consistindo na adição automática de volumes constantes do titulante tal como ilustrado na Figura 5B;
- **Titulação de ponto final** (*Specified Endpoints Titration* - SET) consistindo na adição contínua do titulante até atingir um ponto final pré-definido (Figura 5C);
- **Titulação mantendo determinado valor constante** (*Titration with constant maintenance of the measured value* - STAT) consistindo na adição do titulante até um valor pré-determinado. A partir desse ponto, havendo desvios em relação ao valor, em resultado, por exemplo, de uma reação enzimática, prossegue-se a adição do titulante, permitindo, a partir da taxa de adição, determinar a atividade da enzima (Figura 5D);
- **Titulação Manual** (*Manual titration* - MAT) consistindo no controlo manual dos volumes adicionados do titulante, em titulações visuais ou com base na curva de titulação construída a partir das leituras de um sensor.

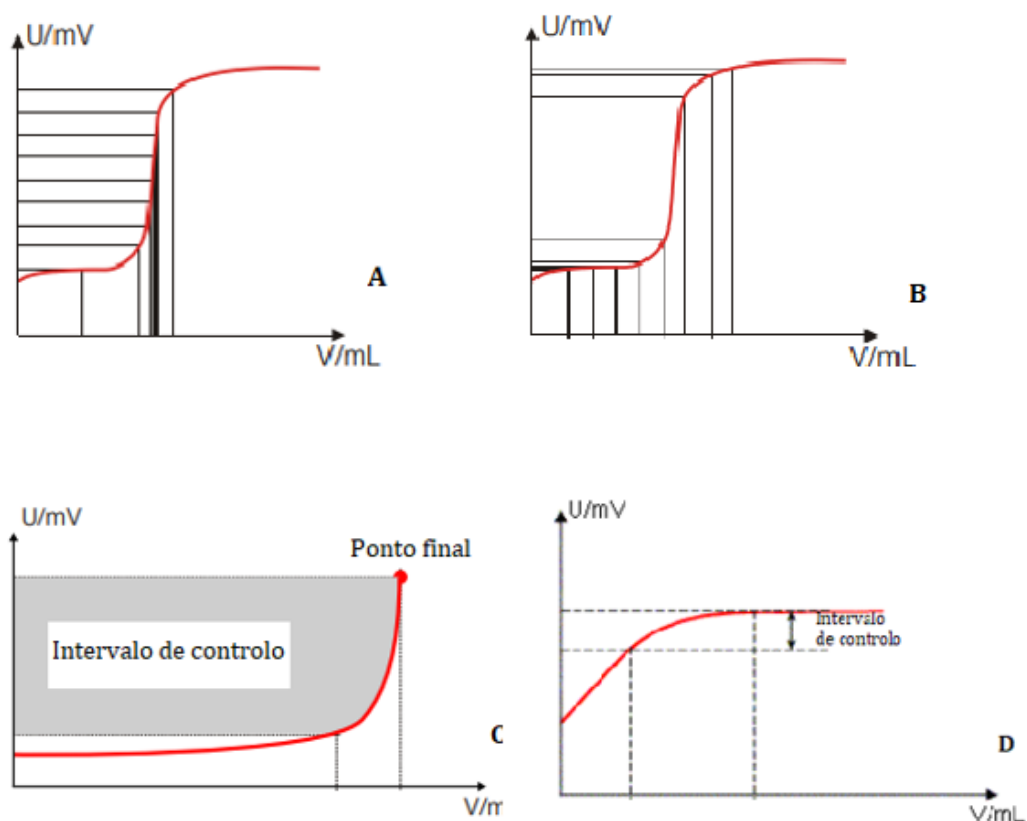


Figura 5: Representações esquemáticas dos diferentes tipos de titulação automática. A) DET; B) MET; C) SET; D) STAT.

Numa titulação, o PE é acompanhado pela mudança brusca de uma propriedade física ou química no titulado, através do qual este pode ser detetado [20]. O titulador *916 Ti-Touch* permite realizar titulações potenciométricas, voltamétricas ou amperométricas, conforme as propriedades elétricas acompanhadas ao longo da titulação sejam [19]:

- **Diferenças de potencial (d.d.p.)** entre um eléctrodo indicador, em contato com a amostra, e um eléctrodo de referência, apresentadas numa escala de mV ou de valores de pH (obtidos através da equação de *Nernst*);
- **Voltagens** com corrente de polarização seleccionável;
- **Intensidades de corrente elétrica** com voltagem de polarização seleccionável.

Para além da deteção do PE por princípios eletroquímicos, o *916 Ti-Touch* permite ainda a realização de titulações fotométricas, condutimétricas ou termométricas [21].

No caso deste trabalho optou-se por realizar uma titulação de ponto final (SET), sendo esta uma titulação potenciométrica.

1.5 Validação dos resultados obtidos com o titulador automático 916 Ti-Touch

A validação de um método é interpretada por Thompson *et al*, como a análise do método através da recolha de resultados analíticos fiáveis e com um nível de incerteza aceitável [22]. Deste modo, a validação de um método analítico surge como um primeiro patamar da garantia da qualidade no laboratório [22].

A norma NP EN ISO/IEC 17025:2018 referente a “Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração”, considera que a validação de um método analítico garante a credibilidade de um novo processo, de um equipamento e, sobretudo, da metodologia analítica [23]. Deste modo, é imprescindível que os laboratórios demonstrem através da validação, que os métodos internos que praticam diariamente, concedem resultados próximos do valor verdadeiro. Todos os métodos de ensaio devem estar descritos num procedimento experimental e todos os equipamentos que são utilizados pelo laboratório devem estar em bom estado e devidamente calibrados por empresas certificadas [24].

O processo de validação compreende o estudo de parâmetros por [24]:

- ❖ Avaliação indireta que consiste na evidência das características do método avaliando os seguintes aspetos:

Especificidade/Seletividade

- Capacidade do método de identificar e distinguir um analito em particular.

Quantificação

- Curvas de calibração;
- Limiares analíticos do método de ensaio;
- Sensibilidade.

Precisão

- Avalia a dispersão dos resultados entre ensaios independentes através da repetibilidade e reprodutibilidade.

Robustez

- Avalia a sensibilidade que o método apresenta face a pequenas variações.

❖ Avaliação direta que pretende estudar a exatidão dos métodos de ensaio. Sendo esta estabelecida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio laboratorial e o valor de referência que é considerado o valor verdadeiro desse mesmo método. Os processos que comumente são utilizados para fazer essa análise são [24]:

Materiais de Referência Certificados

- Utiliza-se MRC para ensaios laboratoriais e comparam-se os resultados com os seus valores reais.

Ensaio Interlaboratoriais

- Realiza-se ensaios entre laboratórios com o intuito de comparar resultados.

Testes comparativos

- Utiliza-se dois instrumentos de medição de forma a comparar resultados.

Uma vez que, na empresa existe um equipamento com a mesma finalidade, anteriormente validado para a determinação de acidez, sendo este o titulador *848 Titrino Plus*, cuja calibração é realizada anualmente por um laboratório acreditado (certificado de calibração em Anexo 8 e verificado com padrões de pH diariamente, optou-se por realizar um teste comparativo do desempenho do titulador *916 Ti-Touch* com o *848 Titrino Plus*.

A finalidade deste tipo de teste é estudar o grau de proximidade dos resultados obtidos pelos dois tituladores, ou seja, avaliar a veracidade e exatidão do titulador novo relativamente ao utilizado até aqui na empresa [24,25].

Deste modo, realizam-se n_1 ensaios utilizando o titulador *848 Titrino Plus*, e n_2 ensaios utilizando o titulador *916 Ti-Touch*. Estes ensaios serão realizados sobre a mesma amostra, nas mesmas condições. Após a recolha de resultados, calcula-se a média dos mesmos (X_{m1} e X_{m2}) e respetivos desvios-padrão (s_1 e s_2), para cada equipamento [24,26].

De forma a validar se os dados recolhidos são confiáveis, ou seja, verificar a precisão e repetibilidade de um método de ensaio, calcula-se o coeficiente de variação dado pela seguinte fórmula [26]:

$$CV (\%) = \frac{S}{X_m} * 100$$

Onde,

S- Desvio padrão dos resultados

X_m - Média dos resultados

Se $CV \leq 15\%$, conclui-se que os resultados são homogéneos, apresentam uma baixa dispersão;

Se CV estiver compreendido entre 15 e 30%, os resultados apresentam uma dispersão média;

Se $CV \geq 30\%$, conclui-se que os dados são heterógenos, portanto apresentam uma dispersão alta.

Posto isto constata-se que quanto menor o CV mais homogeneidade apresentam os resultados obtidos.

Posteriormente, e assumindo que os resultados obtidos seguem uma distribuição normal, recorre-se à estatística para analisar os resultados obtidos. Através do teste estatístico denominado teste comparação de médias que utiliza teste t de *Student*, descoberto por *W. S. Gossett* [20], analisam-se os resultados obtidos a partir dos dois instrumentos sobre a mesma amostra, utilizando o mesmo método de ensaio. Para tal não é necessário que o número de ensaios seja realizado para os dois instrumentos, uma vez que a análise vai ser feita com base na média dos resultados [24].

Este teste prevê que seja realizada a comparação entre dois valores de t , o experimental designado por t_{exp} , em valor absoluto, e o tabelado designado por t_{tab} , sendo considerado como critério de aceitação [24,26]:

$$|t_{exp}| \leq t_{tab}$$

Para determinar qual a forma correta de calcular os valores de t_{exp} , é necessário realizar uma análise de variâncias, através do teste F de *Snedecor/Fisher*, que tem como objetivo verificar se existem diferenças significativas entre as variâncias obtidas pelos dois instrumentos (s^2_1 e s^2_2). Calcula-se da seguinte forma [24]:

$$(1) F_{exp} = \frac{s^2_1}{s^2_2}$$

$$(2) F_{exp} = \frac{s^2_2}{s^2_1}$$

Opta-se pela situação (1) quando $S^2_1 > S^2_2$, e pela situação (2) quando o oposto se verifica. Faz-se uma comparação entre os valores de F_{exp} (valor de F experimental), com os valores tabelados da distribuição de $F(F_{tab})$, para (n-1) graus de liberdade e para um grau de confiança de 95% [24,25].

- Se $F_{exp} < F_{tab}$, calcula-se o t_{exp} para duas amostras com variâncias iguais, com base nas seguintes fórmulas:

$$t_{exp} = \frac{\{X_{m1} - X_{m2}\}}{s * \sqrt{\left(\frac{1}{n1} + \frac{1}{n2}\right)}}$$

Sendo,

$$s^2 = \frac{\{(n_1 - 1) * s^2_1 + (n_2 - 1) * s^2_2\}}{\{n_1 + n_2 - 2\}}$$

Compara-se o t_{exp} (em valor absoluto) com o t_{tab} para um grau de confiança de 95% e $\{n_1 + n_2 - 2\}$ graus de liberdade. Se o primeiro for inferior ou igual ao segundo, conclui-se que os dois instrumentos não apresentam desvios significativos [26].

Deste modo, conclui-se, estatisticamente que os resultados obtidos pelos dois instrumentos não apresentam desvios significativos se t_{exp} (em valor absoluto) for inferior ao t_{tab} [24].

2. Procedimento experimental

Neste trabalho utilizaram-se dois tituladores potenciométricos automáticos da *Methrom*: *916 Ti-Touch* e *848 Titrino Plus*. Os dois tituladores diferem na tecnologia, mas principalmente no tamanho da bureta que no caso do modelo *848 Titrino Plus* é de 20,00 ml, o que para alguns dos produtos que são analisados na empresa não é suficiente para uma resposta rápida.

No trabalho experimental foram utilizados outros equipamentos como o descarbonatador *SOMEX*.

Para a implementação e validação do funcionamento do Titulador Automático da *Metrohm*, modelo *916 Ti-Touch* foram utilizadas metodologias de acordo com as instruções internas da *Sumol+Compal*, as quais descrevem, detalhadamente, todos os procedimentos de análise.

Neste capítulo serão, primeiramente, abordadas as metodologias de preparação do equipamento, posteriormente o tratamento da amostra e por fim, a validação do método analítico.

2.1 Instalação e operacionalização do titulador *916 Ti-Touch*

A instalação do titulador *916 Ti-Touch* foi efetuada por uma empresa externa, a *MT Brandão* e, com base no manual de instruções do equipamento e com auxílio da instrução de trabalho do *848 Titrino Plus*, elaborou-se uma instrução de operação para o titulador [20,27,28].

O programa para a execução da titulação selecionado foi o *SET mode* – que corresponde ao modo de titulação com um ponto final definido (*Specified Endpoints Titration*) - que consiste na adição contínua do titulante até atingir um ponto final pré-definido conforme descrito na Figura 5 da secção 1.4. Este ponto final varia em função das características da amostra e é definido pelo operador no momento da introdução dos valores numéricos para cada um dos parâmetros requeridos pelo software ao iniciar-se a operação e que se descrevem em seguida [19,27]:

➤ **Condições iniciais**

- Volume inicial (V_0) - volume da solução de titulante adicionado inicialmente à amostra.
- Taxa de dosagem - velocidade a que a solução do titulante é adicionado à amostra (30,00 ml/min).
- Pausa - tempo de espera necessário para que ocorra a mistura do titulante com a amostra, reação completa entre titulante e titulado, estabilização do eletrodo e leitura do valor final do pH após a dosagem inicial (20 s).

➤ **Parâmetros de controle**

- Ponto final de titulação - pH que a amostra necessita de atingir para terminar a titulação.
- Dinâmica - define a gama de controlo momentos antes do ponto final de titulação.
- Taxa máxima - taxa na qual a dosagem é realizada fora da gama de controlo.
- Taxa mínima - taxa na qual a dosagem é realizada no início da titulação e no final da titulação.
- Critério de paragem - critério utilizado para terminar a titulação, para além de quando o ponto final é atingido. Pode ser: desvio, tempo ou não ser considerado. É utilizado o critério de desvio 20,00 μ l/min.

➤ **Parâmetros de titulação**

- Direção de titulação - é utilizada a direção positiva do valor medido pela adição do titulante, ou seja, o pH lido irá aumentar.
- Temperatura - temperatura a que a amostra se encontra, 25 °C.
- Intervalo de medição - intervalo de tempo para a medição de pontos (2 s).

➤ **Condições de paragem**

- Volume de paragem - no caso de haver um erro na medição do ponto final de paragem, a titulação termina quando o volume máximo de titulante é doseado (100,00 ml).
- **Velocidade de agitação** - velocidade a que a amostra é agitada enquanto a titulação ocorre. É definida a velocidade 7 que equivale a 850 rpm.
- **Taxa de enchimento** – velocidade a que o cilindro de doseamento é cheio (30,00 ml/min).

Alguns dos parâmetros são transversais a todas as amostras, tendo-se optado por inserir os valores de alguns parâmetros já utilizados no titulador *848 Titrino Plus*. No entanto, de produto para produto existem outros parâmetros que são ajustados caso a caso, de forma a otimizar a resposta do titulador em função das características da amostra. Na tabela seguinte podem ser consultados os valores destes parâmetros para as amostras escolhidas para a realização deste trabalho [29].

Tabela 1: Parâmetros definidos para determinação de acidez em refrigerantes através do titulador automático *916 Ti-Touch* para o modo de titulação SET – *Specified Endpoint Titration*: V_0 – volume inicial adicionado até ao ponto final; pH_{PF} – valor do pH do titulado no ponto final; $T_{máx}$ e $T_{mín}$ – taxa de adição máxima e mínima do titulante.

	V_0 (ml)	pH_{PF}	$T_{máx}$ (ml/min)	$T_{mín}$ (μ l/min)
<i>Refrigerante A</i>	4,00	8,30	3,00	1,00
<i>Refrigerante B e F</i>	17,00	8,75	10,00	4,00
<i>Refrigerante C</i>	30,00	8,10	6,00	15,00
<i>Refrigerante D</i>	70,00	8,20	10,00	10,00
<i>Refrigerante E</i>	3,00	8,10	5,00	1,00

Finalizadas as configurações do *916 Ti-Touch*, procedeu-se à sua calibração. Este método seguiu uma instrução interna da *Sumol+Compal* para a utilização do titulador *848 Titrino Plus* com um eléctrodo de vidro combinado, referência 6.0239.100, *Metrohm* [30].

Antes da calibração, reatestou-se o eléctrodo com KCl 3 M, *CHEM-LAB*, CAS nº 7447-40-7, com uma pipeta de *Pasteur* até ao nível logo abaixo do orifício de reposição. De seguida, introduziu-se o eléctrodo num *gobelé* com 40,00 ml de álcool etílico 70%, *CHEM-LAB*, CAS nº 64-17-5, sob agitação durante 10 minutos e passado esse tempo repetiu-se o processo com H₂O destilada. Antes de se emergir o eléctrodo de pH e o sensor de temperatura nas soluções, é imperativo enxaguar ambos com água destilada e secá-los com um papel macio, para evitar contaminações e subsequentemente, erros nas leituras [30,31].

Num copo limpo, colocou-se a solução padrão da *Metrohm* pH 7,00, referência 62307110, e mergulhou-se nela a sonda de temperatura, *Metrohm*, referência 6110300 e o elétrodo de referência. Começou-se por ler a temperatura da solução e consoante o valor lido no painel do titulador, após estabilizar, extrapolou-se com a tabela, em Anexo 1, que faculta o valor de pH em função da temperatura. De seguida, procedeu-se de forma semelhante para os padrões, também da *Metrohm*, de pH 4,00 referência 62307100 e pH 9,00 referência 62307120 [30,31].

Após a verificação dos padrões se estes não estiverem dentro dos intervalos de aceitação referidos na tabela, em Anexo 1, prossegue-se então para a calibração do elétrodo. Esta é realizada a partir de um método específico existente no titulador automático (*Calibration method*) bastando seguir os passos indicados pelo software.

Iniciando o método mencionado em cima, irá aparecer no ecrã do titulador uma secção para colocar a temperatura anteriormente lida com a sonda de temperatura, *Metrohm*, referência 6.1103.000, como demonstrado na Figura 6, de seguida mergulha-se a solução padrão pH 7,00 no elétrodo de referência, e prossegue-se o método de calibração, no fim do pH 7,00 estar calibrado irá aparecer no ecrã essa informação, descrito na Figura 7. Procede-se de forma semelhante para as soluções tampão de pH 4,00 e pH 9,00 [30].

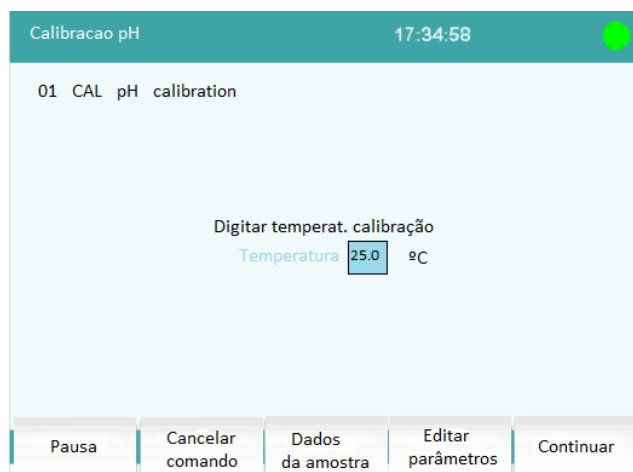


Figura 6: Representação da etapa de inserir a temperatura em °C, antes da calibração do equipamento.

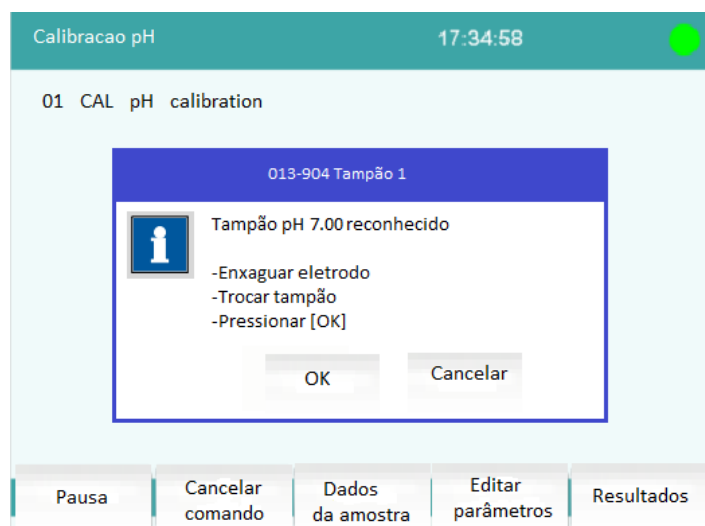


Figura 7: Representação da etapa de reconhecimento da solução tampão, durante calibração do equipamento.

Quando terminada a calibração, no ecrã irão surgir os valores do declive (*Slope*) e ordenada na origem, *pH (0)* da reta de calibração, estes deverão cumprir os valores indicados na tabela abaixo [19]. Após confirmar se estes valores estão conformes, verifica-se novamente os valores registados para o pH para as soluções tampão pH 7,00, 4,00, e 9,00 pelo eletrodo [31].

Tabela 2: Valores limites dos intervalos nos quais os valores de slope e pH (0) devem estar incluídos no final da calibração do eletrodo.

	Limite inferior	Limite superior
Declive, <i>Slope</i>	97,50%	101,00%
Ordenada na origem, <i>pH (0)</i>	6,75	7,25

No caso destes valores não se encontrarem nestes intervalos, o eletrodo deve ser substituído.

2.2 Tratamento da amostra

No presente trabalho foram utilizados seis tipos de refrigerantes. Dois refrigerantes não carbonatados: Refrigerante A em lata e C em embalagem PET; e quatro refrigerantes carbonatados: Refrigerante B, E e F em embalagem PET e D em lata.

As amostras utilizadas para avaliar o desempenho do titulador foram escolhidas de modo a representarem uma vasta gama de volume gasto de NaOH, com a finalidade de compreender se o titulador tem o mesmo comportamento quando utiliza volumes de titulante dentro da capacidade da bureta ou volumes que excedem a sua capacidade. Ou seja, existem amostras que para a determinação da acidez necessitam apenas de utilizar cerca de 5,00 ml do volume total de 50,00 ml, e outras amostras que necessitam cerca de 80,00 ml, o implica a necessidade de voltar a encher a bureta para finalizar a titulação.

A preparação das amostras acima referidas foi realizada seguindo os métodos de ensaio internos implementados na *Sumol+Compal* para cada tipo de produto [32].

Numa primeira fase, procedeu-se à descarbonatação dos refrigerantes carbonatados recorrendo ao equipamento *SOMEX*, representado na Figura 8. Este procedimento é necessário porque o CO₂ presente nas amostras influencia o valor de acidez determinado, este realizou-se de acordo com um método de ensaio interno da *Sumol+Compal* [33]. Para tal, com o auxílio de uma proveta graduada, mediu-se 150,00 ml do refrigerante para um copo de plástico previamente enxaguado com amostra, e colocou-se de imediato a descarbonatar. O refrigerante foi sujeito ao programa 1, predefinido no *SOMEX* para produtos com açúcar, a amostra é sujeita a um caudal de 5,00 L/min de ar comprimido, durante 4 minutos. Este procedimento só foi executado para os refrigerantes carbonatados (B, D, E e F) [32,33].



Figura 8: Instrumento de descarbonatação SOMEX.

Após a amostra estar descarbonatada, a etapa que se segue em continuação da preparação da amostra, varia de produto para produto [32,33]:

❖ **Refrigerante A e E**

- Pipetou-se, com o auxílio de uma pipeta graduada, 25,00 ml da amostra para um *gobelé* de 250,00 ml, perfazendo o volume com água destilada até 100,00 ml, colocou-se de seguida a agitar numa placa de agitação, *Velp Scientifica*, durante 5 minutos a 400 rpm.

❖ **Refrigerante B, C e F**

- Pipetou-se, com o auxílio de uma pipeta graduada, 100,00 ml da amostra descarbonatada para um *gobelé* de 250,00 ml.

❖ **Refrigerante D**

- Pesou-se, numa balança analítica, modelo ML6002/01, *METTLER TOLEDO*, 100,00 g da amostra descarbonatada para um copo de 250,00 ml.

Posteriormente à etapa de preparação, as amostras foram colocadas manualmente nos tituladores automáticos descritos no ponto 1.4., selecionou-se o método para cada uma delas e procedeu-se à titulação das mesmas. A titulação das amostras decorre como descrito em 1.3.

Como mencionado na secção 1.4., nos tituladores automáticos é possível inserir fórmulas que, a partir do volume gasto de NaOH e respetiva concentração calculam automaticamente o valor de acidez. Na tabela seguinte estão demonstradas as fórmulas aplicadas para o cálculo de acidez para cada produto, todas estas fórmulas têm por bases estudos anteriores e métodos de ensaio da *Sumol+Compal* [32].

Tabela 3: Fórmulas para cálculo de acidez e respetivo refrigerante.

PRODUTO	FÓRMULA PARA CALCULAR ACIDEZ
<i>Refrigerante C</i>	Acidez medida (% ACA) = $Y \times M \times 0,06404 \times f$
<i>Refrigerante B e F</i>	Acidez medida (ml NaOH 0.1M / 100ml) = $Y \times f$
<i>Refrigerante A</i>	Acidez medida (g/l ACA) = $Y \times M \times 2,562 \times f$
<i>Refrigerante D</i>	Acidez medida (% ACA) = $Y \times M \times 0,064 \times f$
<i>Refrigerante E</i>	Acidez medida (% ACA) = $Y \times M \times 0,2562 \times f$

Onde,

- Y – ml de NaOH gastos na titulação;
- M ou C_{NaOH} – Molaridade da solução de NaOH 0,10 mol/L;
- *f* - fator de correção da concentração da solução de NaOH calculado a partir da prévia aferição do titulante NaOH (e.g., 1,006);
- Mr – Massa molecular relativa ACA: Mr (ACA)=192,122 g/mol;

$$\text{Eq.-grama ACA: } \frac{192,122}{3} = 64,041$$

Advém da estequiometria da reação.

Fórmula Geral:

$$\% \text{ ACA} = \left[\frac{Y_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}} \times f \times \text{Mr}}{\text{Quantidade amostra} \times 3 \times 1000} \right] \times 100$$

$$\frac{g}{L} \text{ ACA} = \left[\frac{Y_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}} \times \text{Mr}}{\text{Quantidade amostra} \times 3} \right]$$

3. Resultados e Discussão

3.1 Validação do titulador automático

Apesar do titulador ser novo e nunca validado, é de salientar que o método analítico e os seus parâmetros utilizados no desenvolvimento deste trabalho são baseados numa instrução interna da *Sumol+Compal* [29,32] e por isso foi validado anteriormente, deste modo, o laboratório não considera necessário um estudo mais extenso e detalhado do método.

Após se terem efetuado as análises às amostras, através dos métodos anteriormente descritos, foi avaliada com recurso à estatística, a performance do método analítico. A análise estatística dos dados foi realizada com recurso ao *Microsoft Office Excel*[®], que permitiu obter valores de média, desvio-padrão, variância, teste *F* e teste *t*.

Os testes estatísticos descritos anteriormente permitem a comparação dos dados obtidos do trabalho experimental de modo a avaliar o desempenho do novo titulador automático para validação de produtos conformes a partir dos valores da acidez dos mesmos [24].

Os ensaios foram realizados no mesmo dia e, a partir de amostras iguais de produto acabado, ou seja, de produto já embalado, com o mesmo lote e hora de produção. No entanto é impossível reproduzir as amostras exatamente iguais, uma vez que, não é possível pipetar e titular todas as amostras ao mesmo tempo, deste modo, o procedimento foi realizado da forma mais correta para que as amostras fossem as mais semelhantes possíveis.

De seguida são apresentados os resultados dos testes estatísticos obtidos a partir do *Microsoft Office Excel*[®], e posterior avaliação com base em fundamentos teóricos abordados anteriormente. Em Anexos constam as tabelas extensas dos valores resultantes de todo o procedimento experimental.

❖ Refrigerante A

Com fundamento no gráfico seguinte, cujo intuito é demonstrar os valores determinados de acidez com auxílio dos dois tituladores, e com base no desvio-padrão e coeficiente de variação pode-se concluir que o *916 Ti-Touch*, afirma resultados mais discrepantes entre si. No entanto, os resultados obtidos, com um coeficiente de variação 0,822 % apresentam uma homogeneidade elevada. Os limites estabelecidos para a acidez do Refrigerante A, são entre 1,35 e 1,75 g de ACA por L de bebida, e por isso, os dois instrumentos em causa revelam valores dentro do critério de aceitação, apresentando até uma média igual de valores determinados [32].

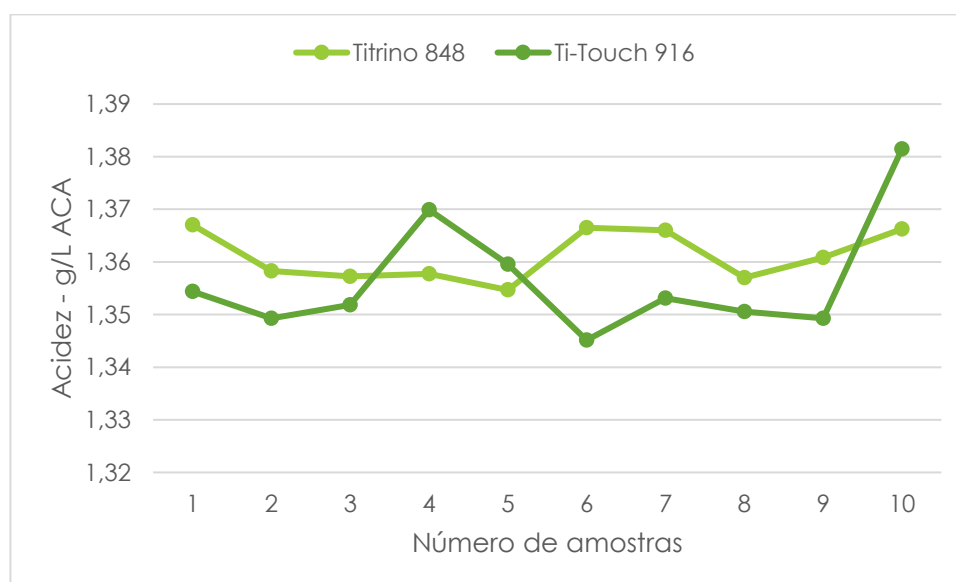


Figura 9: Representação gráfica dos valores de acidez do Refrigerante A, em g/L de ACA, determinados no *916 Ti-Touch* e no *848 Titrino Plus*.

Fundamentado com a parte introdutória dos testes estatísticos, recorreu-se ao teste *F* como meio de verificação da adequabilidade dos valores de acidez determinados a partir do *916 Ti-Touch* em relação ao instrumento em estudo *848 Titrino Plus*. Obteve-se então um valor de teste de 0,186, inferior ao valor crítico de 3,179, para um nível de confiança de 95%, com 9 graus de liberdade. Deste modo, pode-se concluir que as variâncias, dos dois métodos comparados, não têm diferenças estatisticamente significativas.

De forma a comparar a estimativa central e o valor tido como referência, ou seja, a média dos valores de acidez determinados a partir do *916 Ti-Touch* com os valores

determinados com o *848 Titrino Plus*, recorreu-se ao teste *t-student*, para variâncias iguais, com um nível de confiança de 95% e 18 graus de liberdade, obteve-se um valor de t_{exp} de 1,228 que comparado com o valor tabelado t de 2,101, é inferior, assim é possível afirmar que não existe diferença significativa entre as médias de acidez determinadas a partir dos dois tituladores.

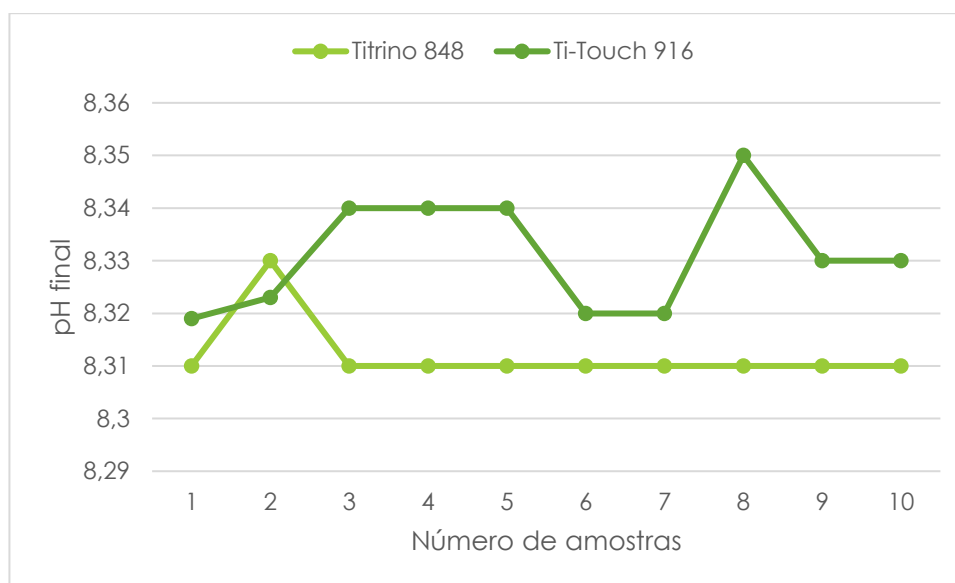


Figura 10: Representação gráfica dos valores de pH finais de titulação do Refrigerante A, determinados no *916 Ti-Touch* e no *848 Titrino Plus*.

Observando os valores de pH final das titulações realizadas, podemos concluir que o *916 Ti-Touch*, apresenta valores um pouco discrepantes entre si, comparativamente ao *848 Titrino Plus*, no entanto apenas um desvio-padrão de 0,01.

Tabela 4: Média da acidez expressa em g/L de ACA, média pH final de titulação, erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.

Instrumento	X_m - g/L	X_m	DP	DP	CV %
	ACA	pH Final	Acidez	pH Final	Acidez
<i>916 Ti-Touch</i>	1,36	8,33	0,011	0,010	0,822
<i>848 Titrino Plus</i>	1,36	8,31	0,005	0,006	0,353
Erro absoluto	0,00	0,02	0,005	0,004	0,469

Após a observação dos testes estatísticos e dos valores determinados com recurso ao *Microsoft Office Excel*[®] pode-se concluir que o *916 Ti-Touch*, para este método analítico é efetivamente concordante com o titulador já utilizado, *848 Titrino Plus*, para a determinação da acidez deste produto em causa.

❖ Refrigerante B

No que diz respeito ao método interno utilizado para a determinação de acidez do Refrigerante B, este é regulado pelo nível de alcalinidade da água utilizada para a produção deste refrigerante, esta é previamente determinada pelo laboratório. A partir do nível de alcalinidade é delimitado o volume de NaOH (ml) utilizado na titulação da amostra e regulada assim a acidez do refrigerante. A produção do lote em causa, foi realizada com uma alcalinidade de 25 ppm CaCO₃, determinando assim o intervalo de 23,09 ml a 24,51 ml [32,34].

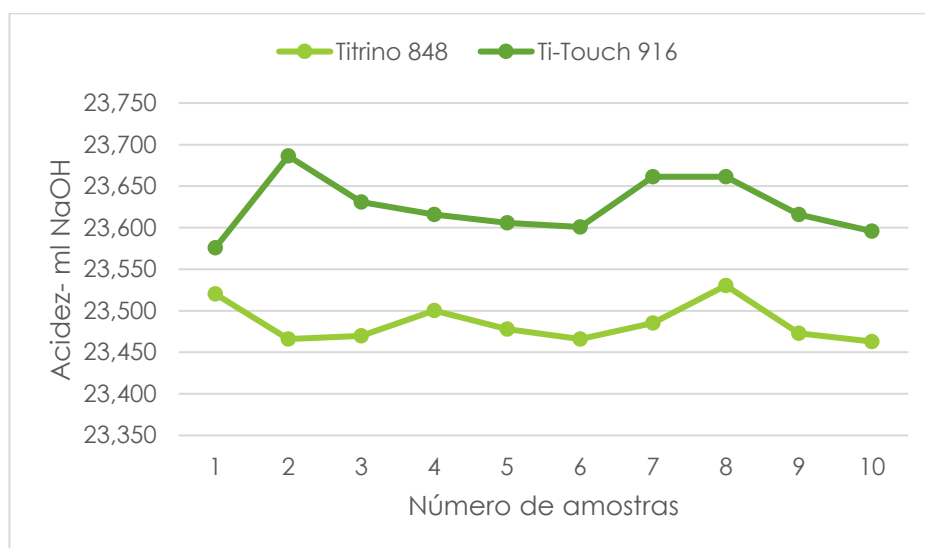


Figura 11: Representação gráfica dos valores de acidez do Refrigerante B, expressa em ml de NaOH por 100,00 ml de amostra, determinados a partir do *848 Titrino Plus* e do *916 Ti-Touch*.

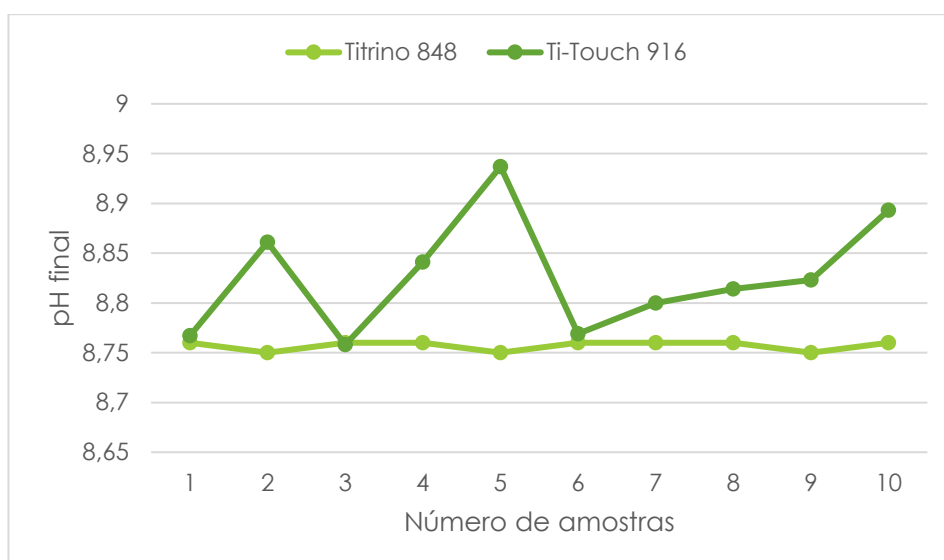


Figura 12: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante B, determinados a partir do 848 *Titrino Plus* e do 916 *Ti-Touch*.

Analisando a Figura 12, depreende-se que os valores de pH final das titulações realizadas no 916 *Ti-Touch*, com uma média de pH de 8,83 [Anexo 3], são relativamente superiores aos valores obtidos a partir do 848 *Titrino Plus*, cujo pontos finais compreendem uma média 8,76 valor este que é muito próximo do desejado, 8,75 como mencionado na Tabela 1 da secção 2.1. Com isto conclui-se que a titulação não finaliza no ponto de equivalência correto e por isso é de esperar valores de titulante doseado superiores, como comprovado pelos dados da Tabela 5.

Tabela 5: Média de acidez do Refrigerante B, expressa em ml de NaOH, média pH final de titulação, erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.

Instrumento	X_m Acidez- ml NaOH/100ml amostra	X_m pH Final	DP Acidez	DP pH Final	CV % Acidez
<i>916 Ti-Touch</i>	23,625	8,83	0,035	0,058	0,147
<i>848 Titrino Plus</i>	23,485	8,76	0,024	0,005	0,102
Erro absoluto	0,140	0,07	0,011	0,053	0,045

Através da análise da Figura 11 e da tabela anterior é possível verificar que o valor de acidez determinada a partir da titulação no *848 Titrino Plus* e no *916 Ti-Touch*, está contido no intervalo de aceitação. No entanto verifica-se que no titulador em análise o valor determinado de acidez é relativamente superior ao calculado pelo instrumento já em uso no laboratório. Apresentado um desvio-padrão de 0,035 que é superior ao desvio-padrão do *848 Titrino Plus* de 0,024.

Com base no teste F , com o objetivo de avaliar as variâncias dos dois métodos, ou seja, avaliar o quão dispersos os valores medidos estão do valor médio, com um nível de confiança de 95% e 9 graus de liberdade, foi determinado o valor de F de 0,477 sendo inferior ao tabelado de 3,179. Deste modo conclui-se que o *916 Ti-Touch* comparativamente ao *Titino 848*, possui uma variância semelhante. No entanto através do teste t , com o propósito de avaliar as médias da acidez determinada a partir dos dois instrumentos, cujo valor determinado de -10,487 é superior ao valor tabelado de 2,101, conclui-se que as médias são estatisticamente diferentes. Neste ponto é de salientar que para ter em conta o valor determinado de t , avalia-se o módulo do mesmo, ou seja, um valor positivo.

Apesar dos resultados do *916 Ti-Touch* apresentarem um coeficiente de variação muito reduzido, ou seja, que os resultados são concordantes entre si e que apresentam uma alta homogeneidade, com suporte de todos os fatores mencionados anteriormente, conclui-se que para o método analítico utilizado para calcular a acidez do Refrigerante B, não é adequado no *916 Ti-Touch*. Posteriormente será de esperar a realização de novos estudos em relação a este método analítico nomeadamente alteração de certos parâmetros descritos em 2.1.

❖ **Refrigerante C**

A partir da análise dos dados representados no gráfico da Figura 13 e na Tabela 6, podemos concluir que apesar do erro absoluto entre as médias de acidez determinada a partir dos dois tituladores não ser de todo discrepante, observa-se que a acidez calculada a partir do *916 Ti-Touch*, é relativamente superior à determinada pelo *848 Titrino Plus*. A partir da análise de variâncias com o auxílio do teste F , obteve-se um valor de 0,106 que é bastante inferior ao valor tabelado de 3,179, por isso conclui-se que os resultados obtidos dos dois equipamentos não apresentam diferenças significativas em termos de variâncias. O mesmo não se pode confirmar quando se trata das médias da acidez calculadas a partir dos dois equipamentos., através do teste t , obteve-se um valor com o

nível de confiança de 95% e 18 graus de liberdade, de 12,754 sendo bastante superior ao valor tabelado de 2,101. Analisando a tabela no Anexo 4, observa-se que os valores de pH no final da titulação e o volume de NaOH utilizado para a mesma, são relativamente superiores no *916 Ti-Touch*. Observando o gráfico da Figura 15 relativo aos pontos finais de titulação, podemos concluir que no *916 Ti-Touch*, as amostras analisadas apresentam uma oscilação relativamente a esses pontos, apresentando um desvio-padrão de 0,044 sendo que o *848 Titrino Plus* apresenta apenas um desvio de 0,004.

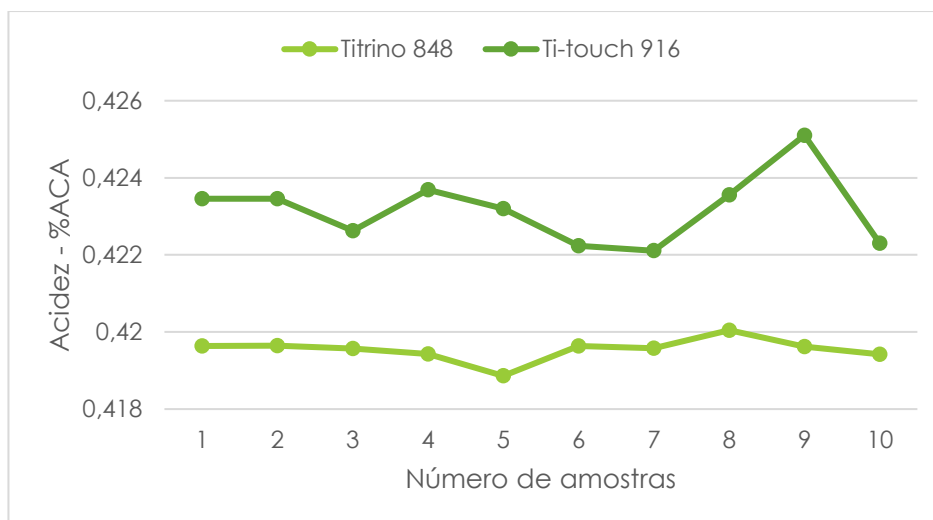


Figura 13: Representação gráfica de % ACA no Refrigerante C, calculado a partir dos dois instrumentos de medição.

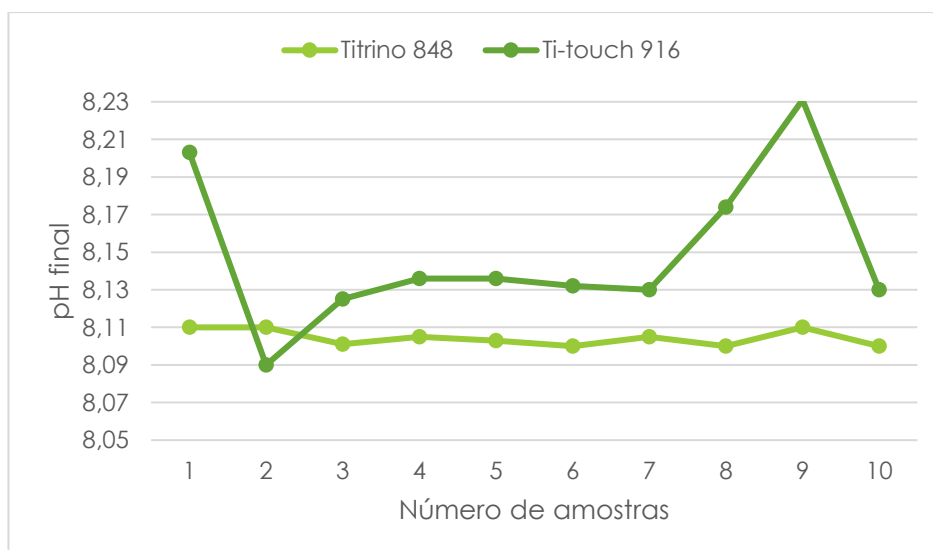


Figura 14: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante C, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.

Apesar de ambos os tituladores possuírem respostas dentro dos critérios internos de aceitação de % ACA para este determinado produto, sendo estas entre 0,400 e 0,500, a exigência interna da empresa determina que todos os instrumentos de medição sejam concordantes entre si e por isso não deverão ser aceites equipamentos que não confirmem respostas iguais.

Tabela 6: Média de acidez do Refrigerante C, expressa em % de ACA, média pH final de titulação erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.

Instrumento	X_m %ACA	X_m pH Final	DP Acidez	DP pH Final	CV% Acidez
<i>916 Ti-Touch</i>	0,423	8,15	0,001	0,044	0,214
<i>848 Titrino Plus</i>	0,420	8,10	0,000	0,004	0,074
Erro absoluto	0,003	0,05	0,001	0,040	0,140

Com isto é possível concluir que para o método analítico para a determinação da acidez do Refrigerante C, não é válido quando implementado no *916 Ti-Touch*. Será de esperar posteriores análises com alterações do método para melhores resultados.

❖ **Refrigerante D**

Relativamente ao Refrigerante D, pode-se concluir através do gráfico da Figura 15 e da Tabela 7 que, aparentemente os resultados obtidos através dos dois instrumentos de medição são muito semelhantes. No entanto é necessário recorrer também aos testes t e F , descritos anteriormente.

Através do teste F , calculou-se o valor de 0,709 sendo este inferior ao valor crítico de 3,179 e através do teste t , determinou-se o valor de 0,619 que é inferior ao valor tabelado de 2,101, com 9 e 18 graus de liberdade, respetivamente e ambos com nível de confiança de 95%

É possível assim concluir que o *916 Ti-Touch* para o método analítico utilizado para o cálculo de acidez deste produto tem respostas semelhantes ao *848 Titrino Plus*.

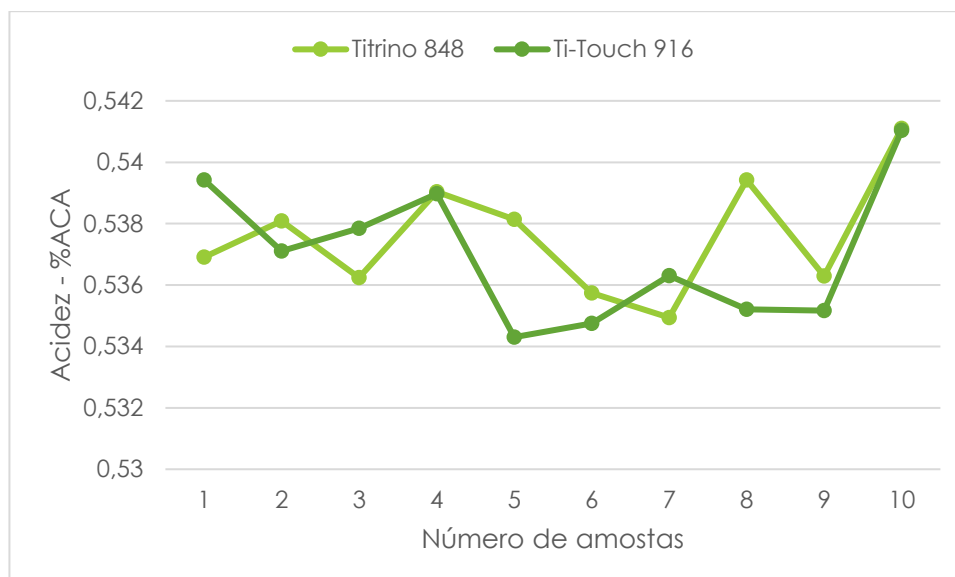


Figura 15: Representação gráfica da acidez do Refrigerante D, expressa em % de ACA determinada nos dois instrumentos de medição.

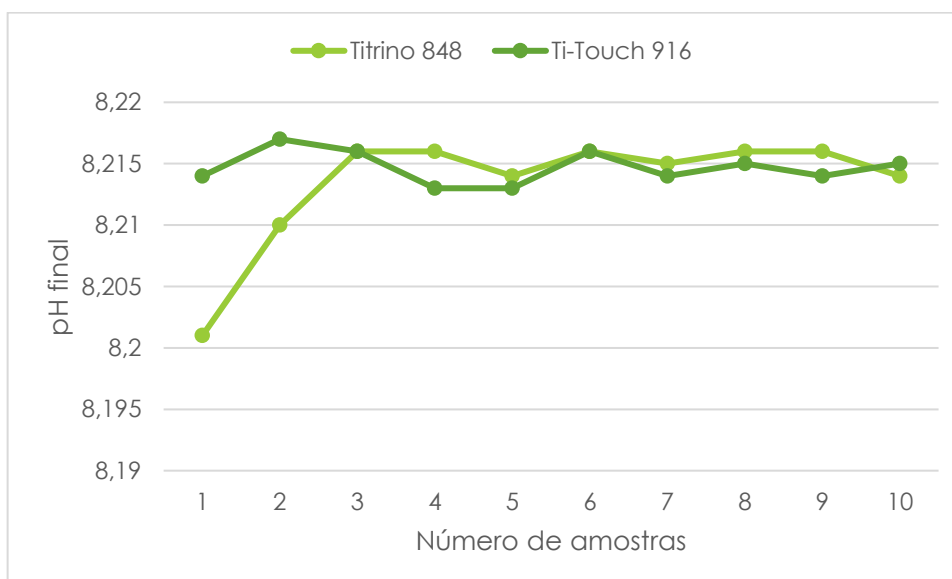


Figura 16: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante B, determinados a partir do 848 *Titrino Plus* e do 916 *Ti-Touch*.

Tabela 7: Média de acidez do Refrigerante D, expressa em % de ACA, pH final de titulação, erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.

Instrumento	X_m %ACA	X_m pH Final	DP Acidez	DP pH Final	CV% Acidez
<i>916 Ti-Touch</i>	0,537	8,22	0,002	0,001	0,400
<i>848 Titrino Plus</i>	0,538	8,21	0,002	0,004	0,336
Erro absoluto	0,001	0,01	0,000	0,003	0,064

Analisando a Figura 16, referente aos pontos finais das titulações realizadas, podemos concluir que para este método analítico os valores são bastantes concordantes entre si, apresentando apenas um erro absoluto entre os pH finais de titulação de 0,002.

Com o objetivo de verificar o comportamento da bureta de medição para diferentes gamas de volume, conclui-se que este tem um comportamento semelhante para volumes reduzidos, aproximadamente 5,00 ml, bem como para volumes maiores de aproximadamente, 80,00 ml. Todavia nos volumes intermédios de cerca de 20,00 ml e de 60,00 ml, o comportamento do instrumento, não é tão preciso e por isso necessita de ajustes.

No geral, é possível concluir que o instrumento em estudo está apto a ser utilizado para alguns produtos, no entanto é necessário proceder-se a novos estudos para o método da determinação de acidez do Refrigerante B e do Refrigerante C, pois o método de análise pode não ser o adequado neste novo instrumento.

Após as análises anteriores e posteriores conclusões, e uma vez que, o titulador *916 Ti-Touch*, equipado com um sistema de adição, denominado dosímetro de 50,00 ml \pm 50,00 μ l apresenta valores de volume gasto de NaOH um pouco discrepantes entre si, com desvios-padrão superiores ao *848 Titrino Plus*, representados nas tabelas em Anexo. Contactou-se o fabricante do equipamento ao qual sugeriu a aquisição de um dosímetro com uma capacidade menor, que consequentemente apresenta um erro menor. Desta forma, adquiriu-se um dosímetro de 20,00 ml \pm 30,00 μ l, na impossibilidade de realizar ensaios nas mesmas amostras anteriormente analisadas, realizaram-se ensaios com outros produtos, mas com volume semelhante de NaOH necessário para a titulação dos mesmos.

❖ Refrigerante E

Em relação ao Refrigerante E, pode-se concluir através da Figura 17, apesar de existir um valor maior, obtido através das titulações no *916 Ti-Touch*, todos os outros valores são relativamente semelhantes apresentando um desvio-padrão de 0,002. No entanto, esses valores comparativamente aos valores obtidos no *848 Titrino Plus*, são relativamente superiores, tal se pode comprovar recorrendo aos testes *t* e *F*, descritos anteriormente.

Através do teste *F*, calculou-se o valor de 0,300 sendo este inferior ao valor tabelado de 3,438 e através do teste *t*, determinou-se o valor de -4,087, considerando o módulo deste valor, é superior ao valor tabelado de 2,120. Posto isto, afirmamos que em termos de variâncias dos resultados não existem diferenças, mas em relação às médias desses mesmo valores, o *916 Ti-Touch*, apresenta valores superiores.

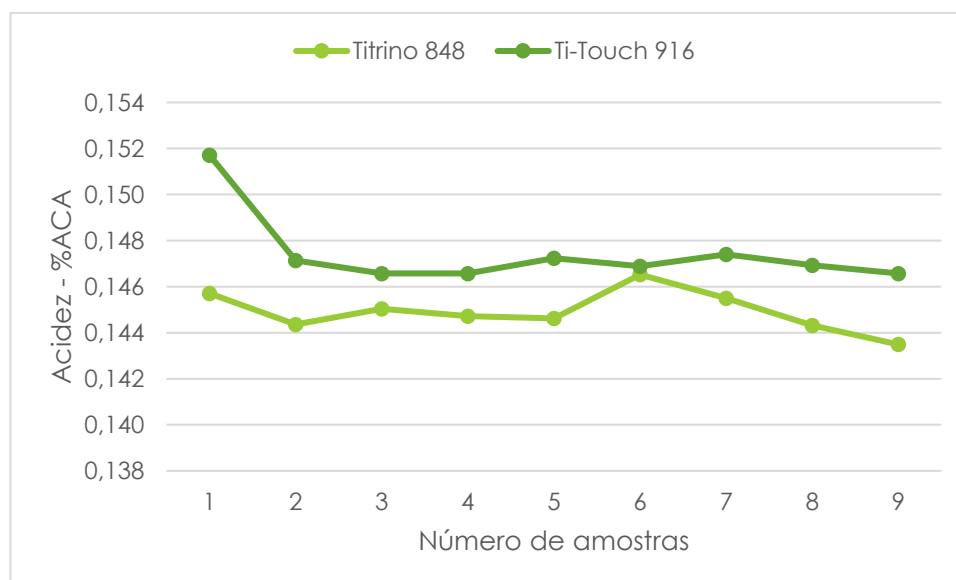


Figura 17: Representação gráfica da acidez do Refrigerante E, expressa em % de ACA determinada nos dois instrumentos de medição.

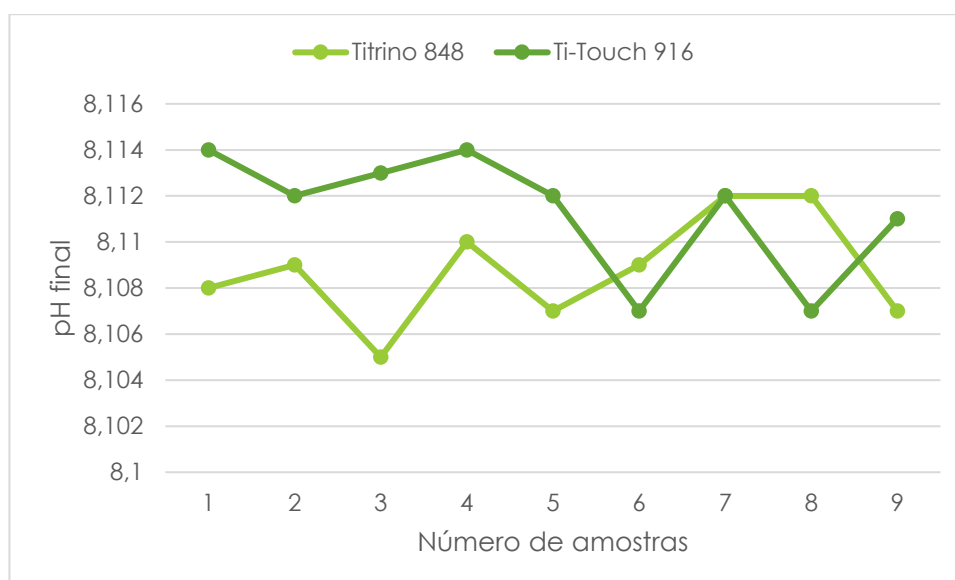


Figura 18: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante E, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.

Relativamente aos pontos finais de titulação, o *916 Ti-Touch*, apresenta uma média de 8,11 cujo valor referência é de 8,10 por isso, concluímos que apresenta valores válidos e com desvio-padrão reduzido, de apenas 0,002. Ou seja, os valores são concordantes entre si.

Tabela 7: Média da acidez expressa em % de ACA, média pH final de titulação, erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respetivos instrumentos de medição.

Instrumento	X_m %ACA	X_m pH Final	DP Acidez	DP pH Final	CV % Acidez
<i>916 Ti-Touch</i>	0,147	8,11	0,002	0,002	1,041
<i>848 Titrino Plus</i>	0,145	8,11	0,001	0,002	0,581
Erro absoluto	0,002	0,00	0,001	0,000	0,461

❖ Refrigerante F

O refrigerante F é o mesmo refrigerante que o designado em cima como B, mas de dias de produção diferente. Relativamente a este produto pelo gráfico seguinte podemos concluir que, o comportamento do *916 Ti-Touch*, com a bureta de 20,00 ml é muito semelhante ao comportamento que este apresenta com a bureta de 50,00 ml, tendo sempre tendência a dosear mais titulante para finalizar a titulação e por isso representar uma acidez mais elevada do refrigerante.

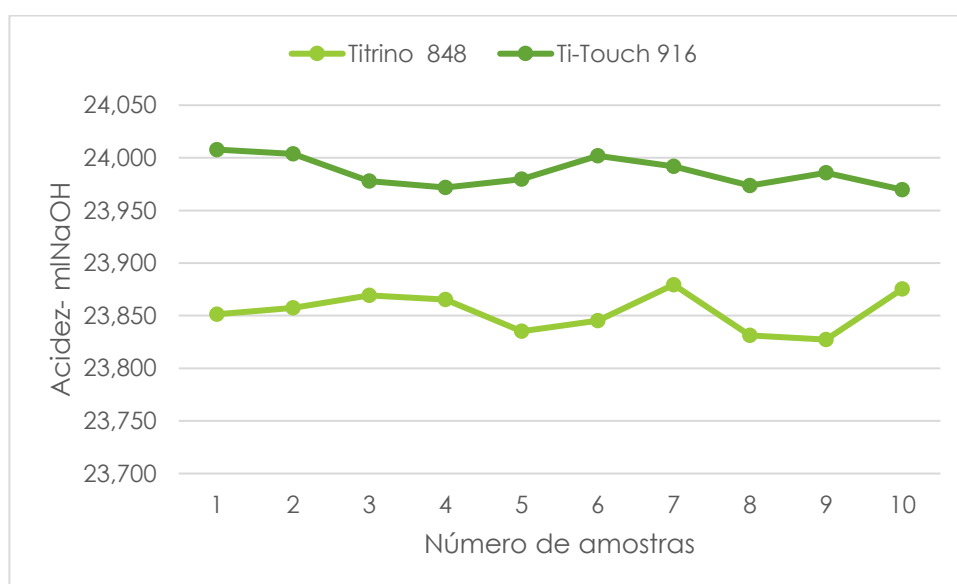


Figura 19: Representação gráfica dos valores de acidez do Refrigerante F, expressa em ml de NaOH por 100 ml de amostra, determinados a partir do *848 Titrino Plus* e do *916 Ti-Touch*.

No entanto analisando os pontos finais de paragem é de notar que com a bureta de 20,00 ml a média destes é de 8,76 e com a bureta de 50,00 ml é de 8,83, sendo que que pH de equivalência para este refrigerante, como mencionado na Tabela 1 em 2.1 é de 8,75. Deste modo concluímos que com a bureta de 20,00 ml o ponto final de titulação é muito mais preciso.

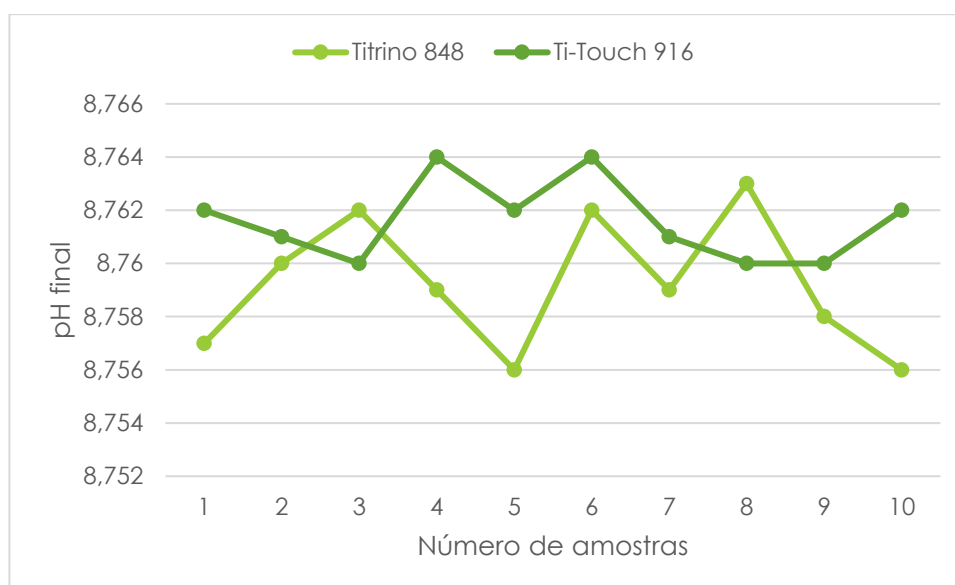


Figura 20: Representação gráfica dos valores de pH final de titulação do Refrigerante F, determinados a partir do 848 Titrino Plus e do 916 Ti-Touch.

Tabela 8: Média de acidez do Refrigerante F, expressa em ml de NaOH, média pH final de titulação, erro absoluto, desvios-padrão, coeficiente de variação (%) e respectivos instrumentos de medição.

Instrumento	X_m Acidez- ml NaOH/100 ml amostra	X_m pH Final	DP Acidez	DP pH Final	CV % Acidez
<i>916 Ti-Touch</i>	23,986	8,762	0,013	0,001	0,056
<i>848 Titrino Plus</i>	23,854	8,759	0,018	0,002	0,074
Erro absoluto	0,132	0,002	0,005	0,001	0,018

Novamente recorrendo aos testes estatísticos para avaliar as variâncias e as médias dos resultados obtidos, obteve-se, para 9 graus de liberdade e 95% grau de confiança um valor de F de 1,744 sendo este inferior ao F tabelado de 3,179, por isso conclui-se que as variâncias dos dois ensaios não são estatisticamente diferentes. Realizando o teste t para amostras com variâncias iguais obteve-se um valor de -17,88 sendo o módulo deste, muito superior ao valor tabelado de 2,101, deste modo conclui-se que este método, bem como com a bureta de 50,00 ml e com esta nova bureta apresenta valores muito superiores aos do titulador em uso.

Após todos os ensaios descritos em cima foi realizado um breve ensaio interlaboratorial com uma marca de referência para um determinado tipo de produto. Para a determinação deste produto em causa, é utilizado o mesmo método de ensaio descrito anteriormente para os refrigerantes B e E, ou seja, tem um ponto final de titulação de 8,75 e a acidez deste é determinada pela alcalinidade da água referente ao dia do enchimento. A marca forneceu amostras deste produto com um intervalo de acidez compreendido entre 39,467-39,6975 ml de NaOH para 100,00 ml de amostra.

Foram realizados apenas 3 ensaios, cujos resultados estão representados na tabela seguinte.

Tabela 9: Resultados de um breve ensaio interlaboratorial.

	<i>848 Titrino Plus</i>			<i>916 Ti-Touch</i>		
Amostra	Volume gasto (ml)	pH final	Acidez (ml)	Volume gasto (ml)	pH final	Acidez (ml)
1	39,212	8,757	39,33	39,448	8,753	39,566
2	--	--	--	39,578	8,752	39,697

Fazendo apenas uma breve análise aos resultados obtidos, podemos concluir que o *916 Ti-Touch*, é o único instrumento que apresenta valores dentro dos critérios que a marca especificou.

Com isto, é de esperar novos ensaios interlaboratoriais com a marca e com materiais de referência certificados.

4. Conclusão

O tema deste trabalho centrou-se na implementação e validação de um método interno para a determinação de acidez em refrigerante através da titulação potenciométrica, num titulador automático, modelo *916 Ti-Touch*, *Metrohm*, com base num método já validado e já aplicado num outro titulador automático, *848 Titrino Plus* para controlo de qualidade interno da *Sumol+Compal*.

Numa fase inicial do trabalho houve o cuidado de realizar uma pesquisa bibliográfica de forma a perceber a melhor forma de validar o instrumento em causa. Segundo as recomendações da IUPAC e ISO procurou-se manter a conformidade com os requisitos legais e internos da *Sumol+Compal*.

Posteriormente ao estudo do tema prosseguiram-se então o procedimento experimental e a validação dos métodos.

No procedimento experimental foram adotados métodos já implementados na empresa para a determinação de acidez em refrigerantes através da titulação potenciométrica automática, sendo que para este estudo foram analisados seis tipos de refrigerantes carbonatados, e refrigerantes não carbonatados. Estes refrigerantes foram selecionados com o intuito de deprender qual o comportamento do instrumento em estudo para diferentes gamas de volume de titulante, NaOH.

Foram realizados ensaios para 10 amostras de cada refrigerante em cada titulador, após a recolha de todos os resultados, procedeu-se à análise de dados com recurso ao *Microsoft Office Excel*[®], com base nos testes estatísticos de análise de variâncias o teste *F* de *Snedecor / Fisher* e análise de médias o teste *t-student*.

Apesar de nos métodos do titulador ser implementado um ponto de equivalência, traduzido em pH, os resultados do *916 Ti-Touch*, revelam que as titulações não finalizam no ponto desejado. Em geral todas as titulações, independentemente do produto em análise gastaram um volume de titulante superior ao *848 Titrino Plus*. No entanto, através do coeficiente de variação foi possível verificar que ambos os tituladores apresentam resultados homogéneos e precisos.

Com a mudança da bureta foi possível concluir que os pontos finais de titulação foram cumpridos, com o implementado no titulador, no entanto o volume gasto de titulante apresenta a mesma tendência que com a bureta de 50ml, serem sempre superiores aos obtidos a partir do *848 Titrino Plus*, titulador anteriormente validado e em uso no laboratório.

Por fim conclui-se que apesar de alguns dos métodos analíticos implementados para a avaliação de acidez dos refrigerantes serem concordantes em ambos os tituladores, existem outros métodos que necessitam de ajustes e novas análises. É de prever também, devido à instabilidade depreendida do equipamento *916 Ti-Touch*, que se realizem constantes comparações entre os tituladores automáticos para perceber se este mostra um comportamento constante e fiável. Serão realizados posteriores ensaios interlaboratoriais com laboratórios certificados e com materiais de referência certificados.

5. Bibliografia

- [1.] **Sumol+Compal.** Sumol+Compal. É da nossa Natureza. [Online] Javali, 2023. <https://sumolcompal.pt/quem-somos>.
- [2.] **Instituto Português da Qualidade.** *Sistemas de Gestão da Qualidade Requisitos.* Rev.4. Caparica: IPQ, 2015.
- [3.] **Instituto Nacional de Estatística.** *Classificação Portuguesa das Actividades Económicas Rev.3.* Lisboa: Instituto Nacional de Estatística, 2007. ISBN 1645-7315.
- [4.] **Shachman, Maurice.** *The Soft Drinks Companion.* Boca Raton: CRC Press, 2004. ISBN-13 978-0849327261.
- [5.] **Associação Portuguesa de Bebidas Refrescantes Não Alcoólicas .** PROBEB . [Online] Netmais. <https://www.probeb.pt/>.
- [6.] **Diário da República.** Portaria nº703/96, de 6 de dezembro. *Ministérios da Economia, da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, da Saúde e do Ambiente.*
- [7.] **Diário da República.** Decreto-lei 188/2005, de 4 de Novembro. *Ministérios da Economia, da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, da Saúde e do Ambiente*
- [8.] **Jornal Oficial da União Europeia.** Regulamento (CE) nº 231/2012 do Parlamento Europeu e Conselho, de 9 de março de 2012. *relativo aos aditivos alimentares.*
- [9.] **Vieira, Fátima.** Impacto da alteração da embalagem na validade do produto: validação de testes acelerados em refrigerantes. [ed.] Universidade do Minho, Escola de Engenharia. 2017.
- [10.] **Sumol+Compal, SA.** *Documento Interno - Memória descritiva.* [ed.] disponível em intranet da Sumol+Compal. Rev.01, 2017.
- [11.] **Ribeiro, Tânia.** Desenvolvimento de novo conceito de refrigerante. [ed.] Faculdade de Ciências e Tecnologia: Universidade de Lisboa. Rev.01, dezembro de 2011.
- [12.] **Celestino, Sonia.** Produção de Refrigerantes de Frutas. [ed.] Embrapa. 1, 2010.

- [13.] **Ashurst, Philip R.** *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*. 3ª. Oxford: Wiley Blackwell, 2016. ISBN 9781444333817.
- [14.] **Silva, Fernando.** Controlo de um pasteurizados com um autómato programável. [ed.] Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto. Rev.01, junho de 2018.
- [15.] **Ezequiel, Manuel.** Ensaio De Tratamentos Térmicos Em Vinhos Tintos: Efeitos na composição Físico-Química e análise sensorial. [ed.] Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa. 2010.
- [16.] **METTLER TOLEDO.** An Introduction to Acidity: Selected Techniques to Monitor pH and Acids. [ed.] METTLER TOLEDO Group. 2021.
- [17.] **Food Ingredients Brasil.** *A acidez nos alimentos*. s.l. : insumos, 2022. revista-fi.
- [18.] **Vasconcelos, Nadja.** *Fundamentos de Química Analítica Quantitativa*. 2ª. Fortaleza - Ceará : EdUECE, 2019.
- [19.] **Metrohm.** *Metrohm 916 Ti-Touch User Manual*. Herisau, Switzerland: Metrohm AG, 2021. 8.916.8005EN.
- [20.] **Skoog, Douglas, et al.** *Fundamentos de Química Analítica*. 8ª. s.l. : Thomson Learning, 2006. ISBN 9788522104369.
- [21.] **Hoffmann, Doris.** Recognition of endpoints. 2021.
- [22.] **Thompson, Michael, Ellison, Stephen e Wood, Roger.** *Harmonized Guidelines for Singles-Laboratory Validation of Methods of Analysis*. s.l. : Pure and Applied Chemistry - IUPAC, 2002.
- [23.] **ISO - International Organization for Standardization.** *ISO 17025:2018 - General requirements for the competence of testing and calibration laboratorie*. 2018.
- [24.] **Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal - RELACRE.** *Guia RELACRE 13: Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química*. s.l. RELACRE, 2000. ISBN 972-8574-02-9.
- [25.] **Calçada, Susana.** Validação de Métodos Físico-Químicos. 2017.
- [26.] **Miller, James e Miller, Jane.** *Statistics and Chemometrics*. 6ª. Harlow: Pearson, 2010. ISBN 978-0-273-73042-2.

- [27.] **Sumol+Compal.** Documento interno D0433-065: Operação com o Titulador Automático Modelo 848 Titrino Plus. [ed.] Disponível em intranet Sumol+Compal. Rev. 01, 2016.
- [28.] **Sumol+Compal.** Documento interno D0416-39: Titulador Automático 916 Ti-Touch. Disponível em intranet Sumol+Compal. Rev. 01, 2023.
- [29.] **Sumol+Compal.** Documento interno D0433-034: Métodos para Determinação da Acidez no Titulador Automático. Disponível em intranet Sumol+Compal. Rev. 01, 2015.
- [30.] **Sumol+Compal.** Documento interno D0433-013: Calibração Analítica de Potenciômetros. Disponível em intranet Sumol+Compal. Rev. 02, 2015.
- [31.] **Sumol+Compal.** Documento interno D0433-033: Valores de pH das soluções padrão em função da temperatura. Disponível em intranet Sumol+Compal. Rev. 01, 2022.
- [32.] **Sumol+Compal.** Documento interno D0574-005: Determinação da Acidez. Disponível em intranet Sumol+Compal. Rev. 03, 2021.
- [33.] **Sumol+Compal.** Documento interno D0433-050: Operação com o Descarboxilador - SOMEX. Disponível em intranet Sumol+Compal. Rev. 01, 2015.
- [34.] **Sumol+Compal.** Documento interno D0201-107: Especificações de Acidez Titulável. Disponível em intranet Sumol+Compal. Rev. 12, 2023.

6. Anexos

Anexo 1- Tabela dos Valores de pH das soluções padrão em função da temperatura

Temperatura (° C)	Soluções Padrão		
	pH 4	pH 7	pH 9
10.0 – 10.5	3.99	7.06	9.13
10.6 – 11.4	3.99	7.06	9.12
11.5	3.99	7.05	9.12
11.6 – 12.5	3.99	7.05	9.11
12.6 – 13.5	3.99	7.05	9.10
13.6 – 13.7	3.99	7.05	9.09
13.8 – 14.5	3.99	7.04	9.09
14.6 – 15.6	3.99	7.04	9.08
15.7 – 16.8	3.99	7.04	9.07
16.9 – 17.9	3.99	7.04	9.06
18.0 – 18.1	3.99	7.03	9.06
18.2 – 18.9	3.99	7.03	9.05
19.0 – 19.3	3.99	7.02	9.05
19.4 – 20.6	3.99	7.02	9.04
20.7 – 21.4	3.99	7.02	9.03
21.5 – 21.8	3.99	7.01	9.03
21.9	3.99	7.01	9.02
22.0 – 23.1	3.99	7.01	9.02
23.2 – 23.4	3.99	7.01	9.01
23.5 – 23.9	4.00	7.01	9.01
24.0 – 24.9	4.00	7.00	9.01
25.0 – 25.3	4.00	7.00	9.00
25.4 – 26.0	4.00	7.00	8.99
26.1 – 26.7	4.00	7.00	8.98
26.8 – 27.0	4.00	7.00	8.97

Válido apenas para soluções padrão Metrohm

Anexo 2- Tabela com os resultados das titulações realizadas com a mesma amostra do Refrigerante A, no titulador *916 Ti-Touch* e *848 Titrino Plus*.

Amostra	<i>848 Titrino Plus</i>			<i>916 Ti-Touch</i>		
	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (g/L ACA)	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (g/LACA)
1	8,31	5,304	1,37	8,32	5,255	1,35
2	8,33	5,270	1,36	8,32	5,235	1,35
3	8,31	5,266	1,36	8,34	5,245	1,35
4	8,31	5,268	1,36	8,34	5,315	1,37
5	8,31	5,256	1,35	8,34	5,275	1,36
6	8,31	5,302	1,37	8,32	5,219	1,35
7	8,31	5,300	1,37	8,32	5,250	1,35
8	8,31	5,265	1,36	8,35	5,240	1,35
9	8,31	5,280	1,36	8,33	5,235	1,35
10	8,31	5,301	1,37	8,33	5,360	1,38
Média	8,31	5,278	1,360	8,33	5,263	1,356
Desvio-padrão	0,006	0,019	0,005	0,011	0,043	0,011
Variância	4E-05	0,000	2,308E-05	0,000	0,002	0,000
CV (%)	--	--	0,353	--	--	0,822

Anexo 3- Tabela com os resultados das titulações realizadas com a mesma amostra do Refrigerante B, no titulador *916 Ti-Touch* e *848 Titrino Plus*.

	848 Titrino Plus			916 Ti-Touch		
Amostra	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (ml)	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (ml)
1	8,76	23,380	23,520	8,77	23,435	23,576
2	8,75	23,326	23,466	8,86	23,545	23,686
3	8,76	23,330	23,470	8,76	23,490	23,631
4	8,76	23,360	23,500	8,84	23,475	23,616
5	8,75	23,338	23,478	8,94	23,465	23,606
6	8,76	23,326	23,466	8,77	23,460	23,601
7	8,76	23,345	23,485	8,80	23,520	23,661
8	8,76	23,390	23,530	8,81	23,520	23,661
9	8,75	23,333	23,473	8,82	23,475	23,616
10	8,76	23,323	23,463	8,89	23,455	23,596
Média	8,76	23,345	23,485	8,83	23,484	23,625
Desvio-padrão	0,005	0,024	0,024	0,058	0,034	0,035
Variância	2,333E-05	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001
CV (%)	--	--	0,045	--	--	0,147

Anexo 4- Tabela com os resultados das titulações realizadas com a mesma amostra do Refrigerante C, no titulador 916 Ti-Touch e 848 Titrino Plus.

Amostra	848 Titrino Plus			916 Ti-Touch		
	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (% ACA)	pH final	Volume gasto (m)	Acidez (% ACA)
1	8,11	65,136	0,420	8,20	65,730	0,423
2	8,11	65,138	0,420	8,09	65,730	0,423
3	8,10	65,126	0,420	8,13	65,600	0,423
4	8,11	65,104	0,419	8,14	65,765	0,424
5	8,10	65,016	0,419	8,14	65,690	0,423
6	8,10	65,136	0,420	8,13	65,540	0,422
7	8,11	65,128	0,420	8,13	65,520	0,422
8	8,10	65,200	0,420	8,17	65,745	0,424
9	8,11	65,134	0,420	8,23	65,985	0,425
10	8,10	65,103	0,419	8,13	65,550	0,422
Média	8,10	65,122	0,420	8,149	65,686	0,423
Desvio-padrão	0,004	0,048	0,000	0,0437	0,140	0,001
Variância	1,811E-05	2,305E-03	9,569E-08	0,00191	0,020	0,000
CV (%)	--	--	0,074	--	--	0,214

Anexo 5- Tabela com os resultados das titulações realizadas com a mesma amostra do Refrigerante D, no titulador *916 Ti-Touch* e *848 Titrino Plus*.

Amostra	848 Titrino Plus			916 Ti-Touch		
	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (%ACA)	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (% ACA)
1	8,201	83,340	0,537	8,214	83,730	0,539
2	8,210	83,522	0,538	8,217	83,370	0,537
3	8,216	83,236	0,536	8,216	83,485	0,538
4	8,216	83,670	0,539	8,213	83,660	0,539
5	8,214	83,530	0,538	8,213	82,935	0,534
6	8,216	83,158	0,536	8,216	83,005	0,535
7	8,215	83,034	0,535	8,214	83,245	0,536
8	8,216	83,730	0,539	8,215	83,075	0,535
9	8,216	83,244	0,536	8,214	83,070	0,535
10	8,214	83,990	0,541	8,215	83,980	0,541
Média	8,213	83,445	0,538	8,215	83,356	0,537
Desvio-padrão	0,004	0,281	0,002	0,001	0,333	0,002
Variância	2,2489E-05	0,08760271	3,6E-06	1,7889E-06	0,12356	5,12826E-06
CV (%)	--	--	0,336	--	--	0,400

Anexo 6- Tabela com os resultados das titulações realizadas com a mesma amostra do Refrigerante E, no titulador *916 Ti-Touch* e *848 Titrino Plus*.

Amostra	848 Titrino Plus			916 Ti-Touch		
	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (% ACA)	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (% ACA)
1	8,108	5,670	0,146	8,114	5,904	0,152
2	8,109	5,618	0,144	8,112	5,726	0,147
3	8,105	5,644	0,145	8,113	5,704	0,147
4	8,110	5,632	0,145	8,114	5,704	0,147
5	8,107	5,628	0,145	8,112	5,730	0,147
6	8,109	5,702	0,147	8,107	5,716	0,147
7	8,112	5,662	0,145	8,112	5,736	0,147
8	8,112	5,616	0,144	8,107	5,718	0,147
9	8,107	5,584	0,143	8,111	5,704	0,147
Média	8,109	5,640	0,145	8,111	5,738	0,147
Desvio-padrão	0,002	0,033	0,001	0,002	0,060	0,002
Variância	0,0000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000
CV (%)	--	--	0,581	--	--	1,041

Anexo 7- Tabela com os resultados das titulações realizadas com a mesma amostra do Refrigerante F, no titulador *916 Ti-Touch* e *848 Titrino Plus*.

Amostra	848 Titrino Plus			916 Ti-Touch		
	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (ml)	pH final	Volume gasto (ml)	Acidez (ml)
1	8,757	23,780	23,851	8,762	23,936	24,008
2	8,760	23,786	23,857	8,761	23,932	24,004
3	8,762	23,798	23,869	8,760	23,906	23,978
4	8,759	23,794	23,865	8,764	23,900	23,972
5	8,756	23,764	23,835	8,762	23,908	23,980
6	8,762	23,774	23,845	8,764	23,930	24,002
7	8,759	23,808	23,879	8,761	23,920	23,992
8	8,763	23,760	23,831	8,760	23,902	23,974
9	8,758	23,756	23,827	8,760	23,914	23,986
10	8,756	23,804	23,875	8,762	23,898	23,970
Média	8,759	23,782	23,854	8,762	23,915	23,986
Desvio-padrão	0,002	0,018	0,018	0,001	0,013	0,013
Variância	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
CV (%)	--	--	0,074	--	--	0,056

Anexo 8- Certificado de calibração do titulador 848 Titrino Plus.

ID: 10007439

Certificado Conforme
Equipamento apto

Adf
08.01.2023



Laboratório metrológico de:
SOQUÍMICA
Sociedade de Representações de Química, Lda
R. Coronel Santos Pedrosa, 15
1500 - 207 LISBOA
Tel. 21 716 51 60
Fax. 21 716 51 69
email. soquilab@soquimica.pt

Certificado de Calibração

Nº do Certificado: 23.01.1029
Data da Calibração: 31 janeiro 2023

Entidade Proprietária:
Sumol+Compal Marcas, S.A.
Zona Industrial da Formiga
3100-517 POMBAL

Instrumento de Medição: Titulador
Marca: Metrohm ; Modelo: 848
Nº Série: 1848001023191 ; Nº Interno: L-POT-2922
Intervalo de indicação / Resol.- (mV): 0 a +/- 1200,0 /0,1
Intervalo de indicação / Resol.- (pH): 0,000 a 14,000 / 0,001
Intervalo de indicação / Resol.- (°C): -150,0 a 250,0/ 0,1

Documentos de referência:
Procedimento Técnico 04.8 (out/2018) - Calibração de Tituladores / Medidores de pH.
EA-4/02 M:2022 - Evaluation of the Uncertainty of Measurement In Calibration
Os resultados dos ensaios estão indicados nas páginas seguintes do presente certificado.
Nesta calibração foram utilizados instrumentos de referência cujas incertezas e rastreabilidades são indicadas na página seguinte do presente certificado.

Operação Efectuada:
Calibração.
Salvo indicação em contrário, no campo de observações, os ensaios de calibração foram realizados nas instalações do cliente no local acima descrito.

Incerteza:
As incertezas expandidas de medição, (U), foram estimadas de acordo com a metodologia da recomendação EA-4/02, para um intervalo de confiança de 95,45%, com o factor de expansão (k) indicado, correspondente ao número de graus efectivos de liberdade, v_{eff} , apresentados.
A incerteza combinada, (u_c), foi calculada a partir das contribuições das incertezas provenientes dos meios de referência, do método de calibração, da influência ambiental e outras constantes no procedimento aplicável. A estabilidade a longo-prazo do Instrumento não foi considerada.

Notas:
O IPAC é signatário dos acordos de reconhecimento mútuo da EA para calibrações, ensaios, certificações e inspecções.
O presente certificado possui uma assinatura electrónica. É composto por 3 páginas, a actual e a dos resultados dos ensaios, e só pode ser reproduzido no seu todo.
"PTxx.xx" indica Procedimento Técnico interno do Laboratório.

Os valores que aqui se discriminam são os constantes do Boletim de Ensaios de calibração:
Nº 23.01.1029 de 31 janeiro 2023

Lisboa, 31 de janeiro de 2023

Director do Laboratório SOQUÍMICA

Responsável pela calibração

Eng. José Santos Reis

António Ferreira

Fingerprint: CSC4 EA61 C0A6 B2A9 B89E B827 F25B FB93 4985 1CDA

067D F4A2 75B7 7725 D552 BFE9 2E8B ABE9 6844 673D



Fingerprint: