UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Instituto de Química de São Carlos

GUILHERME TERUAKI KUWAHARA DE TOLEDO

Certificação de candidato a material de referência para fertilizante mineral através da análise estatística de resultados obtidos em ensaio interlaboratorial.

São Carlos

2018

Certificação de candidato a material de referência para fertilizante mineral através da análise estatística de resultados obtidos em ensaio interlaboratorial.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Igor Renato Bertoni Olivares

São Carlos

2018

Exemplar revisado

O exemplar original encontra-se em
acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer imensamente ao meu orientador Igor Renato B. Olivares, pela paciência e orientação compartilhada comigo durante esses anos.

Só posso torcer ter sido capaz de absorver parte do grande conhecimento compartilhado por ele, além da amizade obtida.

Gostaria de agradecer ao professor Vitor H. P. Paccos pelas conversas, conselhos e amizades compartilhadas durante muitos cafés e chás.

Gostaria de agradecer ao IQSC e seus funcionários que direta ou indiretamente tornaram possíveis este trabalho.

Ao CNPQ, CAPES, IQSC e FAPESP pelo apoio financeiro fornecido durante os anos.

Ao LANAGRO-SP pela parceria fornecida que tornou esse projeto possível.

Aos meus colegas de laboratório, que sem eles os anos não teriam sido tão agradáveis como eles foram.

Por fim, mas não menos importante gostaria de agradecer aos meus pais Gilson Raul Toledo e Rosana Tiemi K. Toledo.

Seu apoio e suporte foram a coisa mais importante durante esses anos, sem eles esse trabalho jamais teria sido possível

"A química é absolutamente encantadora. Uma ciência que está de braços eternamente abertos a quem se dispuser a tentar compreendê-la. Uma fonte inesgotável de inspiração e de beleza, que vem caminhando lado a lado com a evolução da humanidade, fornecendo respostas e alternativas a seus questionamentos"

Aldo José Gorgatti Zarbin
21 de agosto de 2014

RESUMO

O Brasil é atualmente um dos maiores contribuintes de produtos agrícolas do cenário mundial. Em 2010, 25% dos produtos agropecuários em circulação no mundo eram de exportação Brasileira. Com o grande desenvolvimento agropecuário, a demanda por materiais de reposição nutricional de solo, como fertilizantes, cresceu na mesma proporção da necessidade pelo controle de qualidade desses materiais. Este controle tem sido feito em laboratórios que operam de acordo com sistemas de gestão da qualidade, os quais fornecem ferramentas e procedimentos que permitem ao laboratório gerenciar e controlar todos os fatores que possam afetar a qualidade de suas análises, sendo os materiais de referência certificados (MRC) primordiais para estes sistemas de gestão. Os MR ou MRCs (Materiais de referência, material de referência certificado) são materiais conhecidos por serem suficientemente homogêneos e estáveis e que trazem em seus certificados os valores de suas propriedades e suas incertezas associadas garantindo sua rastreabilidade metrológica. Neste projeto foi desenvolvido um material de referência para fertilizantes, em parceria com o laboratório de fiscalização do ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, MAPA (LANAGRO). Foram fornecidos 6 kg de fertilizante mineral de utilização via solo, o qual foi processado utilizando-se de métodos como: verificação de tamanho de partícula através de peneiras, homogeneização do material e sua posterior divisão e envase. Este material foi distribuído aos laboratórios participantes de interlaboratorial organizado pelo LANAGRO. Foi avaliada a homogeneidade do material, no qual se determinou que o material se encontra homogêneo segundo a metodologia de avaliação apresentada na ISO GUIA 35 e o uso pretendido desse material (heterogeneidade de até 5%). Foi realizado um estudo

de estabilidade para os elementos: cálcio, cobre, ferro, manganês e zinco onde observou-se que todos os elementos se encontraram com estabilidade aceitável. A caracterização foi realizada através de um estudo interlaboratorial organizado pelo LANAGRO – SP contando com a participação de 13 laboratórios, que analisaram 2 amostras do material em triplicata. Os resultados fornecidos pelos laboratórios foram analisados estatisticamente de forma a fornecer os resultados de concentração esperada para os elementos: Cálcio, cádmio, cobalto, cobre, cromo, chumbo, ferro, magnésio, manganês, molibdênio, níquel e zinco. A incerteza associada a cada elemento de interesse foi determinada seguindo as diretrizes da ISO GUIA 35 e ao final foi produzido um material de referência com os elementos cálcio, cobre, ferro, manganês e zinco certificados e contendo os restantes dos mensurandos como elementos de referência. Foi realizada a publicação de um artigo de revisão na revista *Trends in Analytical Chemistry* intitulado “*Trends in development of certified reference materials for chemical analysis – Focus on food, water, soil and sediment matrices*”

ABSTRACT

Brazil is one of the largest contributors of agricultural products in the world, in 2010 a quarter of the world's agricultural products were of the Brazilian export market. With the great agricultural development, the demand for soil nutritional replacement materials, as fertilizers, grew in the same proportion as the need to control the quality of these materials. This control has been done in laboratories that work according to quality management systems, which offer tools and procedures that allow the laboratory to manage and control all factors that may affect the quality of its analysis. Reference materials or certified reference materials are essential for these management systems. MR or MRC's (certified reference material) are materials known to be sufficiently homogeneous and stable that carry in their certificates the values of their properties and their associated uncertainties, ensuring their metrological traceability. In this project, a reference material for fertilizers was developed in partnership with the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply, MAPA (LANAGRO). 6 kg of mineral fertilizer was provided, which was processed to become a reference material (particle size verification through sieves, homogenization of the material and its subsequent division and packaging). these materials were distributed to the laboratories participating in the interlaboratorial organized by LANAGRO. The material was evaluated for homogeneity where it was determined that the material is homogeneous (heterogeneity under 5%). A stability study was carried out for the elements: calcium, copper, iron, manganese and zinc. It was observed that all the elements met an acceptable stability. The characterization was performed through an interlaboratorial study organized by LANAGRO - SP with the participation of 13 laboratories, which analyzed 2 samples of the material in triplicate. The results

provided by the laboratories were statistically analyzed to provide the expected concentration results for the elements: Calcium, cadmium, cobalt, copper, chromium, lead, iron, magnesium, manganese, molybdenum, nickel and zinc. The uncertainty associated with each element of interest was determined and at the end a reference material with certified calcium, copper, iron, manganese and zinc elements was produced and the remainder of the analytes contained as reference elements. A review article was published in the journal Trends in Analytical Chemistry titled "Trends in development of certified reference materials for chemical analysis - Focus on food, water, soil and sediment matrices"

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Número de laboratórios acreditados no Brasil segundo diferentes sistemas de gestão de qualidade pg.18
- Figura 2** - Número de laboratórios acreditados em entidades de acreditação de aproximadamente 114 países associados ao ILAC pg. 19
- Figura 3** - Ciclo da garantia da qualidade. pg. 20
- Figura 4** - 3 etapas para a produção de um candidato a MRC. pg. 29
- Figura 5** - Representação gráfica de uma distribuição normal pg. 37
- Figura 6** - Exemplo de planejamento de um estudo de homogeneidade de K frascos com n repetições pg. 48
- Figura 7** - Esquema representando um diagrama de Ishikawa de um MRC contendo 3 fontes principais de incerteza e suas fontes associadas pg. 62
- Figura 8** - Agrupamento das informações necessárias em um certificado de material de referência pg. 66
- Figura 9** - Exemplo de homogeneizador automático em V pg. 69
- Figura 10** - Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Ca pg. 74
- Figura 11** - Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Mn pg.74
- Figura 12** - Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Fe pg. 75

Figura 13 - Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Zn pg.75

Figura 14 - Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Cu pg.76

Figura 15 - Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Cr pg.76

Figura 16 - Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Pb pg.77

Figura 17 - Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento K pg.77

Figura 18 - Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Ca pg. 82

Figura 19 - Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Cu pg.82

Figura 20 - Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Fe pg.83

Figura 21 - Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Mn pg.83

Figura 22 - Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Zn pg.84

Figura 23 - Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Ca pg.85

Figura 24 - Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Cu pg.85

Figura 25 - Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Fe pg.86

Figura 26 - Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Mn pg.86

Figura 27 - Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Zn pg.87

Figura 28 - Contribuição relativa de cada componente para a incerteza combinada. AZUL: Ucar, AMARELO: Ults, VERMELHO: Ubb pg.108

Figura 29 - Fluxograma resumindo o método de levantamento de dados utilizado para a produção do artigo pg.111

Figura 30 - Quantidade de artigos relacionados a MRC publicados nos últimos anos pg.111

Figura 31 - Página inicial do artigo publicado na revista *Trends in analytical Chemistry* em sua 100ª edição pg.112

Figura 32 - Capa da 100ª edição da revista *Trends in analytical chemistry*. Trabalho publicado é destaque nesta edição pg.113

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Valores mínimos garantidos para fertilizante com macronutrientes, micronutrientes ou ambos. pg.13
- Tabela 2** - Requisitos gerais sobre a produção de MR e MRC. pg.27
- Tabela 3** Tabela de valores críticos para Glim para α de 0,1 – 0,001 e população de até 10 resultados pg.35
- Tabela 4** - Tabela de valores críticos para Dlim para α de 0,1 – 0,005 e população de até 10 resultados. pg.36
- Tabela 5** - Tabela de valores críticos para teste F unimodal, $\alpha = 0,05$. GL1 Graus de liberdade do numerador, GL2 graus de liberdade do denominador. pg.53
- Tabela 6** - Exemplo de programação de um estudo de estabilidade de longa duração de N meses contendo N amostras utilizando-se do método clássico. Pg. 56
- Tabela 7** - Planejamento geral para um estudo de estabilidade no método isócrono com programação de N meses contendo N amostra. A= Armazenamento em condições que garantam a não degradação. B= Armazenamento nas condições de prateleira estudadas pg.57
- Tabela 8** - Distribuição das análises do estudo de estabilidade pg.71
- Tabela 9** - Resultado das análises das 10 amostras de homogeneidade e suas respectivas repetições. A não ser que especificados, os resultados são apresentados em %. pg.72

Tabela 10 - Resultado do teste de ANOVA para a homogeneidade do material de referência. As unidades são as mesmas encontradas na tabela 9 de resultados

pg.78

Tabela 11 - Análise de homogeneidade dos elementos adicionais analisados pelos laboratórios

pg.79

Tabela 12 - Distribuição das análises do estudo de estabilidade

pg.81

Tabela 13 - Resultados do estudo de estabilidade

pg.81

Tabela 14 - Tabela compilando os resultados da análise de dados do estudo de estabilidade

pg.87

Tabela 15 - Comparação percentual da incerteza em relação a média das médias

pg.88

Tabela 16 - Cálculo da incerteza associada ao tempo de prateleira escolhido (36 meses) para os compostos analisados

pg.89

Tabela 17 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Zn

pg.90

Tabela 18 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Pb

pg.91

Tabela 19 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Ni

pg.91

Tabela 20 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Mo

pg.92

Tabela 21 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Mn

pg.92

Tabela 22 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento

Mg pg.93

Tabela 23 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento

Fe pg.93

Tabela 24 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento

Cu pg.94

Tabela 25 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento

Cr pg.94

Tabela 26 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento

Co pg.95

Tabela 27 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento

Cd pg.95

Tabela 28 - Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento

Ca pg.96

Tabela 29 - Valores de valor médio para o resultado do Interlaboratorial calculado de quatro maneiras distintas, média, mediana, média aparada e média robusta

pg.97

Tabela 30 - Desvio-padrão para os 12 mesurandos, calculados utilizando os diferentes métodos de análise de valor médio

pg.99

Tabela 31 - Incerteza associada ao estudo de estabilidade com tempo de prateleira escolhido em 36 meses

pg.102

Tabela 32 - Grau de homogeneidade e incerteza associada aos elementos de interesse para a homogeneidade entre frascos

pg.102

Tabela 33 - Incerteza associada a caracterização para os elementos de interesse

pg.103

Tabela 34 - Resultados das incertezas associadas aos estudos de caracterização, homogeneidade, estabilidade e a incerteza combinada

pg.104

Tabela 35 - Incerteza combinada, graus de liberdade efetivos e incerteza expandida

pg.106

Tabela 36 - Valor esperado, incerteza associada e fator de expansão para os elementos estudados

pg.107

LISTA DE SIGLAS

ABIQUM - Associação Brasileira da indústria química

ABNT NBR– Associação Brasileira de normas técnicas, norma Brasileira

AMN - *asociación mercosur de normalización*

ANA - Agência Nacional de Águas

ANVISA - Agência nacional de vigilância sanitária

ANP – Agência nacional do petróleo

CNA – Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil

COPANT – *comisión pan-americana de normas técnicas*

CRM/MRC – Certified reference material / Material de referência certificado

CGCRE – Coordenação geral de acreditação

EMBRAPA – Empresa Brasileira de pesquisa agropecuária

EP – Ensaio de proficiência (interlaboratorial)

ISO – International organization for standardization

IEC - International Electrotechnical Commission

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente

ILAC – International Laboratory Accreditation Cooperation

INMETRO – Instituto nacional de metrologia, qualidade e tecnologia

ITU - International Telecommunication Union

LANAGRO-SP – Laboratórios nacionais agropecuários – São Paulo

MAPA - Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento

PIB - Produto Interno Bruto

RBLE – Rede Brasileira de laboratórios de ensaios

RBC – Rede Brasileira de calibração

RM/MR – Reference Material / Material de referência

REMEQ-I – Rede de metrologia química do INMETRO

SGQ - Sistema de Gestão de Qualidade

TQC - Total Quality Control

VIM – vocabulário internacional de metrologia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	A agropecuária no Brasil	12
1.2	Sistema de gestão de qualidade	14
1.3	Materiais de referência e materiais de referência certificados	23
2	OBJETIVOS	25
3	FUNDAMENTOS TEÓRICOS	26
3.1	Produção de um MRC.....	26
3.2	Candidato a material de referência	27
3.3	Preparação do candidato a MRC	28
3.4	Caracterização	29
3.5	Interlaboratorial	30
3.6	Valor de consenso	32
3.6.1	Teste de Grubbs.....	33
3.6.2	Teste de Dixon	35
3.6.3	Média.	38
3.6.4	Mediana	39
3.6.5	Média Aparada	41
3.6.6	Desvio padrão amostral.	42
3.6.7	Quartil (RI).....	43
3.6.8	Desvio Padrão Robusto	45

3.7 Estudo de homogeneidade	47
3.8 Estudo de estabilidade	54
3.8.1 Avaliação da tendência e determinação da estabilidade.....	58
3.9 Estimativa da incerteza	60
3.9 Elaboração do certificado	65
4 PARTE EXPERIMENTAL.....	68
4.1 Produção do MRC.....	68
4.2 Caracterização do MRC.....	69
4.2.1 Avaliação da homogeneidade	69
4.2.2 Avaliação da estabilidade.....	70
4.3 Interlaboratorial e caracterização.....	71
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
5.1 Avaliação da homogeneidade	72
5.2 Estudo de estabilidade	81
5.3 Estudo de caracterização.....	90
5.3 Cálculo da incerteza	101
5.4 Produção de artigo de revisão	109
6 CONCLUSÃO.....	115
REFERÊNCIAS	116
APÊNDICE	120

1 INTRODUÇÃO

1.1 A agropecuária no Brasil

O Brasil é um dos países que apresenta as melhores condições para o desenvolvimento do setor agropecuário, possuindo um clima diversificado, grande incidência de energia solar e chuvas regulares que facilitam a produção desses produtos.

Segundo levantamento da Agencia Brasil e da Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil(CNA) o Brasil contava, em 2015, com 340 milhões de hectares (3,4 milhões de km²) de terras com ótimas condições de plantio¹. Segundo site do governo (<http://www.brasil.gov.br>), a safra de grãos de 2016/2017 produzidos no Brasil fique entre os 228 milhões de toneladas, um aumento de 22% em relação à safra passada². Devido a essa grande produção, em 2017 a agricultura e agropecuária contribuíram com 23.5% do PIB (produto interno bruto) do país, sua maior participação nos últimos 13 ano³.

A grande produção e sucesso do setor agropecuário deve-se, em grande parte, aos avanços científicos e tecnológicos que modernizaram a indústria, possibilitando uma produção maior, mais rápida e mais eficiente. Um desses avanços foi o desenvolvimento de fertilizantes mais eficientes.

Os fertilizantes são produtos fundamentais na agricultura. Devido à extensa utilização do solo e à alta velocidade que as plantas devem ser cultivadas e colhidas, o solo torna-se escasso em nutrientes essenciais ao desenvolvimento das plantas. Deste modo, para contornar esse problema, os fertilizantes são utilizados para suprir as plantas e repor ao solo esses componentes. Alguns dos elementos de interesse

nos fertilizantes são: B, Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, N, Ni P, S e Zn, considerados macro (N, P, K) e micronutrientes, Tabela 1⁴.

Com o crescimento do setor agropecuário a demanda e oferta por fertilizantes aumentou, assim, para permanecerem no mercado, as empresas devem garantir a qualidade de seus produtos, assegurando que as quantidades estipuladas dos componentes que compõem o fertilizante realmente encontrem-se no produto fornecido. A qualidade de um fertilizante é afetada, de modo geral, pelas variações ocorridas durante a produção e as variações ocorridas no sistema de medição utilizado. Desta maneira, para garantir a qualidade e confiabilidade dos resultados analíticos fornecidos pelos laboratórios de controle de qualidade de fertilizantes, tem se popularizado a utilização de sistemas de gestão de qualidade. Dentre esses sistemas destacam se os baseados nos requisitos da ABNT NBR ISO/IEC 17025⁵ (Requisitos Gerais para Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração) (futuramente referido apenas como ISO 17025) (ISO – *International organization for standardization*; IEC - *International Electrotechnical Commission*)^{6, 7} que visam a garantia da confiabilidade do sistema analítico dessas empresas.

Tabela 1 Valores mínimos garantidos para fertilizante com macronutrientes, micronutrientes ou ambos.

Nutriente	Teor mínimo %		Teor Solúvel em H ₂ O %	
	Sólido	Fluído	Sólido	Fluído
B	0,03	0,01	0,02	0,01
Ca	1	0,5	0,5	0,3
Co	0,005	0,005	0,005	0,005
Cu	0,05	0,05	0,05	0,05
Fe	0,2	0,1	0,1	0,02
K	-	-	1	1
Mn	0,05	0,05	0,1	0,02
Mo	0,005	0,005	0,02	0,005
N	-	-	1	1
Ni	0,005	0,005	0,005	0,005
P	-	-	1	1

S	1	0,5	0,5	0,3
Zn	0,1	0,05	0,1	0,05

Fonte: MAPA, Instrução normativa SDA/MAPA nº25⁴

1.2 Sistema de gestão de qualidade

Segundo Olivares, a ideia de qualidade surgiu naturalmente durante as negociações comerciais, uma vez que existe a percepção de que, para um produto ser vendido, este deve não somente atender as necessidades do cliente, mas também superar suas expectativas⁸.

Com o advento da tecnologia e industrialização, a produção começou a ser fragmentada e automatizada. Já na década de 20, existia grande preocupação com a variabilidade encontrada na qualidade dos produtos produzidos na época, o que levou W.A. Shewhart, estatístico norte americano, a desenvolver um sistema de mensuração dessa variabilidade, dando início a era do controle estatístico da qualidade⁹.

O grande avanço da gestão de qualidade ocorreu após a Segunda Guerra Mundial. O Japão, destruído pela guerra, precisava começar seu processo de reconstrução, para isso, a *Japanese Union of Scientist and Engineers* convidou W.E Deming para proferir palestras e cursos visando treinar empresários e acadêmicos sobre os métodos de controle estatístico de processos e sistemas de gestão de qualidade, permitindo ao Japão iniciar uma revolução de conceitos nesta área¹⁰.

Segundo Juran¹⁰ a palavra “qualidade” possui dois significados de extrema importância. O primeiro, está relacionado com a capacidade do produto em atender as necessidades do cliente, nesse sentido, obter um produto de maior qualidade tem a finalidade de aumentar a satisfação do cliente, e assim, criar um produto capaz de

elevar a satisfação do cliente, o que normalmente está relacionado ao um maior lucro. Porém, gerar produtos de maior qualidade normalmente custam mais.

A segunda definição está relacionada à “falta de defeitos” do produto, defeitos esses que acarretariam na necessidade de retrabalho e insatisfação do cliente. Esses produtos de alta qualidade “custam menos” por terem menos defeitos¹⁰.

Para a gestão de qualidade em um laboratório, é possível associar essas duas definições de qualidade na rotina de um laboratório. Por exemplo, a primeira definição pode ser associar a qualidade do resultado de uma análise de pH. Equipamentos simples conseguem fornecer resultados adequados de pH, porém ao investir em melhores equipamentos consegue-se melhor precisão e menores incertezas em seus resultados.

Devido à multiplicidade da definição relacionada a palavra “qualidade”, para Juran¹⁰ a melhor definição seria “adequação ao uso”. Com esse termo a qualidade de um produto está atrelada à relação entre a necessidade do cliente e sua expectativa para o produto.

Além de Juran outros autores tiveram grandes contribuições para o avanço da “qualidade”. Phillip Crosb^{10, 11} ficou conhecido pelo seu conceito de “zero defeito”. Kaoru Ishkawa¹⁰ desenvolveu o diagrama de causa e efeito que veio a ficar conhecido como o diagrama “espinha de peixe” ou diagrama de Ishkawa, o qual se tornou uma ferramenta essencial para a avaliação da relação de causa e efeito quando se deseja descobrir a causa raiz de um problema. Outro grande contribuinte foi Armand Feigenbaum^{10, 12} que introduziu nos Estados Unidos o termo *Total Quality Control* (TQC), um conceito que tem seu foco em uma abordagem do gerenciamento da qualidade que visa o sucesso a longo prazo, através da satisfação do cliente. Os preceitos definidos pelo TQC foram futuramente utilizados como diretrizes na criação

e desenvolvimento do sistema de gestão de qualidade que foi estabelecido pela série de normas ISO 9000 na década de 1980¹⁰.

O conceito de gestão de qualidade também se espalhou para os laboratórios, sendo associado à rastreabilidade e confiabilidade de um resultado analítico. Portanto, para um laboratório, um sistema de gestão de qualidade (SGQ) deve fornecer ferramentas ou procedimentos que permitam que o laboratório controle e gerencie todos os fatores que possam afetar a qualidade de seus resultados.

Existem normas específicas que regulamentam as diretrizes de um sistema de gestão de qualidade em laboratórios. Dentre as mais usadas, vale ressaltar as normas ABNT NBR ISO/IEC 17025/2017 Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração ⁵ (ABNT NBR– Associação Brasileira de normas técnicas) e a BPL (Princípios das Boas Práticas de Laboratório)¹³.

A BPL é focada nos laboratórios que realizam estudos para fins de registro, como no caso de agrotóxicos e medicamentos. Já a ISO 17025 é uma norma mais flexível, podendo ser aplicada a qualquer tipo de laboratório, seja um laboratório de segunda parte para controle de qualidade de processo ou um laboratório de prestação de serviços (terceira parte)^{5, 13}.

As normas técnicas são criadas por organizações internacionais que visam a padronização dos processos por ela descritos. No caso, a ISO 17025 foi desenvolvida pela *International Organization for standardization* (ISO) e pela *International Electrotechnical Commission*.(IEC)⁵

A ISO é uma organização não governamental composta por mais de 160 organismos internacionais de padronização, que colaboram entre si para dividir o

conhecimento e desenvolver especificações para produtos e serviços que ajudem a garantir a qualidade dos produtos e facilitem o comércio com o exterior⁷.

A IEC é uma das três principais entidades que desenvolvem normas de padronização internacionais no mundo. Ela é uma organização não governamental fundada em 1906, e seus membros são os comitês nacionais formados por representantes enviados das indústrias, governos, associações e academias de cada país participante. Atualmente conta com mais de 20.000 especialistas das diferentes áreas. A IEC é a líder mundial no desenvolvimento e publicação de normas internacionais para tecnologias elétricas, eletrônicas e tecnologias relacionadas⁶.

A IEC é uma de três organizações “irmãs” que desenvolvem normas para o mundo (ISO, IEC e *ITU-International Telecommunication Union*). Essas organizações trabalham em conjunto para garantir que as normas criadas por cada instituição se encaixem e se completem. As comissões conjuntas asseguram que as normas internacionais combinem os conhecimentos relevantes de vários especialistas que trabalham nas áreas relacionadas. Foi através de uma dessas colaborações que a ISO 17025 foi desenvolvida.

No Brasil, a ISO/IEC 17025/2017 foi traduzida e distribuída pela ABNT, uma entidade privada sem fins lucrativos, a qual é membro fundador da ISO, da comissão pan-americana de normas técnicas (COPANT – *comisión pan-americana de normas técnicas*) e da associação Mercosul de normalização (AMN - *asociación mercosur de normalización*). Desde sua fundação é membro da IEC, e é responsável pela elaboração das normas Brasileiras (ABNT NBR)¹⁴

Para serem acreditados no sistema de gestão de qualidade conforme os requisitos da ISO 17025 os laboratórios devem submeter o pedido a órgãos específicos, que realizam a avaliação da conformidade do laboratório segundo os

requisitos da norma. No Brasil, o responsável por essa função é o CGCRE/INMETRO (CGCRE – Coordenação geral de acreditação; INMETRO – Instituto nacional de metrologia, qualidade e tecnologia).

A adesão a um sistema de gestão da qualidade não é em si obrigatória. Porém, para que laboratórios prestem serviços para órgãos do governo, como por exemplo: MAPA, ANVISA (ANVISA - Agência nacional de vigilância sanitária), ANA (ANA - Agência Nacional de Águas), IBAMA (IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente), é necessária a acreditação na ISO 17025. Devido a essa exigência o número de laboratórios acreditados pelo CGCRE/INMETRO vem crescendo anualmente (Figura 1).

Figura 1- Número de laboratórios acreditados no Brasil segundo diferentes sistemas de gestão de qualidade.

RBC – Rede Brasileira de calibração; RBLE – Rede Brasileira de laboratórios de ensaios

Fonte: Olivares 2016¹⁵

O reconhecimento formal da implementação de um sistema de gestão de qualidade como a ISO 17025 é realizado por organismos de acreditação em vários

países, através de acordos de reconhecimento mútuo promovidos por grupos como o ILAC (*International Laboratory Accreditation Cooperation*).

O crescimento de laboratórios acreditados em sistemas de gestão de qualidade apresentado na Figura1 é uma tendência observada internacionalmente, como pode ser observado pelo número de laboratórios acreditados em organismos de acreditação de diferentes países que são associados ao ILAC e que fazem a inspeção da conformidade de laboratórios de ensaio e calibração para a acreditação na ISO 17025 e ISO 15189 (Laboratórios clínicos – Requisitos de qualidade e competência¹⁶) (Figura 2).

Figura 2 - Numero de laboratórios acreditados em entidades de acreditação de aproximadamente 114 países associados ao ILAC.

Fonte: Modificado de ILAC¹⁷

Uma análise da ISO 17025 mostra que a norma apresenta em sua estrutura requisitos do sistema de gestão de qualidade que podem ser agrupados em dois

subgrupos Os requisitos de gestão que se relacionam à administração do laboratório, já os requisitos de processos, que estão relacionados ao funcionamento direto do laboratório, como por exemplo: o método, a calibração dos equipamentos, os ensaios realizados, etc⁵.

Dentro dos requisitos de processos podemos destacar três, que são considerados essenciais para a qualidade e confiabilidade de um resultado gerado por um laboratório. Esses requisitos são: validação, estimativa da incerteza e o controle de qualidade (a partir da edição de 2017 da norma o controle de qualidade é chamado de “Garantia da validade”). Esses três requisitos são apresentados no ciclo da garantia da qualidade criado por Olivares e publicado em seu livro *Laboratory Quality Management*^{15, 18} (Figura 3), apresentando o conceito de que a combinação desses três requisitos geram a rastreabilidade desejada em um resultado laboratorial.

Figura 3 - Ciclo da garantia da qualidade.

Fonte: Olivares I. e Lopes (2012)^{15, 18}.

- I- Validação: refere-se à avaliação que deve ser realizada a fim de determinar se o procedimento de medição utilizado é adequado para o objetivo desejado e adequado ao laboratório que o está utilizando.
- II- Estimativa de incerteza: A incerteza é definida pelo VIM como: “Parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão dos valores atribuídos a um mensurando, com base nas informações utilizadas.”. Ela é utilizada para definir-se os limites de confiança de um resultado.
- III- Controle de qualidade ou atualmente conhecida como Qualidade dos resultados ou Garantia da Validade: é a avaliação contínua do laboratório, para garantir que as informações obtidas durante a validação do procedimento e a estimativa de incerteza continuam válidas e representam a realidade e qualidade dos resultados obtidos pelo laboratório.

Para a garantia da validade é essencial a utilização de procedimentos que permitam a detecção e identificação de tendências, para que uma análise crítica possa determinar a influência que esse efeito poderá gerar na qualidade dos resultados obtidos pelo laboratório.

Existem diversas maneiras de realizar-se a garantia da validade de um laboratório, no qual elas podem ser divididas em controles INTERlaboratoriais ou INTRAlaboratoriais. O controle interlaboratorial são as técnicas utilizadas para comparar resultados obtidos por outros laboratórios que realizam o mesmo tipo de análise. Um dos tipos de comparações interlaboratoriais são os ensaios de proficiência, também conhecido apenas por interlaboratorial (EP – Ensaio de proficiência).

O EP é o método mais utilizado, a ISO 17025 determina que o laboratório deve monitorar seu desempenho por meio de atividades de comparação interlaboratorial ou ensaios de proficiência⁵ e a CGCRE determina que laboratórios acreditados, em busca da acreditação ou sua extensão devem obrigatoriamente participar de ensaios de proficiência selecionados pela instituição¹⁹. Apesar de recomendados e populares, a participação em um EP é dispendiosa e demorada, o que impossibilita sua utilização para os controles de rotina de um laboratório.

Para os controles de rotina são utilizados os métodos intralaboratoriais, ou seja, controles realizados dentro do próprio laboratório. Nesse se destacam a carta controle, amostras brancas, amostras fortificadas, materiais de referência e materiais de referência certificados²⁰.

A carta controle é normalmente utilizada em conjunto com a aplicação de material de referência, sendo utilizada para a determinação de tendências de um procedimento. É uma ferramenta extremamente poderosa para laboratórios de rotina, uma vez que consiste em periodicamente analisar uma amostra de concentração conhecida e acompanhar a variação do resultado obtido. Com isso, é possível perceber tendências e tomar ações preventivas antes que a qualidade dos resultados seja afetada⁸.

As amostras brancas são comumente utilizadas, elas são amostras geralmente compostas da própria matriz a ser estudada e que esteja ausente dos mesurandos de interesse, ela é analisada juntamente com as amostras de interesse, essa técnica fornece dados acerca das interferências que possam ser obtidas pelo procedimento, porém não trazem informações acerca da exatidão e precisão da metodologia. A metodologia mais recomendada é a utilização de materiais de referência e materiais de referência certificados (RM/MR – *Reference Material* / Material de referência;

CRM/MRC – *Certified reference material* / Material de referência certificado) que além de fornecerem dados acerca da exatidão e precisão também levam em consideração efeitos de matriz que possam vir a ocorrer. A ISO 17025 coloca os MR e MRCs como ferramentas essenciais ao sistema de gestão de qualidade e a garantia da validade ⁵.

1.3 Materiais de referência e materiais de referência certificados

Os materiais de referência e materiais de referência certificados são classificados, segundo o VIM (vocabulário internacional de metrologia) (VIM 2012, pg 50), como sendo: materiais suficientemente homogêneos e estáveis. São preparados de forma a atender as necessidades de um ensaio de propriedades quantitativas, trazendo em seu certificado (no caso dos MRCs) os valores de suas propriedades e de suas incertezas associadas, garantido assim sua rastreabilidade metrológica²¹.

Os MR e MRCs são materiais que podem ser utilizados para a calibração de um procedimento e atribuição de valores de propriedade de outros materiais para a garantia da validade. Eles devem ser preparados seguindo as diretrizes estabelecidas pelas ISOs: NBR ISO/IEC 17034:2017 (Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência) e ABNT ISO GUIA 35:2012 (Materiais de referência – princípios gerais e estatísticos para a certificação)^{22, 23}.

A crescente demanda do mercado por resultados confiáveis levou as empresas a adotarem sistemas de gestão de qualidade de forma a continuarem competitivas, acarretando na criação de institutos e órgãos para o suporte dessa nova tendência. Internacionalmente foram criados institutos como o BIPM (Bureau internacional de pesos e medidas) e o CCQM (Comitê consultivo para quantidade de matéria) que se

tornaram referência nas discussões metrológicas envolvendo a química no mundo. Já no Brasil foi criada a REMEQ-I (Rede de metrologia química do INMETRO) que tem como objetivo, auxiliar a cooperação entre as indústrias Brasileiras e melhor utilização dos recursos e infraestruturas do país²⁴.

Criada em 2012, a REMEQ-I tem como um de seus objetivos o desenvolvimento de materiais de referência, segundo a própria REMEQ-I em seu site define suas atribuições como: “Suas prioridades envolvem principalmente Capacitação, Produção de Materiais de Referência (MR) e Organização de Ensaio de Proficiência (EP)”. A coordenação da REMEQ-I é composta por um comitê executivo contendo representantes de comissões do INMETRO e um comitê consultivo que envolvem instituições como o: MAPA, ANVISA, ANP (ANP – Agência nacional do petróleo), ABIQUIM (ABIQUIM - Associação Brasileira da indústria química, EMBRAPA (EMBRAPA – Empresa Brasileira de pesquisa agropecuária), entre outros²⁴.

A REMEQ-I realizou em 2012 um estudo de prospecção intitulado “Que material de referência, inédito ou não, sua instituição/laboratório gostaria que fosse produzido no Brasil?” com a finalidade de obter uma visão da demanda de materiais de referência entre os laboratórios. Dentre os laboratórios participantes, observou-se que 70% utilizavam-se de algum tipo de material de referência, sendo desses 82% MRCs. Observou-se que dos MR e MRCs utilizados, a maioria era de origem estrangeira. Existe uma grande demanda por materiais de referência de produção nacional devido ao alto valor agregado e a dificuldade na importação de MR e MRCs²⁵.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho é a produção de um candidato a material de referência de fertilizante mineral contendo os elementos Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn previamente produzido pelo Lanagro/SP (laboratório de fiscalização do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA). Para atender a este objetivo, foi realizada a etapa de caracterização através de estudo estatístico dos dados fornecidos pelos laboratórios participantes de um programa interlaboratorial. Os estudos de homogeneidade e estabilidade foram realizados a partir da análise do candidato a material de referência utilizando os métodos oficiais do próprio MAPA. A estimativa final da incerteza será calculada com base em documentos regulatórios como os documentos fornecidos pela Eurachem, ISO Guia 34 e ISO GUIA 35^{20, 22, 26}.

3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

3.1 Produção de um MRC

Para a produção de um MRC é necessário seguir as diretrizes estipuladas em normas e guias específicos que tem como objetivo fornecer diretrizes de forma a controlar e padronizar a qualidade dos materiais produzidos.

As normas ISO 17034, GUIA 35 e ABNT ISO GUIA 31 (Materiais de referência – Conteúdo de certificados, rótulos e documentação associada)²⁷, estipulam as diretrizes que devem ser seguidas para a produção de um MRC. Dentre alguns desses requisitos destacam-se: o controle e manutenção de instalações, criação e gerenciamento dos procedimentos, requisitos para a emissão de um certificado com as informações mínimas necessárias para o uso pretendido do material de referência, entre outros²².

São definidos na ISO 17034 os requisitos gerais que devem ser seguidos pelos produtores de materiais de referência certificados de modo a produzir um produto de acordo com os requisitos estabelecidos em um sistema de gestão de qualidade (Tabela 2), enquanto a ISO GUIA 35 orienta os produtores segundo as normas e procedimentos específicos requeridos para a produção de um MRC²⁰.

Os materiais produzidos com a finalidade de gerar um material de referência certificado devem ser avaliados estatisticamente seguindo as respectivas normas e guias. Materiais produzidos por laboratórios que não sejam acreditados na ISO 17034 podem ser considerados materiais de referência, porém não são materiais certificados (MRCs). É comum utilizar-se do termo candidato a material de referência para os MRCs que ainda se encontram em desenvolvimento.

Tabela 2 Requisitos gerais sobre a produção de MR e MRC.

Requisitos Gerais	MR	MRC
Planejamento da produção	Requerido	Requerido
Controle da produção	Requerido	Requerido
Manuseio e armazenamento	Requerido	Requerido
Processamento do material	Requerido	Requerido
Procedimentos de medição	Requerido	Requerido
Equipamentos de medição	Requerido	Requerido
Integridade e avaliação de dados	Requerido	Requerido
Rastreabilidade metrológica de valores certificados	Não Requerido	Requerido
Avaliação da homogeneidade	Requerido	Requerido
Avaliação e monitoramento da estabilidade	Requerido	Requerido
Caracterização	Requerido, quando são atribuídos valores	Requerido
Atribuição de valores de propriedade	Requerido, quando são atribuídos valores	Requerido
Atribuição das incertezas dos valores de propriedade	Não Requerido	Requerido para valores certificados
Documentos e rótulos do MR	Requerido	Requerido
Serviço de distribuição	Requerido	Requerido
Controle de registros técnicos e da qualidade	Requerido	Requerido
Gestão de trabalho não conforme	Requerido	Requerido
Tratamento de reclamações	Requerido	Requerido

Fonte: Adaptado da NBR ISO 17034²².

3.2 Candidato a material de referência

Inicialmente, para a produção de qualquer MR é necessário definir o tipo de material de referência que se deseja produzir e quais as necessidades dos clientes que usarão do material. É necessário avaliar quais os componentes de interesse devem estar presentes nesse material e definir a faixa de concentração dos mesurandos. Esses requisitos são normalmente estipulados tendo em vista a legislação vigente, ou referências já estabelecidas pelo mercado.

Além disso é necessário, antes de iniciar a produção do material, avaliar fatores logísticos como o custo de produção, o transporte, armazenamento (a curto e longo prazo), embalagem, toxicidade, entre outros, para que possa determinar a viabilidade econômica do material.

3.3 Preparação do candidato a MRC

Após determinada a viabilidade do material de referência, é iniciado o processo de produção do candidato a MRC. Primeiramente é necessário a obtenção de quantidade suficiente de matriz, levando em consideração a quantidade desejada de material de referência, a quantidade necessária para os estudos de estabilidade e homogeneidade também devem ser consideradas.

Para a produção do material de referência é possível destacar 3 etapas principais definidas pela ISO 17034 (Figura 4): o estudo de caracterização, o estudo de homogeneidade e o estudo de estabilidade²². Essas etapas são essenciais uma vez que como a própria definição de MRC, definida pelo vocabulário internacional de metrologia, estabelece: “MRC é um material suficientemente homogêneo e estável com suas características definidas e estabelecidas de modo a fornecer um nível de confiança suficiente para o uso pretendido”²¹.

Figura 4 - 3 etapas para a produção de um candidato a MRC.

Fonte: Autoria própria

3.4 Caracterização

O estudo de caracterização é a etapa realizada a fim de determinar os valores inerentes às propriedades de interesse de um material de referência. Portanto é necessária a utilização de métodos adequados e devidamente validados para garantir a qualidade dos resultados obtidos.

É importante que a caracterização seja realizada de maneira a garantir sua rastreabilidade. A rastreabilidade metrológica é definida pelo VIM (2012) como: “Propriedade de um resultado de medição pela qual tal resultado pode ser relacionado a uma referência através de uma cadeia ininterrupta e documentada de calibrações, cada uma contribuindo para a incerteza de medição”²¹.

Segundo a ISO 17034 a caracterização pode ser realizada de cinco maneiras distintas²²:

- Realização de um único método de medição de referência em um único laboratório.
- Caracterização por duas ou mais técnicas com exatidão demonstrada, em um ou mais laboratórios competentes.
- Caracterização do mensurando através de uma rede de laboratórios competentes.
- Transferência de um valor de MR para um candidato a MR estreitamente similar usando um único procedimento de medição realizado por um laboratório competente.
- Caracterização baseada na massa ou volume de ingredientes utilizados no preparo do MR.

A escolha do método a ser utilizado depende da capacidade técnica do produtor do material, do objetivo e características do material de referência que se deseja produzir.

3.5 Interlaboratorial

Os programas de comparação interlaboratorial são programas de comparação de resultados obtidos em ensaios realizados por dois ou mais laboratórios que analisem os mesmos itens ou itens similares. Dentre os programas de comparação interlaboratorial destaca-se o exame ou ensaio de proficiência EP, popularmente referido apenas como interlaboratorial.

Segundo a ABNT NBR ISO/IEC 17043 Avaliação de conformidade – Requisitos gerais para ensaios de proficiência, os ensaios de proficiência envolvem o uso de

comparações interlaboratoriais para a determinação do desempenho do laboratório para, entre outros²⁸:

- “Avaliação de desempenho para ensaios ou medições específicas e monitoramento de desempenho contínuo de laboratórios.”
- “Identificação de problemas em laboratórios e início de ações de melhoria que podem estar relacionadas, por exemplo, a ensaios ou procedimentos de medição inadequados.”
- “Estabelecimento da efetividade e comparabilidade de métodos de ensaio ou métodos de medição.”
- “Identificação de diferenças interlaboratoriais.”
- “Validação da incerteza declarada.”

Os ensaios interlaboratoriais são de grande importância para o monitoramento da qualidade dos resultados produzidos por um laboratório. Os órgãos reguladores e organismos de acreditação reconhecem sua importância, por exemplo, a ISO 17025 que em sua revisão de 2017 tornou obrigatória a participação dos laboratórios acreditados em ensaios interlaboratoriais ou comparações interlaboratoriais⁵. Além da CGCRE que por meio da NIT DICLA 26 torna obrigatório a participação de laboratórios em ensaios de proficiência escolhidos pelo órgão.

Os ensaios interlaboratoriais são comumente realizados por um provedor de EP que fornece para os laboratórios participantes uma matriz de concentração desconhecida para que os laboratórios analisem e repassem seus resultados ao provedor. As concentrações são então comparadas com os resultados esperados pelo provedor e o desempenho do laboratório é determinado (através de métodos

estatísticos estabelecidos na ISO 17043 como, por exemplo, o *z score* que é uma metodologia de avaliação de dispersão por meio do desvio padrão²⁸).

Os EP podem ser utilizados para a produção de materiais de referência, podendo utilizar-se do valor de consenso entre os laboratórios participantes para determinar o valor de caracterização do material^{20, 22}.

3.6 Valor de consenso

Após o recebimento dos resultados obtidos durante o programa interlaboratorial eles devem ser tratados estatisticamente para a determinação do valor de consenso (VC).

O valor de consenso é o valor utilizado como o resultado da caracterização do material de referência, conforme demonstrado na ISO GUIA 35²³. Inicialmente avalia-se os resultados observando se há diferenças significativas ou valores suspeitos no conjunto de dados fornecidos pelos participantes do interlaboratorial.

Os valores suspeitos, também conhecidos como *outliers* são valores que apresentam um grande afastamento dos seus pares. *Outliers* são normalmente gerados devido a erros grosseiros ocorridos durante o processo de medição ou registro do resultado e, portanto, não representam a dispersão normal gerada pelos erros aleatórios. Devida a sua natureza, os *outliers* podem ser removidos do conjunto de dados sem perda de confiabilidade, desde que sejam realizados os devidos testes estatísticos²⁹⁻³¹ e que esses valores sejam avaliados pelo motivo de sua presença, para que não descartemos valores que, apesar de serem *outliers* ainda pertençam ao conjunto de dados.

A avaliação da presença de *outliers* em um conjunto de dados pode ser realizada de diferentes maneiras, dentre elas destacamos dois dos métodos mais comumente utilizados: o teste de Grubbs³² e o teste de Dixon³³. Tratam-se de testes de inferência estatística, estabelecendo a presença de valores *outliers* em uma amostra. Os testes de inferência ou testes de hipótese são modelos probabilísticos que permitem fazer inferências sobre características de uma população.

Esse tipo de avaliação é realizado fazendo uma “afirmação” sobre o conjunto de dados, para o caso dos *outliers* o mais comum é a inferência “este valor não é um *outlier*”. Partindo-se dessa afirmação são realizados testes estatístico que avaliam se a hipótese “não é um *outlier*” é estatisticamente diferente de um referencial. Caso a avaliação estatística mostre que existem diferenças significativas, a hipótese é rejeitada significando que o valor suspeito é um *outlier* e pode ser removido do conjunto de dados. Caso a avaliação estatística mostre que não existem diferenças significativas, a hipótese é aceita e o valor suspeito continua no conjunto³⁴.

3.6.1 Teste de Grubbs

O teste de Grubbs calcula seu fator (G) e o avalia através do T de *student*. O fator de Grubbs é calculado segundo a Equação 01 (Eq 01)³⁰⁻³²:

$$G = \frac{|X' - \bar{X}|}{s} \quad \text{Eq 01}$$

Sendo X' valor suspeito a ser estudado, $\bar{X}$ a média dos valores contidos no conjunto de dados e “ s ” é o desvio padrão desse conjunto de dados, calculado através da Equação 02 (Eq 02).

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad \text{Eq 02}$$

Onde n é o número de componentes no conjunto de dados, X_i é uma variável do conjunto de dados.

Com o cálculo do desvio padrão é possível determinar o fator G e compará-lo como valor crítico, que pode ser determinado conforme Equação 03 (Eq 03).

$$G_{\text{lim}} = \frac{n-1}{\sqrt{n}} \sqrt{\frac{\tau^2}{n-2+\tau^2}} \quad \text{Eq 03}$$

O G_{lim} é calculado utilizando-se o número de amostras e com o valor do T de *student* (τ). O valor de τ é utilizado na estatística quando se deseja trabalhar com valores médios dentro de uma distribuição normal de uma população com poucos membros. Como τ é definido com base no tamanho da população (neste caso n) é possível tabelar os valores críticos de G_{lim} com relação à n . Essa relação é apresentada na Tabela 3, sendo que a probabilidade desejada se refere ao grau de confiança (α) que se deseja obter na análise. Para análises químicas é comum se utilizar a confiabilidade de α em 0,05, equivalente a 95% de confiabilidade²⁰.

Tabela 3. Tabela de valores críticos para Glim para α de 0.1 - 0.001 e população de até 10 resultados.

	Probabilidade desejada					
n	90% (α 0,1)	95% (α 0,05)	97,5% (α 0,025)	99% (α 0,01)	99,5% (α 0,005)	99,9% (α 0,001)
1	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	318,313
2	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	22,327
3	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	10,215
4	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	7,173
5	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	5,893
6	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,208
7	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	4,782
8	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	4,499
9	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,296
10	1,372	1,712	2,228	2,264	3,169	4,143

Fonte: adaptado do Engineering Statistics Handbook³⁵.

3.6.2 Teste de Dixon

Diferentemente do teste de Grubbs que avalia a presença de *outlier* por meio da utilização do desvio padrão, o teste de Dixon (D) compara a “amplitude” do conjunto de dados. Nesse teste é avaliada a distância entre o valor suspeito para o valor mais próximo a ele e compara essa distância com a dispersão total do conjunto de dados.

O teste de Dixon pode ser aplicado após o conjunto de dados ser organizado em ordem crescente de valores, o teste é representado pela Equação 04 (Eq 04) ^{29-31,}

36, 37,

$$D = \frac{(X') - (X'')}{(X_i - X_1)} \quad \text{Eq 04}$$

Na equação para o cálculo de D , X'' é o valor mais próximo de X' que é o valor suspeito. X_i é o último valor do conjunto de dados e X_1 é o primeiro valor do conjunto de dados.

De maneira similar ao teste de Grubbs, o valor obtido para o teste de Dixon é comparado com um valor limite D_{lim} tabelado (Tabela 4), caso o valor obtido seja maior que o limite ($D \geq D_{lim}$), a hipótese nula é recusada e existem indícios suficientes para considerar o valor suspeito um *outlier*.

Tabela 4. Tabela de valores críticos para D_{lim} para α de 0.1 - 0.005 e população de até 10 resultados.

n	Probabilidade desejada				
	90% (α 0,1)	95% (α 0,05)	98% (α 0,02)	99% (α 0,01)	99,5% (α 0,005)
3	0,8850	0,9411	0,9763	0,9881	0,9940
4	0,6789	0,7651	0,8457	0,8886	0,9201
5	0,5578	0,6423	0,7291	0,7819	0,8234
6	0,4840	0,5624	0,6458	0,6987	0,7437
7	0,4340	0,5077	0,5864	0,6371	0,6809
8	0,3979	0,4673	0,5432	0,5914	0,6336
9	0,3704	0,4363	0,5091	0,5554	0,5952
10	0,3492	0,4122	0,4813	0,5260	0,5658

Fonte: Adaptado de Verma, S. P. e Queiroz-Ruiz, A. ²⁹.

É importante ressaltar que ambos testes, Grubbs e Dixon, necessitam alguns conhecimentos prévios acerca do conjunto de dados a ser estudado. Para sua aplicação é necessário que o conjunto de dados seja normalmente distribuído.

A distribuição normal, também conhecida como distribuição gaussiana é uma distribuição de probabilidade muito utilizada para a metrologia. De maneira simplificada podemos dizer que uma distribuição normal se caracteriza por uma distribuição simétrica dos valores resultando em uma média dos desvios igual a zero. Uma representação gráfica de uma distribuição normal é apresentada na Figura 5.

Figura 5 Representação gráfica de uma distribuição normal.

Fonte: Adaptado de Miller & Miller e portal Action^{38, 39}.

Um exemplo de um conjunto de dados normalmente distribuído é a variação aleatória de um ensaio de caracterização química, nessa situação é obtido um valor médio através de repetições das análises de caracterização. Devido às variações aleatórias, os valores obtidos durante as repetições não são idênticos e a dispersão desses valores é normalmente distribuído. Para conjuntos de dados onde a distribuição é desconhecida é possível realizar testes matemáticos para avaliação da

distribuição, como por exemplo, o teste de inferência de Anderson Darling ou o teste de Shapiro Wilk³⁵.

Após realizada a avaliação da presença de *outliers* segue-se para a avaliação do valor de consenso e sua incerteza. A ISO GUIA 35 recomenda na determinação do valor de consenso, para um conjunto de dados normalmente distribuído e sem presença de *outliers*, a utilização de média aritmética.

3.6.3 Média.

A média é o método para cálculo de valor central mais utilizado mundialmente devido a sua simplicidade e fácil obtenção. A média é realizada por meio da soma de todos os componentes (X_i) do conjunto de dados dividido pelo número de componentes (p), conforme apresentado na Equação 05 (Eq 05).

$$\bar{X} = \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p X_i \quad \text{Eq 05}$$

Por exemplo:

Para o seguinte conjunto de dados: $V_1, V_2, V_3, V_4, V_5, V_6, V_7, V_8, V_9$ e V_{10} temos a seguinte média. Exemplo 01 (Ex 01)

$$\bar{V} = \frac{V_1 + V_2 + V_3 + \dots + V_{10}}{10} \quad \text{Ex. 01}$$

Para efeitos de comparação, decidiu-se utilizar também dos seguintes métodos de obtenção de valor central: mediana, média aparada, e média robusta.

3.6.4 Mediana

A mediana, ou valor mediano é um método de obtenção de valor central. Com facilidade de cálculo equivalente à média, a mediana representa o valor central de um conjunto de dados. Diferentemente da média, a mediana só pode ser utilizada para conjuntos de dados que sejam simétricos como a distribuição normal ou a distribuição de Cauchy. A distribuição Cauchy é similar a distribuição normal, porém seu pico é mais estreito e sua “cauda” mais alongada, o que gera maiores probabilidade de se obter valores mais distantes do valor central, quando comparados com a distribuição normal. Caso a simetria do conjunto de dados não seja conhecida não se recomenda a utilização da mediana uma vez que ela poderá apresentar grandes desvios em relação ao valor central real³⁵.

Para o cálculo da mediana inicialmente organiza-se o conjunto de dados de maneira crescente ou decrescente de valores. Em seguida determina-se a quantidade de componentes no conjunto de dados:

Se a quantidade de componentes for par temos a Equação 06 (Eq. 06):

$$\tilde{X} = X_{\frac{(i+1)}{2}} \quad \text{Eq 06}$$

Caso a quantidade de componentes seja ímpar usa-se a Equação 07 (Eq. 07):

$$\tilde{X} = \frac{X_i + X_{(\frac{i}{2}+1)}}{2} \quad \text{Eq 07}$$

Onde X_i é um componente do conjunto de dados estudado. Podemos exemplificar o cálculo da mediana utilizando o mesmo conjunto de dados usado no exemplo 01. Exemplo 02 (Ex. 02).

Dado $V_1 > V_2 > V_3 > V_4 > V_5 > V_6 > V_7 > V_8 > V_9 > V_{10}$

Temos

$$\tilde{V} = \frac{V_{\frac{10}{2}} + V_{(\frac{10}{2}+1)}}{2} = \frac{V_5 + V_6}{2} \quad \text{Ex 02}$$

Caso tivéssemos um conjunto de dados com número ímpar de componentes teríamos:

$V_1 > V_2 > V_3 > V_4 > V_5 > V_6 > V_7$

$$\tilde{V} = V_{\frac{7+1}{2}} = V_4 \quad \text{Ex 03}$$

É importante salientar que a mediana é considerada um método estatístico robusto*, nesse caso deve-se utilizar o cálculo da mediana sem a remoção de *outliers* uma vez que esses não influenciam o cálculo da mediana. Porém para este trabalho e efeitos de comparação a mediana também foi calculada após a remoção de *outliers* para que seja possível observar a influência dos mesmos sobre a mediana e a média^{30, 35}.

* - A estatística robusta refere-se aos métodos estatísticos que apresentam um bom desempenho quando utilizados em uma variedade de distribuições de dados, principalmente as distribuições não normais.

3.6.5 Média Aparada

A média aparada é um método de análise de tendência central equivalente à média e mediana, seu diferencial é sua habilidade em “suportar” a presença de *outliers* em um conjunto de dados⁴⁰.

Existem casos em que devido às características do conjunto de dados a existência de *outliers* é alta, ou até mesmo garantida, e por diversos motivos algumas vezes a remoção desses *outliers* não pode ser realizada. Nesses casos para a determinação da média sem que a presença dos *outliers* afete seu resultado é utilizada a média aparada.

A média aparada baseia-se no princípio da remoção dos valores superiores e inferiores de um conjunto de dados, uma vez que os *outliers* encontram-se nessas regiões. Ao remove-los evita-se a contribuição dos valores aberrantes na média. Normalmente a remoção de componentes do conjunto de dados é realizada através de percentual, desta maneira, escolhem-se valores entre 5-25%, quando a porcentagem escolhida é 25% a média aparada também é conhecida como média interquartílica. A seguir apresentamos um exemplo de média aparada realizado com remoção de 20% dos componentes.

Dado $V_1 > V_2 > V_3 > V_4 > V_5 > V_6 > V_7 > V_8 > V_9 > V_{10} > V_{11}$

Temos 11 componentes no conjunto de dados, portanto temos que 20% de 11 corresponde a 2.2 componentes, no caso de números fracionados arredonda-se para o inteiro inferior mais próximo, nesse caso 2.2 -> 2.0 portanto devemos remover do cálculo da média 2 componente do limite inferior e 2 componentes do limite superior.

Portanto o conjunto de dados $V_1 > V_2 > V_3 > V_4 > V_5 > V_6 > V_7 > V_8 > V_9 > V_{10} > V_{11}$ torna-se $V_3 > V_4 > V_5 > V_6 > V_7 > V_8 > V_9$, com o novo conjunto de dados calcula-se a média normalmente. Exemplo 04 (Ex. 04).

$$\bar{V}_{T20\%} = \frac{V_3 + V_4 + \dots + V_9}{7} \quad \text{Ex. 04}$$

Tendo o valor de consenso sido obtido pelos métodos adequados prossegue-se para a determinação do desvio padrão dos resultados de caracterização.

3.6.6 Desvio padrão amostral.

Medições repetidas de um mesmo mesurando não apresentam sempre o mesmo resultado. Essa variação pode ocorrer por diversos motivos, sendo as causas mais comuns os erros grosseiros e os erros aleatórios. O primeiro afeta, normalmente, análises individuais desviando o valor obtido do resultado esperado, esse desvio é geralmente reconhecido como um *outlier* e tratado de maneira adequada.

Já os erros aleatórios afetam todas as análises realizadas, e como o próprio nome infere, eles não podem ser previstos. Felizmente os erros aleatórios apresentam uma distribuição normal em torno do “valor real”, de modo que sua influência, apesar de não poder ser removida, pode ser quantificada.

Além dos erros grosseiros e dos erros aleatórios existem também os erros sistemáticos, esse tipo de erro, quando ocorre, está presente em todas as análises realizadas e afetam de maneira similar todos os resultados obtidos. Esse tipo de erro ocorre, por exemplo, de equipamentos mal calibrados. Assim como o erro grosseiro,

os erros aleatórios podem ser identificados, principalmente pela utilização de materiais de referência e materiais de referência certificados, e corrigidos adequadamente.

Essa quantificação é realizada através do cálculo do desvio padrão que avalia a dispersão dos resultados em relação à média das observações, o cálculo do desvio padrão foi apresentado na Equação 02 e é apresentada novamente abaixo.

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad \text{Eq 02}$$

Com o resultado do desvio padrão é possível determinar a incerteza devido a caracterização (u_{car}), conforme apresentado na Equação 08 (Eq 08)²⁰

$$u_{car} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \text{Eq 08}$$

De maneira similar ao valor de consenso, para este trabalho optou-se pela determinação do desvio padrão através de métodos diferentes, assim, para efeitos de comparação, foram estudados o quartil e o desvio padrão robusto.

3.6.7 Quartil (RI)

O quartil ou *range* interquartílico é o termo utilizado para a determinação de valor médio por média aparada quando a porcentagem escolhida é de 25%, nesse caso o quartil descreve o sistema onde se encontram 50% da população.

Para conjunto de dados que sejam normalmente distribuídos, o quartil pode ser utilizado para a estimativa do desvio padrão, como mostrado na Equação 09 e Equação 10 (Eq 09, Eq 10)⁴¹.

$$RI = 1.35 * s \quad \text{Eq 09}$$

$$RI = Q_3 - Q_1 \quad \text{Eq 10}$$

Sendo Q1 o valor do primeiro quartil das amostras, Q3 o valor para o terceiro quartil do conjunto de dados.

Exemplo.

Considere o conjunto de dados

$V_1 > V_2 > V_3 > V_4 > V_5 > V_6 > V_7 > V_8 > V_9 > V_{10}$

Q1 e Q3 podem ser determinados do seguinte modo, primeiramente divide-se o conjunto em 2 subgrupos de igual quantidade de membros.

Sub 1: $V_1 > V_2 > V_3 > V_4 > V_5$

Sub 2: $V_6 > V_7 > V_8 > V_9 > V_{10}$

Para cada um dos subgrupos determina-se o valor mediano de maneira similar ao cálculo da mediana (equações 6 e 7). Nesse caso temos que os valores para Q₁ e Q₃ são: Exemplo 05 (Ex. 05)

$$Q_1 = V_3 \text{ e } Q_3 = V_8 \quad \text{Ex 05}$$

Com o valor de Q1 e Q3 pode-se determinar o valor para o desvio-padrão conforme apresentado na Equação 11 (Eq 11)

$$S = \frac{Q_3 - Q_1}{1.35} \quad \text{Eq 11}$$

3.6.8 Desvio Padrão Robusto

O desvio padrão robusto é um método de estimar o valor de consenso e seu desvio, descrito na ISO 13528 *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*⁴². A avaliação é realizada através da utilização de um algoritmo que visa diminuir a influência de valores que diferem muito da média.

O cálculo do desvio padrão robusto é realizado determinando a mediana do conjunto de dados a serem utilizados, conforme as equações 06 e 07. Em seguida é calculado o valor de desvio (x^*), ou seja, a diferença entre cada valor medido (X_i) e a mediana ($\tilde{x}$), conforme Equação 12 (Eq 12)⁴².

$$x^* = |x_i - \tilde{x}| \quad \text{Eq 12}$$

Com o valor de todos os desvios, podemos determinar a mediana dos desvios ($\tilde{x}^*$) e utiliza-la para a determinação do primeiro desvio padrão (s^*), apresentado na Equação 13 (Eq 13).

$$s^* = 1,483 * (\tilde{x}^*) \quad \text{Eq 13}$$

Em seguida determina-se o valor de diferença limite, delta (δ) apresentado na Equação 14 (Eq 14).

$$\delta = 1.5*(s^*) \quad \text{Eq 14}$$

Com o auxílio de delta é calculado o valor ajustado de x_i denominado x_i .

Para os valores de i ($i=1, 2, \dots$) utiliza-se a Equação 15 (Eq 15):

$$x_i = \begin{cases} x^* - \delta & \text{se } x_i < x^* - \delta \\ x^* + \delta & \text{se } x_i > x^* + \delta \\ x_i & \text{resto} \end{cases} \quad \text{Eq 15}$$

Com o novo conjunto de dados calcula-se novamente a média (X^{**}) e desvio padrão (S^{**}), conforme Equações 16 e 17 (Eq 16, Eq 17).

$$x^{**} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \text{Eq 16}$$

$$s^{**} = 1.134 * \sqrt{\sum \frac{(x_i - x^{**})^2}{(n-1)}} \quad \text{Eq 17}$$

Esse procedimento é repetido até que os valores calculados de x_i não ultrapassem os valores limites de $(x^* - \delta)$ e $(x^* + \delta)$ ou que o valor calculado de s^{**} não apresente diferença maior que o terceiro número significativo entre duas interações. Os valores de x^{**} e s^{**} obtidos na última interação realizada são utilizados como o valor de consenso e o valor do desvio padrão.

3.7 Estudo de homogeneidade

O estudo de homogeneidade é uma das etapas necessárias exigidas pelas normas ABNT NBR/ISO 17034 e ISO GUIA 35 para a produção de um candidato a material de referência certificado^{20, 22}. A influência da homogeneidade no material pode surgir devido a impurezas que foram introduzidas no material durante o processo de produção, a granulidade do material que dificulta a homogeneização, propriedades intrínsecas como, por exemplo, insolubilidade dos elementos de interesse, entre outras. Independente da amplitude desta influência, esta deve ser quantificada e incorporada na incerteza associada ao MRC²².

A ISO 17034 e a ISO GUIA 35 estipulam os procedimentos a serem seguidos para a realização de um estudo de homogeneidade, esses procedimentos são apresentados a seguir^{20, 22}.

Primeiramente, é retirada uma quantidade representativa de amostras do lote a ser estudado, as amostras podem ser escolhidas de maneira aleatória, estratificada ou sistematizada. Porém, deve-se ressaltar que ao escolher o modo sistematizado deve-se garantir que não estará omitindo efeitos sistemáticos ou de tendência.

As amostras são então analisadas para os mensurandos de interesse em condições de repetibilidade. A Figura 6 apresenta um exemplo de planejamento de um estudo de homogeneidade para um lote com K frascos sendo analisados n vezes (repetições ou replicatas).

Figura 6 Exemplo de planejamento de um estudo de homogeneidade de K frascos com n repetições.

Fonte. Adaptado de ABNT ISO GUIA 35²⁰.

Os resultados obtidos são avaliados estatisticamente para a determinação da homogeneidade do material.

O modelo ANOVA é um dos modelos utilizados para demonstrar o resultado em um estudo de homogeneidade e é ser dado pela Equação 18 (Eq 18)^{23, 43}:

$$X_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{Eq. 18}$$

Na Equação 18 X_{ij} representa o valor associado a uma medição individual no estudo de homogeneidade, μ representa o valor esperado de X_{ij} para quando o número de repetições tende ao infinito, na ausência de tendência μ possui o mesmo valor que o valor real. A_i é a contribuição do erro devido a homogeneidade do material e representa a homogeneidade entre frascos já ε_{ij} representa o erro aleatório de medição e é representado pela homogeneidade dentro dos frascos. A_i e ε_{ij} são independentes entre si e assumisse que A_i seja normalmente distribuída com média zero e variância σ_A^2 , de maneira similar assumisse que ε_{ij} seja normalmente distribuído com média zero e variância σ^2 .

Para estimar a contribuição da homogeneidade na incerteza deve-se avaliar a dispersão dos valores obtidos durante as análises. Essa dispersão pode ser avaliada de diferentes maneiras. Uma das mais conhecidas é a avaliação através da variância e expressada através da soma da diferença dos quadrados, comumente referida apenas como soma dos quadrados (SS do inglês *sum of squares*) e pode ser expressada conforme a Equação 19 (Eq 19)^{20, 43-45}.

$$SS_{\text{total}} = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (X_{ij} - \bar{\bar{X}})^2 \quad \text{Eq. 19}$$

Onde

$$\bar{\bar{X}} = \frac{1}{\sum_{i=1}^k n_i} \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} X_{ij} \quad \text{Eq. 20}$$

$\bar{\bar{X}}$ é conhecida como média das médias, k é o número de amostras (frascos) e n é o número de repetições. Devido a características da própria soma dos quadrados

pode-se subdividi-la em duas componentes, a SS_{entre} e SS_{dentro} que são as contribuições da variação entre os grupos (amostras/frascos) e dentro do grupo (repetições) respectivamente e são apresentadas na Equação 21 (Eq 21)²⁰.

$$SS_{\text{total}} = SS_{\text{dentro}} + SS_{\text{entre}} \quad \text{Eq. 21}$$

A soma dos quadrados dentro SS_{dentro} é definida conforme a Equação 22 (Eq 22):

$$SS_{\text{dentro}} = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (X_{ij} - \bar{X}_i)^2 \quad \text{Eq. 22}$$

E SS_{entre} é definido conforme a Equação 23 (Eq 23)

$$SS_{\text{entre}} = \sum_{i=1}^k n_i (\bar{X} - \bar{\bar{X}})^2 \quad \text{Eq. 23}$$

Tanto para a soma dos quadrados dentro, entre e total, podemos definir seus graus de liberdade conforme as Equações 24-26 (Eq 24-26)⁴³:

$$SS_{\text{entre}} = k - 1 \quad \text{Eq. 24}$$

$$SS_{\text{dentro}} = \sum n_i - k \quad \text{Eq. 25}$$

$$SS_{\text{total}} = \sum n_i - 1 \quad \text{Eq. 26}$$

Ao dividir-se SS_{dentro} e SS_{entre} pelos seus respectivos graus de liberdade conforme apresentado na Equação 27 e 28 (Eq 27 e 28) obtem-se a média quadrática (MS do inglês *mean squares*).

$$MS_{\text{entre}} = \frac{SS_{\text{entre}}}{k-1} \quad \text{Eq.27}$$

$$MS_{\text{dentro}} = \frac{SS_{\text{dentro}}}{\sum n_i - k} \quad \text{Eq.28}$$

Apesar das médias quadráticas se apresentarem na forma de variância, com exceção da MS_{dentro} , a média quadrática não equivale diretamente a variância. A vantagem da utilização das somas quadráticas é observar a contribuição de cada parâmetro para a incerteza final.

A variância devida a variação entre grupos (S^2_{bb} variância entre frascos), dada uma repetibilidade adequada, é calculada utilizando a Equação 29 (Eq. 29) para o cálculo:

$$S^2_{\text{bb}} = \frac{MQ_{\text{entre}} - MQ_{\text{dentro}}}{n_0} \quad \text{Eq. 29}$$

Nesse caso, a variância S_{bb} é equivalente a incerteza devido a homogeneidade (U_{bb} homogeneidade entre frascos).

Nem sempre é possível utilizar-se de métodos suficientemente repetitivos, nesse caso a incerteza U_{bb} pode ser calculada através de:

$$U_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n}} \cdot \sqrt{\frac{2}{GL_{MQ_{dentro}}}} \quad \text{Eq. 30}$$

$GL_{MQ_{dentro}}$ refere-se aos graus de liberdades que podem ser observados por meio da Equação 28. Essa avaliação leva em consideração um intervalo de confiança de 95%.

O resultado obtido para U^2_{bb} é apresentado nas mesmas unidades utilizadas para as amostras, dessa forma é possível avaliar o grau de heterogeneidade (GH grau de heterogeneidade) do material através da seguinte equação:

$$GH (\%) = \frac{U^2_{bb}}{\bar{X}} * 100 \quad \text{Eq. 31}$$

Outro método comumente utilizado para avaliar a variância de resultados é através do teste F. Esse teste avalia a variância entre grupos comparando-a com a variância dentro dos grupos.

$$F = \frac{MQ_{entre}}{MQ_{dentro}} \quad \text{Eq. 32}$$

Após o cálculo o valor de F é comparado com uma tabela de valores críticos (Tabela 5). Essa tabela utiliza-se dos valores de graus de liberdade de MQ_{entre} e MQ_{dentro} para o cálculo do valor crítico.³⁵. Testes de variância como o teste F são populares devido sua fácil utilização em programas de cálculo largamente utilizados com por exemplo o Microsoft Excel®, que possuem em sua estrutura os cálculos necessários para essa análise em algumas de suas funções.

Tabela 5 Tabela de valores críticos para teste F unimodal, $\alpha = 0.05$. GL_1 Graus de liberdade do numerador, GL_2 graus de liberdade do denominador.

$GL_1 \backslash GL_2$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	161,4	199,5	215,7	224,58	230,16	233,99	236,77	238,88	240,54	241,88
2	18,51	19,00	19,16	19,247	19,296	19,330	19,353	19,371	19,385	19,396
3	10,13	9,55	9,28	9,117	9,013	8,941	8,887	8,845	8,812	8,786
4	7,709	6,94	6,59	6,388	6,256	6,163	6,094	6,041	5,999	5,964
5	6,608	5,79	5,41	5,192	5,050	4,950	4,876	4,818	4,772	4,735
6	5,987	5,14	4,76	4,534	4,387	4,284	4,207	4,147	4,099	4,060
7	5,591	4,74	4,35	4,120	3,972	3,866	3,787	3,726	3,677	3,637
8	5,318	4,46	4,07	3,838	3,687	3,581	3,500	3,438	3,388	3,347
9	5,117	4,26	3,86	3,633	3,482	3,374	3,293	3,230	3,179	3,137
10	4,965	4,10	3,71	3,478	3,326	3,217	3,135	3,072	3,020	2,978
11	4,844	3,98	3,59	3,357	3,204	3,095	3,012	2,948	2,896	2,854
12	4,747	3,88	3,49	3,259	3,106	2,996	2,913	2,849	2,796	2,753
13	4,667	3,81	3,41	3,179	3,025	2,915	2,832	2,767	2,714	2,671
14	4,600	3,74	3,34	3,112	2,958	2,848	2,764	2,699	2,646	2,602
15	4,543	3,68	3,29	3,056	2,901	2,790	2,707	2,641	2,588	2,544

Fonte: Adaptado de *e-Handbook of Statistical Methods*.³⁵.

3.8 Estudo de estabilidade

O estudo de estabilidade é o procedimento utilizado para a avaliação do comportamento do material de referência produzido durante seu tempo de armazenamento. O teste visa estudar possíveis instabilidades que possam vir a ocorrer após a preparação do material e assim determinar o grau de estabilidade para os valores de propriedade. A avaliação da estabilidade é realizada em duas situações distintas, a avaliação à curto prazo e a avaliação de estabilidade de longo prazo^{23, 46}.

A avaliação à curto prazo é realizada quando deseja-se estabelecer o comportamento do material de referência quanto as condições de transporte. O planejamento de um estudo de estabilidade de curta duração é realizado levando-se em consideração o tempo estimado de transporte e as temperaturas alcançadas durante o trajeto.

Muitas vezes o efeito da estabilidade de curta duração pode ser descartado uma vez que os materiais podem ser constituídos de componentes conhecidamente estáveis. Nesses casos, normalmente o produtor do material de referência especifica as condições em que o material deve ser transportado, reduzindo o componente da incerteza associado a estabilidade de curta duração²⁰.

O estudo de estabilidade de longa duração é crucial na produção do material de referência uma vez que os resultados obtidos nesse estudo são utilizados para a determinação do período em que o MR pode ser utilizado, também conhecido como “tempo de prateleira” (*shelf life*). O estudo de estabilidade avalia se há variação nos

valores de propriedade dos componentes de interesse quando o MR é armazenado em condições apropriadas por um longo período^{20, 46}.

As condições apropriadas para o armazenamento devem ser estabelecidas pelo produtor, que deve levar em consideração a faixa de temperatura que o material é estável, o tempo de vida pretendido para o MR, hidrofiliicidade, reatividade com o ar ou qualquer outro fator que possa alterar a composição do MR ou MRC durante seu tempo de prateleira^{20, 22}.

A realização de um estudo de estabilidade de longa duração pode ser realizada segundo as definições previstas na ISO GUIA 35. Nela são propostas duas metodologias: estudo clássico ou o estudo isócrono²⁰.

O estudo de estabilidade clássico baseia-se no armazenamento de amostras individuais do material de referência nas condições de armazenamento que deseja se estudar. Todas as amostras são armazenadas nas mesmas condições por um tempo pré-determinado, sendo analisadas periodicamente durante a duração do estudo e avaliadas para tendência e a contribuição da incerteza para o material²⁰.

A vantagem desse método é a facilidade do armazenamento das amostras que não exige etapas adicionais. Essa metodologia é vantajosa para laboratórios de rotina que realizam ensaios de caracterização similares periodicamente e, portanto, as amostras do estudo de estabilidade podem ser facilmente introduzidas nos lotes de análise. Um exemplo para o planejamento de um estudo de estabilidade utilizando o método clássico é apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 Exemplo de programação de um estudo de estabilidade de longa duração de N meses contendo N amostras utilizando-se do método clássico.

	Início	Mês 2	Mês 3	...	Mês N
Amostra 1	Análise			...	
Amostra 2	Armazenamento	Análise		...	
Amostra 3	Armazenamento	Armazenamento	Análise	...	
Amostra 4	Armazenamento	Armazenamento	Armazenamento	...	
...	Armazenamento	Armazenamento	Armazenamento	...	
Amostra N	Armazenamento	Armazenamento	Armazenamento	...	Análise

Fonte: Autoria própria.

Vale ressaltar que os meses indicados na tabela não necessitam ser contínuos. Pode-se, por exemplo, realizar um estudo de estabilidade de 5 anos onde nesse tempo serão realizadas 10 análises espaçadas igualmente durante os 60 meses, ou seja, serão realizadas análises a cada 6 meses.

O segundo método sugerido pelo GUIA 35 é através do estudo isócrono. Esse método é baseado no princípio de se analisar todas as amostras do estudo de estabilidade durante a mesma rotina, portanto as análises ocorrem em condições de repetibilidade²⁰.

O estudo isócrono reduz a dispersão dos resultados obtidos ao longo do tempo, melhorando assim a resolução do estudo de estabilidade e consequentemente melhorando a incerteza obtida^{20, 36}.

Para a execução do estudo de estabilidade na abordagem isócrona inicialmente é necessário determinar se o material estudado pode ser armazenado em condições que garantam que não há, ou que seja em velocidade extremamente reduzida, a

degradação do material. Um método utilizado é o armazenamento das amostras em temperaturas extremamente baixas.

Após determinada a viabilidade da utilização do método isócrono no estudo de estabilidade, todas as amostras separadas para o estudo são armazenadas nas condições adequadas para que não haja degradação. As amostras são periodicamente retiradas desse armazenamento e acondicionadas nas condições de armazenamento a qual se deseja estudar a estabilidade. Ao final do período estudado, todas as amostras são analisadas para a determinação das suas propriedades de interesse, e em seguida esses resultados são avaliados para a existência de tendências ou instabilidades do material. A Tabela 7 apresenta um planejamento geral para um estudo de estabilidade no método isócrono com N amostras durante N meses.

Tabela 7. Planejamento geral para um estudo de estabilidade no método isócrono com programação de N meses contendo N amostra. A= Armazenamento em condições que garantam a não degradação. B= Armazenamento nas condições de prateleira estudadas.

	Início	Mês 2	Mês 3	...	Mês N-2	Mês N-1	Mês N
Amostra 1	A	A	A	...	A	A	Análise
Amostra 2	A	A	A	...	A	B	Análise
Amostra 3	A	A	A	...	B	B	Análise
Amostra 4	A	A	B	...	B	B	Análise
...	A	B	B	...	B	B	Análise
Amostra N	B	B	B	...	B	B	Análise

Fonte: Autoria Própria

Na metodologia isócrona, além da redução da dispersão já comentada, esse método facilita os estudos para laboratórios que não realizam esses tipos de análise constantemente, reduzindo o custo da realização do estudo de estabilidade. Porém a desvantagem é a necessidade de garantir a não degradação do material, o que normalmente acarreta na necessidade de equipamentos especializados. A avaliação dos resultados obtidos durante um estudo de estabilidade é realizado por meio da análise de tendência.

3.8.1 Avaliação da tendência e determinação da estabilidade

Após finalizado o estudo de estabilidade é necessária a avaliação do resultado obtido durante o estudo. A avaliação da estabilidade é realizada através da avaliação de tendência nos resultados obtidos, essa avaliação é descrita na ISO GUIA 35²⁰.

O modelo utilizado para uma avaliação de tendência pode ser expresso pela equação de regressão linear apresentada na Equação 33 (Eq 33)²⁰:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon \quad \text{Eq 33}$$

β_0 e β_1 são os coeficientes referentes a regressão linear e ε é o erro aleatório. Y representa o valor de propriedade do material após X meses.

Idealmente, um material de referência completamente estável apresentará um coeficiente β_1 com valor nulo (0). Maiores valores de β_1 indicam maior influência do tempo nos valores de propriedade do material de referência.

Os parâmetros da regressão linear podem ser calculados segundo as Equações 34 e 35 (Eq.34 e Eq. 35)^{20, 46}.

$$\beta_1 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum(x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Eq 34}$$

$$\beta_0 = \bar{y} - \beta_1 \bar{x} \quad \text{Eq 35}$$

A variância de β_0 ($V(\beta_0)$) e o desvio padrão de β_1 são dados pela Equação 36 (Eq 36):

$$s(\beta_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Eq 36}$$

Onde:

$$s^2 = \frac{\sum(y_i - \beta_0 - \beta_1 * x_i)^2}{n - 2} \quad \text{Eq 37}$$

E

$$V(\beta_0) = s^2 \left[\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\sum(x_i - \bar{x})^2} \right] = \frac{s^2 \sum x_i^2}{n \sum(x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Eq 38}$$

Segundo Thomas P. J. Linsiger *et al*⁴⁷ é possível calcular a significância do fator β_1 (F_{β_1}), que é a inclinação da reta e a incerteza associada (u_{β_1}) por meio das equações 39-41 (Eq 39-41):

$$S_{x,y} = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{i=1}^n (Y - \bar{Y})^2} \quad \text{Eq 39}$$

$$u_{\beta_1} = \frac{S_{x,y}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X - \bar{X})^2}} \quad \text{Eq 40}$$

$$F_{\beta_1} = \frac{\beta_1}{u_{\beta_1}} \quad \text{Eq 41}$$

A ISO GUIA 35 também apresenta um método de acompanhamento da estabilidade. Essa metodologia, apesar de gerar “validades” maiores demandam maior gasto de recursos uma vez que a análise do material de referência é realizada constantemente durante toda a vida útil do material de referência. Portanto para este trabalho optou-se pela não utilização dessa metodologia.

3.9 Estimativa da incerteza

Segundo o VIM a incerteza pode ser definida como “Parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão dos valores atribuídos a um mensurando, com base nas informações utilizadas”²¹. Normalmente, a incerteza é conhecida como a “dúvida” associada a um resultado, porém essa é uma visão tendenciosa que não representa corretamente a incerteza.

Um termo mais adequado para representar a incerteza seria “confiabilidade”, ou seja, para um resultado a incerteza representa o nível de confiança que se pode ter ao afirmar que o valor real (VR) de uma análise se encontra no intervalo dado pelo o valor medido (VM) $\pm$ a incerteza, conforme apresentado na descrição abaixo.

$$(VM - \text{Incerteza}) < VR < (VM + \text{Incerteza})$$

Normalmente o fator de confiabilidade utilizado encontra-se em 95%, significando que existe 95% de chance de o valor real estar dentro do intervalo de confiança.

Em 1993 foi publicado o Guia de Expressão da incerteza de medidas (em inglês *GUM - Evaluation of measurement data — Guide to the expression of Uncertainty in Measurement*) aplicado como guia geral para a avaliação e expressão das incertezas. Utilizando o GUM como base, uma colaboração entre organizações criou o Guia EURACHEM/CITAC (Determinando a incerteza na medição analítica)²⁶ que aplica os conceitos descritos na GUM para a química analítica.

De acordo com o guia EURACHEM/Citac é possível agrupar as incertezas em dois tipos²⁶:

- Tipo A: São as incertezas obtidas por meio de métodos estatísticos derivados de uma série de observações, normalmente são representados pelo desvio padrão experimental da média dos resultados, ou segundo o VIM “Avaliação duma componente da incerteza de medição por uma análise estatística dos valores medidos, obtidos sob condições definidas de medição”²¹.

- Tipo B: São as incertezas obtidas por outros meios, como, por exemplo, resultados de lotes anteriores, incertezas de calibração, especificações de equipamentos, entre outros.

Quando as incertezas são expressas por meio do desvio padrão ela é conhecida como incerteza padrão, quando se é calculada pela combinação de várias fontes de incerteza é conhecida como incerteza padrão combinada.

Para a determinação da incerteza total associada ao MRC primeiramente é necessário definir todas as fontes de incerteza que influenciam na incerteza final do material, para esse fim é interessante a utilização de diagramas de causa e efeito, também conhecidos como diagramas de Ishikawa ou diagrama espinha de peixe (Figura 7)⁴⁸. A utilização de diagramas como o de Ishikawa são mais vantajosos quanto maiores forem as possíveis fontes de incerteza.

Figura 7 Esquema representando um diagrama de Ishikawa de um MRC contendo 3 fontes principais de incerteza e suas fontes associadas.

Fonte: Adaptado de INMETRO-DIMCI-DIMEC-LAPRE⁴⁸

Após definida as fontes de incerteza a serem consideradas, é necessário determinar a extensão da influência de cada fonte para que sejam futuramente combinadas de forma a gerar a incerteza combinada. Para este trabalho utilizou-se a metodologia de propagação de incerteza.

A incerteza combinada u_c , é a componente a qual representa a faixa de dispersão, equivalente ao desvio padrão, do resultado de medição do material de referência. Ela é apresentada na Equação 42 (Eq 42)^{20, 49}.

$$U_c = \sqrt{\sum (c(x) * u(x))^2} \quad \text{Eq 42}$$

Na Equação 42 c é o coeficiente de sensibilidade determinado por meio das derivadas parciais da função y . Para uma fácil resolução da Equação 42 podemos utilizar 2 regras:

Regra 1: Em modelos que utilizam apenas somas ou diferenças entre os valores de forma que $y = (p + q + \dots)$ a Equação 42 é simplificada para a Equação 43 (Eq 43):

$$u_c(y) = \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2 + \dots} \quad \text{Eq 43}$$

Regra 2: Nos modelos envolvendo quocientes ou produtos de forma que $y = (p * q * r * \dots)$ ou $y = (p / q \dots)$ a Equação 42 é simplificada para a Equação 44 (Eq 44)

$$u_c(y) = y \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \dots} \quad \text{Eq 44}$$

Onde $u(p)/p$, $u(q)/q$ são conhecidas como incertezas padrão relativa. A incerteza padrão relativa também deve ser utilizada nos casos que as fontes de incerteza estão em unidades diferentes²⁰.

Quando se deseja expressar a incerteza associada a um mesurando é comum utilizar a incerteza expandida de forma a gerar uma faixa de confiabilidade, normalmente 95% ou 99%. A incerteza expandida é determinada ao se multiplicar a incerteza combinada por um fator k , esse fator é calculado através da formula Welch-Satterwaite (Equação 45) e nesse caso conhecida como graus de liberdade efetivos (V_{eff}). Quando os graus de liberdade não são calculados é comum utilizar-se $k=2$.

$$V_{\text{eff}} = \frac{u_c^4(y)}{\sum_{i=1}^N \frac{u_i^4(y)}{G_L}} \quad \text{Eq 45}$$

Para este trabalho a incerteza associada ao MRC é dada pela combinação da incerteza da caracterização, a incerteza da homogeneidade, e a incerteza da estabilidade de longa duração.

A contribuição da caracterização é uma incerteza padrão, avaliada por meio do desvio padrão e é obtida pela Equação 08, mostrada anteriormente.

Para determinar a influência da estabilidade, na ausência de degradação significativa, é possível avaliar sua incerteza associada (u_{Its}) por meio da Equação 46 (Eq 46.)^{23, 47} :

$$U_{\text{Its}} = X * u_{\beta 1} \quad \text{Eq 46}$$

Onde X é o tempo de prateleira desejado para a certificação.

De modo equivalente, a incerteza devido à homogeneidade do material também deve ser considerada, nesse caso sua influência é determinada por meio da Equação 30.

3.9 Elaboração do certificado

É de extrema importância para a correta utilização de um material de referência certificado, que este seja acompanhado da documentação que contenha, de forma

clara e concisa, todas as informações necessárias para seu uso. De forma a facilitar o entendimento e atender a essa necessidade foi criado em 1981 a primeira edição do ISO GUIA 31²⁷, documento que tem como objetivo orientar o produtor de MRC quanto à forma correta de elaboração de um certificado que permita a utilização eficiente do material produzido.

Segundo os requisitos dispostos na ISO GUIA 31, pode-se dividir as informações a serem adicionadas no certificado em algumas categorias conforme apresentado na Figura 8:

Figura 8 Agrupamento das informações necessárias em um certificado de material de referência.

Fonte: Adaptado de ABNT ISO GUIA 31²⁷ e Marcki D. C²⁵.

No primeiro agrupamento estão dispostas as informações referentes ao produtor do material de referência, no qual são fornecidas informações como contato do produtor, endereço, registros legais, creditações, entre outros²⁷.

O segundo agrupamento deve conter as informações do material de referência, nele devem conter as informações acerca dos componentes de interesse do material de referência, os componentes certificados para MRC e os MR, códigos inequívocos

de identificação, informações sobre a matriz utilizada, entre outras informações de relevância ao material de referência²⁷.

No terceiro agrupamento devem ser informados, quando necessário, as instruções de utilização do material de referência. Informações como: quantidade mínima de utilização; procedimentos de abertura de frascos; informações sobre homogeneização de frascos.

O quarto agrupamento é reservado para as informações de certificação do material de referência como: valores de propriedade; incertezas associadas; incerteza combinada e expandida assim como o método de obtenção desses resultados²⁷.

No agrupamento da rastreabilidade devem ser repassadas informações suficientes de forma a garantir a rastreabilidade dos resultados obtidos.

Finalmente, deve ser informado as datas de emissão do certificado e possíveis revisões. Caso haja necessidade de monitoramento da estabilidade, emissões de novos certificados ou outros fatores que requeiram a recertificação, essas informações devem ser notificadas ao usuário através dessa secção.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Produção do MRC

O material utilizado para a produção do MRC foi obtido através de uma parceria estabelecida com o LANAGRO-SP/Jundiaí (Laboratórios nacionais agropecuários – São Paulo, laboratório de Jundiaí) que possuía uma mistura de fertilizantes minerais obtidos durante as atividades de fiscalização. Inicialmente os mensurandos de interesse para a caracterização são os elementos considerados como micronutrientes e contaminantes nos fertilizantes minerais, como por exemplo os elementos Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn.

Por meio dessa parceria foram obtidos 6 kg da matriz de fertilizante mineral fornecido pelo LANAGRO-GO e pelo LANAGRO-SP. Esse material foi obtido através da junção das amostras coletadas para as atividades de fiscalização realizadas pelas unidades.

O material foi processado manualmente com a utilização de peneira de abertura de 0,42mm. O material peneirado foi separado e a parte retida foi tratada com auxílio de almofariz. Após triturado, o material foi novamente passado pela peneira, o processo foi repetido até que não houvesse retenção de material.

Em seguida todo o fertilizante obtido foi processado com o auxílio de um homogeneizador automático em V por 10 min (exemplificado pela figura 9, Modelo LUCA 05/01 da empresa LUCADEMA) de forma a garantir uma melhor homogeneidade, o lote foi então fracionado em frascos através da utilização de um separador automático de amostras. Ao final do procedimento foram obtidos 128 frascos contendo aproximadamente 46 gramas do candidato à material de referência.

Figura 9 Exemplo de homogeneizador automático em V.

Fonte: Imagem obtida na internet.

4.2 Caracterização do MRC.

4.2.1 Avaliação da homogeneidade

Para a avaliação da homogeneidade foram separados 10 frascos do candidato a material de referência certificado, no qual os frascos foram selecionados aleatoriamente dentre os 128 produzidos.

Os frascos foram então analisados para a avaliação da homogeneidade. Todos os testes foram realizados pelo LANAGRO sendo cada frasco analisado em duas repetições para os mesurandos de interesse: Cálcio (Ca), Cobre (Cu), Chumbo (Pb), Cromo (Cr), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Potássio (K) e Zinco (Zn).

Para este projeto, como o material de referência a ser produzido é composto da própria matriz de fertilizante mineral (não sendo, por exemplo, um candidato a MRC de substância pura) e ao fato de o LANAGRO-SP possuir um programa de ensaio interlaboratorial, o método de caracterização através de uma rede de laboratórios foi escolhido, utilizando-se do programa de ensaio interlaboratorial organizado pelo LANAGRO-SP como um programa interlaboratorial.

4.2.2 Avaliação da estabilidade

Para o estudo de estabilidade, as mesmas 10 amostras separadas para a determinação da homogeneidade foram utilizadas. O método utilizado para o estudo foi o método clássico. Como as análises foram realizadas pelo LANAGRO-SP de Jundiaí, o método clássico foi o mais vantajoso para o laboratório, uma vez que eles realizam diariamente análises de fiscalização e não possuem equipamentos adequados para a realização do método isócrono.

Devido ao custo associado ao estudo de estabilidade, para facilitar o trabalho do laboratório parceiro foram escolhidos os elementos cálcio, cobre, ferro, manganês e zinco para serem estudados no estudo de estabilidade. Esses mesurandos foram analisados em quatro amostras com 3 repetições durante um período de 12 meses, distribuídas segundo a Tabela 8. Para a primeira análise foram utilizadas as médias dos resultados obtidos para o teste de homogeneidade.

Tabela 8 Distribuição das análises do estudo de estabilidade.

	Mês 1 (jan 17)	Mês 6 (Jun 17)	Mês 9 (Sep 17)	Mês 12 (Dez 17)
Amostra 1	Análise			
Amostra 2	Armazenamento	Análise		
Amostra 3	Armazenamento	Armazenamento	Análise	
Amostra 4	Armazenamento	Armazenamento	Armazenamento	Análise

Fonte: Autoria Própria

4.3 Interlaboratorial e caracterização

Para a caracterização do candidato a material de referência certificado foi utilizada a metodologia descrita na NBR ISO/IEC 17034 e ISO GUIA 35 através de um estudo interlaboratorial^{20, 22}.

O laboratório parceiro, LANAGRO-SP, já possui um interlaboratorial para fertilizantes de matriz mineral, o qual é aplicado anualmente entre seus laboratórios e laboratórios convidados. Desta maneira, este programa de interlaboratorial foi utilizado para a caracterização do candidato a material de referência.

O interlaboratorial contou com a participação de 14 laboratórios, foram enviados aos laboratórios 2 frascos das amostras de candidato a material de referência, sendo solicitado aos participantes que analisassem as amostras em triplicata. Os frascos foram enviados no final de 2016 e os participantes do interlaboratorial retornaram seus resultados eletronicamente no começo de 2017. Para a análise do material, os laboratórios utilizam as instruções dispostas na instrução normativa SDA/MAPA Nº 28/2007⁵⁰.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da homogeneidade

Os resultados obtidos durante o estudo de homogeneidade são apresentados na Tabela 8, o tratamento dos dados foi realizado através do software comercial Excel® e seus suplementos. O apêndice A apresenta exemplo das configurações utilizadas no software.

Tabela 9 Resultado das análises das 10 amostras de homogeneidade e suas respectivas repetições. A não ser que especificados, os resultados são apresentados em %.

mensuran dos	Rep.	Amostras									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Chumbo Mg/kg	Rep 1	1853	1896	1742	1869	1813	1687	1908	1763	1881	1897
	Rep 2	1941	1952	1880	1891	1923	1978	1997	1910	2000	2012
Cromo mg/kg	Rep 1	252,0	252,0	264,0	239,0	273,0	225,0	228,0	256,0	278,0	272,0
	Rep 2	220,0	237,0	229,0	222,0	223,0	265,0	267,0	239,0	254,0	251,0
Potássio	Rep 1	10,46	10,37	10,40	10,53	10,31	10,46	10,57	10,42	10,14	10,56
	Rep 2	10,24	10,51	10,45	10,51	10,48	10,54	10,50	10,59	10,37	10,49
Cobre	Rep 1	0,114	0,117	0,117	0,119	0,116	0,114	0,120	0,111	0,107	0,125
	Rep 2	0,120	0,117	0,127	0,120	0,105	0,114	0,121	0,111	0,119	0,118

Zinco	Rep 1	0,603	0,597	0,614	0,603	0,616	0,615	0,608	0,605	0,603	0,614
	Rep 2	0,592	0,590	0,624	0,586	0,604	0,611	0,617	0,610	0,614	0,625
Ferro	Rep 1	1,102	1,133	1,097	0,976	1,102	1,105	1,148	1,108	1,119	1,097
	Rep 2	1,114	1,097	0,983	1,040	1,085	1,040	0,943	1,115	1,132	1,116
Manganês	Rep 1	0,277	0,281	0,275	0,245	0,306	0,290	0,294	0,288	0,271	0,269
	Rep 2	0,277	0,274	0,248	0,278	0,292	0,263	0,230	0,293	0,290	0,296
Cálcio	Rep 1	9,127	8,86	9,089	8,937	8,852	8,576	8,979	8,937	8,858	9,094
	Rep 2	9,052	8,96	8,928	8,798	9,053	8,95	9,097	8,903	8,963	8,829

Fonte: Autoria Própria

Com a utilização do suplemento de análise de dados do Excel®, os resultados obtidos no estudo de homogeneidade foram avaliados através do teste de análise de variância ANOVA que utiliza a Equação 32. Os dados também foram avaliados pelas diretrizes apresentadas na ISO GUIA 35 (equações 19 – 31) e apresentados nas Figuras 10 – 17 e compilados na Tabela 10.

Figura 10 Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Ca.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	
1	Elemento Ca									
2	Amostra	Rep 1	Rep 2	Média Rep	Dispersão Dy					
3	1	9.127	9.052	9.09	0.003	SS Entre	MQ Entre	0.152285233	0.016920581	
4	2	8.854997	8.96	8.91	0.006					
5	3	9.089	8.928	9.01	0.013					
6	4	8.937	8.798	8.87	0.010	SS Dentro	MQ Dentro	0.1692	0.016924978	
7	5	8.852	9.053	8.95	0.020					
8	6	8.576	8.95	8.76	0.070					
9	7	8.979	9.097	9.04	0.007	n	nj	j		
10	8	8.937	8.903	8.92	0.001					
11	9	8.858	8.963	8.91	0.006					
12	10	9.094	8.829	8.96	0.035	2	20	10		
13			Média das médias	8.94	Fator F		0.999740235			
14										
15										
17	$U_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n} * \frac{2}{MQ_{dentro}}}$					$U_{bb}^2 = \frac{(MQ_{entre} - MQ_{dentro})}{n}$				
18										
20	0.061518616					-2.19825E-06				
21										
22										
23	G%		0.687985337							
24										
25										

Fonte: Autoria própria.

Figura 11 Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Mn.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	
1	Elemento Mn									
2	Amostra	Rep 1	Rep 2	Média Rep	Dispersão Dy					
3	1	0.277	0.277	0.28	0.000	SS Entre	MQ Entre	0.00282905	0.000314339	
4	2	0.281	0.274	0.28	0.000					
5	3	0.275	0.248	0.26	0.000					
6	4	0.245	0.278	0.26	0.001					
7	5	0.306	0.292	0.30	0.000	SS Dentro	MQ Dentro	0.0040	0.00040015	
8	6	0.290	0.263	0.28	0.000					
9	7	0.294	0.230	0.26	0.002					
10	8	0.288	0.293	0.29	0.000					
11	9	0.271	0.290	0.28	0.000	n	nj	j		
12	10	0.269	0.296	0.28	0.000	2	20	10		
13			Média das médias	0.28	Fator F	0.78555264				
14										
15										
16	$U_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n} * \frac{2}{MQ_{dentro}}}$					$U_{bb}^2 = \frac{(MQ_{entre} - MQ_{dentro})}{n}$				
17										
18										
19										
20	0.009459189					-4.29056E-05				
21										
22										
23	G%		3.416719953							
24										
25										

Fonte: Autoria própria.

Figura 12 Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Fe.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Elemento Fe								
2	Amostra	Rep 1	Rep 2	Média Rep	Dispersão Dy				
3	1	1.102	1.114	1.11	0.000	SS Entre	MQ Entre		
4	2	1.133	1.097	1.12	0.001				
5	3	1.097	0.983	1.04	0.006			0.0278378	0.003093089
6	4	0.976	1.040	1.01	0.002				
7	5	1.102	1.085	1.09	0.000	SS Dentro	MQ Dentro		
8	6	1.105	1.040	1.07	0.002				
9	7	1.148	0.943	1.05	0.021			0.0328	0.0032825
10	8	1.108	1.115	1.11	0.000				
11	9	1.119	1.132	1.13	0.000	n	nj	j	
12	10	1.097	1.116	1.11	0.000	2	20	10	
13			Média das médias	1.08	Fator F		0.942296691		
14									
15									
16	$U_{bb} = \frac{MQ_{dentro}}{\sqrt{\frac{2}{n}}} \sqrt{\frac{2}{MQ_{dentro}}}$						$U_{bb}^2 = \frac{(MQ_{entre} - MQ_{dentro})}{n}$		
17									
18									
19	0.027092237						-9.47056E-05		
20									
21									
22									
23									
24	G%		2.502515901						
25									

Fonte: Autoria própria.

Figura 13 Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Zn.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Elemento Zn								
2	Amostra	Rep 1	Rep 2	Média Rep	Dispersão Dy				
3	1	0.603	0.592	0.60	0.000	SS Entre	MQ Entre		
4	2	0.597	0.590	0.59	0.000				
5	3	0.614	0.624	0.62	0.000			0.00160745	0.000178606
6	4	0.603	0.586	0.59	0.000	SS Dentro	MQ Dentro		
7	5	0.616	0.604	0.61	0.000				
8	6	0.615	0.611	0.61	0.000				
9	7	0.608	0.617	0.61	0.000	0.0005	5.335E-05		
10	8	0.605	0.610	0.61	0.000				
11	9	0.603	0.614	0.61	0.000	n	nj	j	
12	10	0.614	0.625	0.62	0.000	2	20	10	
13			Média das médias	0.61	Fator F	3.347807977			
14									
15									
16	$U_{bb} = \frac{MQ_{dentro}}{\sqrt{\frac{2}{n}}} \sqrt{\frac{2}{MQ_{dentro}}}$					$U_{bb}^2 = \frac{(MQ_{entre} - MQ_{dentro})}{n}$			
17									
18									
19	0.0034539					6.26278E-05			
20									
21									
22									
23									
24	G%		0.568496359						
25									

Fonte: Autoria própria.

Figura 14 Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Cu.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I				
1	Elemento Cu												
2	Amostra	Rep 1	Rep 2	Média Rep	Dispersão Dy								
3	1	0.114	0.120	0.12	0.000	SS Entre	MQ Entre	0.0003308	3.67556E-05				
4	2	0.117	0.117	0.12	0.000								
5	3	0.117	0.127	0.12	0.000								
6	4	0.119	0.120	0.12	0.0000005	SS Dentro	MQ Dentro	0.0002	0.0000226				
7	5	0.116	0.105	0.11	0.000								
8	6	0.114	0.114	0.11	0.000								
9	7	0.120	0.121	0.12	0.000	n	nj	j					
10	8	0.111	0.111	0.11	0.000								
11	9	0.107	0.119	0.11	0.000								
12	10	0.125	0.118	0.12	0.000	2	20	10					
13			Média das médias	0.12	Fator F	1.626352016							
14													
15													
16	$U_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n}} + \sqrt{\frac{2}{MQ_{dentro}}}$					$U_{bb}^2 = \frac{(MQ_{entre} - MQ_{dentro})}{n}$							
17													
18													
19	0.002248002					7.07778E-06							
20													
21													
22													
23	G%		1.92796067										
24													
25													

Fonte: Autoria própria.

Figura 15 Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Cr.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Elemento Cr								
2	Amostra	Rep 1	Rep 2	Média Rep	Dispersão Dy				
3	1	252.000	220.000	236.00	512.000	SS Entre	MQ Entre		
4	2	252.000	237.000	244.50	112.500				
5	3	264.000	229.000	246.50	612.500				
6	4	239.000	222.000	230.50	144.5000000				
7	5	273.000	223.000	248.00	1250.000	SS Dentro	MQ Dentro		
8	6	225.000	265.000	245.00	800.000				
9	7	228.000	267.000	247.50	760.500				
10	8	256.000	239.000	247.50	144.500				
11	9	278.000	254.000	266.00	288.000	n	nj	j	
12	10	272.000	251.000	261.50	220.500	2	20	10	
13			Média das médias	247.30	Fator F		0.44747162		
14									
15									
16	$U_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n} * \frac{2}{MQ_{dentro}}}$					$U_{bb}^2 = \frac{(MQ_{entre} - MQ_{dentro})}{n}$			
17									
18									
19	10.40852984					-133.85			
20									
21									
22									
23									
24	G%		4.208867709						
25									

Fonte: Autoria própria.

Figura 16 Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento Pb.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Elemento Pb								
2	Amostra	Rep 1	Rep 2	Média Rep	Dispersão Dy				
3	1	1853	1941	1897.00	3872.000	SS Entre	MQ Entre		
4	2	1896	1952	1924.00	1568.000				
5	3	1742	1880	1811.00	9522.000			49628.05	5514.227778
6	4	1869	1891	1880.00	242.0000000				
7	5	1813	1923	1868.00	6050.000	SS Dentro	MQ Dentro		
8	6	1687	1978	1832.50	42340.500				
9	7	1908	1997	1952.50	3960.500			92052.5000	9205.25
10	8	1763	1910	1836.50	10804.500				
11	9	1881	2000	1940.50	7080.500	n	nj	j	
12	10	1897	2012	1954.50	6612.500	2	20	10	
13			Média das médias	1889.65	Fator F	0.599030746			
14									
15									
16	$U_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n} * \frac{2}{MQ_{dentro}}}$					$U_{bb}^2 = \frac{(MQ_{entre} - MQ_{dentro})}{n}$			
17									
18									
19	45.36911367					-1845.511111			
20									
21									
22									
23									
24	G%		2.400926821						
25									

Fonte: Autoria própria.

Figura 17 Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade para o elemento K.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Elemento K								
2	Amostra	Rep 1	Rep 2	Média Rep	Dispersão Dy				
3	1	10.46	10.24	10.35	0.024	SS Entre	MQ Entre		
4	2	10.37	10.51	10.44	0.010				
5	3	10.40	10.45	10.43	0.001				
6	4	10.53	10.51	10.52	0.0002000	0.1496			0.01662222
7	5	10.31	10.48	10.40	0.014	SS Dentro	MQ Dentro		
8	6	10.46	10.54	10.50	0.003				
9	7	10.57	10.50	10.54	0.002				
10	8	10.42	10.59	10.51	0.014	0.0989			0.00989
11	9	10.14	10.37	10.26	0.026	n	nj	j	
12	10	10.56	10.49	10.53	0.002	2	20	10	
13			Média das médias	10.45	Fator F	1.680710033			
14									
15									
16	$U_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{dentro}}{n}} * \sqrt{\frac{2}{MQ_{dentro}}}$					$U_{bb}^2 = \frac{(MQ_{entre} - MQ_{dentro})}{n}$			
17									
18									
19	0.047026282					0.003366111			
20									
21									
22									
23									
24	G%		0.450227691						
25									

Fonte: Autoria própria.

Tabela 10 Tabela contendo os resultados da avaliação da homogeneidade, resultados encontram-se nas mesmas unidades da tabela 9.

Mesurandos	MQ Entre	MQ Dentro	U_{bb}
Chumbo	5514,23	9205,25	45,37
Cromo	216,8	484,5	10,4
Potássio	0,017	0,0099	0,047
Cobre	3,7 e-05	0,000023	0,0022
Zinco	0,00018	0,33 e-05	0,0034
Ferro	0,0031	0,0033	0,027
Manganês	0,0003	0,0004	0,009
Cálcio	0,017	0,017	0,062

Fonte: Autoria própria.

A análise de ANOVA foi realizada comparando-se o valor calculado do fator F (conforme Equação 32) com o F crítico apresentado na Tabela 5, o valor utilizado é o valor onde $GL_1 = 9$ e $GL_2 = 10$. Os resultados são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 Resultado do teste de ANOVA para a homogeneidade do material de referência.

mensuran dos	Fator F	F Crítico	Resultado	GH %
Chumbo	0,599	3,0204	Homogêneo	2,4
Cromo	0,4474	3,0204	Homogêneo	4,2
Cobre	1,626	3,0204	Homogêneo	1,9
Zinco	3,35	3,0204	Não homogêneo	0,6
Ferro	0,94	3,0204	Homogêneo	2,5
Manganês	0,785	3,0204	Homogêneo	3,4
Cálcio	0,999	3,0204	Homogêneo	0,7
Potássio	1,6807	3,0204	Homogêneo	0,45

Fonte: Autoria própria.

Quando analisamos os resultados observa-se que a maior parte dos mensurandos apresentam homogeneidade satisfatória segundo a ANOVA (valor de F menor que o valor crítico), exceto para o zinco (Zn) que apresentou o teste de homogeneidade com um resultado de não homogeneidade.

Apesar do zinco apresentar um resultado de não homogeneidade, quando avaliamos os dados segundo as diretrizes da ISO 35 (através do grau de heterogeneidade) o resultado obtido é que o material, para o mensurando de interesse, apresenta um grau de heterogeneidade de apenas 0,6%.

Observa-se que apesar de apresentar um resultado de não homogêneo, o zinco apresenta um baixo grau de heterogeneidade, mesmo quando comparado com, por exemplo, o cromo, que foi considerado pelo teste de ANOVA como homogêneo.

Esse comportamento pode ser explicado ao se analisar a forma de cálculo do fator F, apresentado na Equação 32. Nela podemos observar que o fator é obtido pelo quociente entre a média quadrática dos resultados entre os frascos e a média quadrática dos resultados dentro dos frascos, ou seja, o quociente é realizado pela comparação da homogeneidade (MQ_{entre}) com a repetibilidade da análise (MQ_{dentro}).

Esse tipo de comparação, apesar de ser um método válido de comparação dos resultados, podem gerar “falsos negativos” (erro do tipo I, que é rejeitar uma hipótese de inferência mesmo quando esta é verdadeira) como o que observamos para o caso do zinco. Esse tipo de resultado surge, para o teste F, quando utilizamos métodos de análise com alto nível de repetibilidade o que torna o resultado de MQ_{dentro} baixo devida a baixa variação entre as repetições. Nesses casos, pequenas variações que venham a ocorrer entre os frascos podem gerar resultados de não homogeneidade.

Deste modo, a melhor maneira de se avaliar a homogeneidade é através do grau de heterogeneidade, que nos fornece valores para a incerteza da homogeneidade. A NBR ISO/IEC 17034 estipula que cabe ao produtor do MRC estipular o grau de heterogeneidade aceito pelo material, levando em consideração o uso pretendido, a matriz utilizada, os mensurandos de interesse, entre outras informações que sejam relevantes para essa decisão. Para este trabalho foram considerados aceitos graus de heterogeneidade de até 5%.

Após a realização do estudo de caracterização os laboratórios participantes enviaram resultados para elementos que não haviam sido estudados previamente durante o estudo de homogeneidade. Para esses elementos a avaliação da homogeneidade foi realizada por meio dos resultados fornecidos para o estudo de caracterização. Como a avaliação da homogeneidade através do GH apresenta

resultados quantitativos, ao contrário da ANOVA, apenas a avaliação por GH foi realizada para esses elementos e esses resultados são apresentados na Tabela 12

Tabela 12 Análise de homogeneidade dos elementos adicionais analisados pelos laboratórios. Ubb encontra-se nas mesmas unidades da tabela 9.

mensurandos	GH %	Ubb
Níquel	2,18	0,00016
Molibdênio	0,92	0,0019
Magnésio	0,95	0,021
Cobalto	0,5	0,0002
Cádmio	1,27	0,10

Fonte: Autoria própria.

5.2 Estudo de estabilidade

Os resultados obtidos durante o estudo estão apresentados na Tabela 13. Durante o estudo de estabilidade foram avaliados os elementos cálcio, cobre, ferro, manganês e zinco.

Tabela 13 Resultados do estudo de estabilidade. Resultados em %.

	<i>Mês 1</i>			<i>Mês 6</i>			<i>Mês 9</i>			<i>Mês 12</i>		
<i>Ca</i>	8,94	8,94	8,94	9,117	9,136	9,143	9,425	9,335	9,377	8,908	9,086	8,965
<i>Cu</i>	0,12	0,12	0,12	0,116	0,12	0,139	0,123	0,121	0,122	0,113	0,114	0,126
<i>Fe</i>	1,08	1,08	1,08	0,964	0,965	0,984	1,005	1,002	1,015	1,009	1,009	1,015
<i>Mn</i>	0,28	0,28	0,28	0,285	0,283	0,283	0,28	0,29	0,284	0,291	0,277	0,28
<i>Zn</i>	0,28	0,28	0,28	0,578	0,587	0,575	0,579	0,581	0,579	0,591	0,6	0,593

Fonte: Autoria própria.

Primeiramente, os resultados foram plotados para melhor visualização. Os gráficos gerados são apresentados nas Figuras 18-22. Sendo que os dados em amarelo representam a média dos valores e sua respectiva regressão linear. Os pontos laranjas representam a primeira repetição, os pontos azuis representam a segunda repetição, os pontos cinzas a terceira repetição e os pontos amarelos a média das repetições.

Figura 18 Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Ca.

Fonte: Autoria própria.

Figura 19 Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Cu.

Fonte: Autoria própria.

Figura 20 Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Fe.

Fonte: Autoria própria.

Figura 21 Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Mn.

Fonte: Autoria própria.

Figura 22 Gráfico representando os resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Zn.

Fonte: Autoria própria.

Ao observar-se os gráficos obtidos pela regressão linear pode-se questionar a utilização do ajuste linear ao invés de outras metodologias, o ajuste linear é sugerido pela ISO GUIA 35²⁰ para casos em que os mecanismos cinéticos que causam a instabilidade são desconhecidos. Para as situações em que os mecanismos cinéticos são conhecidos, como por exemplo a degradação de um composto radioativo, as equações que representam a instabilidade podem ser utilizadas.

Além da visualização gráfica, os resultados também foram avaliados segundo a ISO GUIA 35²⁰. Os resultados são apresentados nas Figuras 23-27, e um resumo desses resultados também são apresentados na Tabela 14.

Figura 23 Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Ca.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Elemento Ca									
2	Mês (x)	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Média (Ȳ)	Soma (Xi-Xm)*(Yi-Ȳ)		Soma (Xi-Xm)^2		
3	1	8.94	8.94	8.94	8.940	0.9177		66		
4	6	9.117	9.136	9.143	9.132					
5	9	9.425	9.335	9.377	9.379	b0		b1		
6	12	8.908	9.086	8.965	8.986					
7	Média de X	Média das médias	9.11			9.012		0.0139		
8	7				Y=b0 + b1 * X					
9	Regressão Linear		Y=b0 + b1 * X							
10										
11	Y=9.01200505050505+0.01390404040404* X									
12										
13	s²	s(b1)	V(b0)		Sxy		0.192887			
14					Sxy		0.192887			
15					Ub		0.023743			
16	0.052138696	0.028107	0.051744		Teste T		0.586			
17										

Fonte: Autoria própria.

Figura 24 Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Cu.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Elemento Cu									
2	Mês (x)	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Média (Ȳ)	Soma (Xi-Xm)*(Yi-Ȳ)		Soma (Xi-Xm)^2		
3	1	0.12	0.12	0.12	0.120					
4	6	0.116	0.12	0.139	0.125	-0.0127		66		
5	9	0.123	0.121	0.122	0.122	b0		b1		
6	12	0.113	0.114	0.126	0.118					
7	Média de X	Média das médias	0.12			0.123		-0.0002		
8	7				Y=b0+ b1 * X Y=0.122510101010101+0.0001919191919192* X					
9	Regressão Linear		Y=b0+ b1 * X							
10										
11										
12										
13	s²	s(b1)	V(b0)		Sxy		0.007040			
14					Sxy		0.007040			
15	1.32845E-05	0.000449	1.32E-05		Ub		0.000867			
16				Teste T		0.221				
17										

Fonte: Autoria própria.

Figura 25 Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Fe.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Elemento Fe									
2	Mês (x)	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Média (ȳ)	Soma (Xi-Xm)*(Yi-ȳ)	Soma (Xi-Xm)^2			
3	1	1.08	1.08	1.08	1.080					
4	6	0.964	0.965	0.984	0.971	-0.3827	66			
5	9	1.005	1.002	1.013	1.007					
6	12	1.009	1.009	1.015	1.011	b0	b1			
7	Média de X	Média das médias	1.02			1.058	-0.0058			
8	7									
9	Regressão Linear		Y=b0 + b1 * X		Y=b0 + b1 * X					
10					Y=1.05775252525253+-0.005797979797981* X					
11										
12	s²	s(b1)	V(b0)							
13					Sxy	0.043618				
14					Ub	0.005369				
15	0.002004487	0.005511	0.001989		Teste T	1.080				
16										
17										

Fonte: Autoria própria.

Figura 26 Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Mn.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Elemento Mn									
2	Mês (x)	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Média (ȳ)	Soma (Xi-Xm)*(Yi-ȳ)	Soma (Xi-Xm)^2			
3	1	0.28	0.28	0.28	0.280					
4	6	0.285	0.283	0.283	0.284	0.0190	66			
5	9	0.28	0.29	0.284	0.285					
6	12	0.291	0.277	0.28	0.283	b0	b1			
7	Média de X	Média das médias	0.28			0.281	0.0003			
8	7									
9	Regressão Linear		Y=b0 + b1 * X		Y=b0 + b1 * X					
10					Y=0.280734848484848+0.0002878787878786* X					
11										
12	s²	s(b1)	V(b0)							
13					Sxy	0.004453				
14					Ub	0.000548				
15	3.30682E-06	0.000224	3.28E-06		Teste T	0.525				
16										
17										

Fonte: Autoria própria.

Figura 27 Tratamento de dados dos resultados obtidos durante o estudo de estabilidade do elemento Zn.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Elemento Zn									
2	Mês (x)	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Média (Ȳ)	Soma (Xi-Xm)*(Yi-Ȳ)	Soma (Xi-Xm)^2			
3	1	0.607	0.607	0.607	0.607					
4	6	0.578	0.587	0.575	0.580	-0.0893	66			
5	9	0.579	0.581	0.579	0.580	b0	b1			
6	12	0.591	0.6	0.593	0.595					
7	Média de X	Média das médias	0.59			0.600	-0.0014			
8	7				Y=b0 + b1 * X					
9	Regressão Linear		Y=b0 + b1 * X							
10					Y=0.599808080808081+-0.00135353535353536* X					
11										
12	s²	s(b1)	V(b0)							
13										
14				Sxy	0.012949					
15				Ub	0.001594					
16	0.000198098	0.001732	0.000197	Teste T	0.849					
17										

Fonte: Autoria própria.

Tabela 14 Resumo dos resultados da análise de dados do estudo de estabilidade.

	b0	b1	s²	S(b1)	V(b0)	Sxy	Ub
Ca	9,012	0,0139	0,0521	0,0281	0,0517	0,193	0,0237
Cu	0,123	-0,0002	1,3e-05	0,00045	1,3e-05	0,007040	0,000867
Fe	1,058	-0,0058	0,002	0,005511	0,001989	0,0436	0,0054
Mn	0,281	0,0003	3,3e-06	0,000224	3,3e-06	0,00445	0,00055
Zn	0,600	-0,0014	0,0002	0,001732	0,000197	0,012949	0.001594

Fonte: Autoria própria.

Para cada mensurando em cada ponto, as análises foram realizadas em triplicata. Apesar do gráfico facilitar a visualização dos resultados, uma análise mais aprofundada como as diretrizes estipuladas pela ISO GUIA 35²⁰ ainda é necessária para se saber a extensão da incerteza associada ao estudo de estabilidade.

Por meio dessas diretrizes foi possível calcular a incerteza Ub associada para cada mensurando de interesse, e comparar a incerteza ao valor da média das médias

($\bar{\bar{Y}}$) (Tabela 15) (o termo $\frac{Ub}{\bar{\bar{Y}}} * 100$ é conhecido por incerteza relativa e pode ser denotado por Ub') para ter uma avaliação percentual da influência da incerteza sobre o valor do MRC. Vale lembrar que a observação percentual deve ser utilizada de maneira puramente qualitativa, e para a produção do certificado apenas a incerteza deve ser levada em consideração.

Tabela 15 Comparação percentual da incerteza em relação a média das médias.

	$\bar{\bar{Y}}$	Ub	U_b'
Ca	9,11	0,0237	0,26
Cu	0,12	0,000867	0,72
Fe	1,02	0,0054	0,53
Mn	0,28	0,00055	0,20
Zn	0,59	0,001594	0,27

OBS: As unidades de $\bar{\bar{Y}}$ e Ub são apresentadas em percentual (%)

Fonte: Autoria própria.

Quando observamos a variação percentual da incerteza sobre o valor da média é possível notar que a sua influência sobre o valor é abaixo de 1%, porém essa influência acumula durante os meses, nesse caso é necessário avaliar a influência da incerteza durante o tempo de prateleira escolhido para o MRC.

$$U_{Its} = X * u_{\beta 1} \quad \text{Eq 46}$$

O tempo de prateleira deve ser escolhido, e sua incerteza deve ser avaliada por meio da Equação 46. O tempo de prateleira deve ser determinado pelo produtor do material de referência, que deve levar em conta o tempo de “vida” desejado para o

material. Apesar do produtor poder escolher a validade do material, ele deve fazê-lo considerando a incerteza final que acompanhará o produto. Uma vez que a incerteza aumenta com o tempo escolhido é dever do produtor escolher um tempo adequado de forma a possuir a menor incerteza e o maior tempo de prateleira.

Segundo a ISO GUIA 35 o tempo de prateleira é determinado a partir da certificação do material, neste caso, a partir da finalização do estudo de estabilidade. Para este projeto escolheu-se um tempo de prateleira de 3 anos. O valor de U_{lts} para os elementos de interesse são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 Cálculo da incerteza associada ao tempo de prateleira escolhido (36 meses) para os mesurandos analisados.

	U_{b1}	U_{lts}	U_{lts}'
Ca	0,0237	0,85	0,26
Cu	0,000867	0,031	0,72
Fe	0,0054	0,194	0,529
Mn	0,00055	0,0198	0,196
Zn	0,001594	0,057	0,27

OBS: As unidades de $\bar{Y}$ e U_b são apresentadas em percentual (%)

Fonte: Autoria própria.

Após o cálculo, quando se observa que a incerteza associada ao estudo de longa duração para um determinado elemento encontra-se muito elevado o produtor do material de referência pode utilizar-se de duas estratégias:

- Reduzir o tempo de prateleira, de forma a reduzir a incerteza final.
- Remover o elemento em questão da lista de elementos certificados e utilizá-lo como um mensurando de referência.

Ambas as opções possuem suas vantagens e desvantagens. No caso de se reduzir o tempo de prateleira, aumenta-se o custo do material de referência uma vez que o material terá um menor tempo de vida. Por outro lado, ao remover-se o elemento da certificação, apesar do elemento ainda poder ser utilizado como um material de referência não certificado, “perde-se” a informação referente a certificação.

5.3 Estudo de caracterização

Os resultados recebidos dos laboratórios participantes do interlaboratorial são apresentados nas Tabelas 17-28. Apesar das amostras terem sido enviadas para 13 laboratórios, nem todos os participantes realizam a determinação de todos os mensurandos presentes. Para preservar a identidade dos laboratórios, suas identificações foram definidas por meio de numeração.

Tabela 17 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Zn.

Elemento	Repetição*					
Zn						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	0,627	0,634	0,612	0,605	0,646	0,623
2	0,604	0,597	0,608	0,621	0,601	0,607
3	0,605	0,608	0,607	0,608	0,609	0,605
4	0,45	0,452	0,448	0,442	0,45	0,443
5	0,629	0,622	0,629	0,629	0,631	0,641
6	0,605	0,59	0,584	0,587	0,595	0,587
7	0,607	0,584	0,582	0,605	0,594	0,573
8	0,662	0,697	0,684	0,682	0,667	0,578
9	0,652	0,649	0,65	0,648	0,651	0,649
10	0,529	0,523	0,519	0,498	0,501	0,486
11	0,700	0,700	0,680	0,680	0,690	0,690
12	0,638	0,608	0,622	0,623	0,627	0,610
13	0,504	0,500	0,507	0,515	0,524	0,499

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em %. Fonte: Autoria própria.

Tabela 18 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Pb.

Elemento	Repetição*					
Pb						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	167,2	162,9	165,5	164,4	166,6	166
2	163,6	157,9	166,4	159,6	152,9	150,6
3	135,6	141,9	138,5	138,9	137,5	136,6
4	146,7	183,3	166,7	140,0	146,7	143,3
5	169,7	175,1	171,8	172,7	173,1	172,5
6	173,25	167,03	171,11	174,76	168,81	175,44
7	-	-	-	-	-	-
8	162,2	158,4	166,9	134,7	123,2	126,0
9	152,12	151,7	152,8	152,3	151,9	151,76
10	110,7	111,3	110,4	110,4	111,7	110,8
11	94,0	92,7	95,3	96,8	95,1	93,7
12	119,4	129,3	129,4	129,6	119,2	129,6
13	-	-	-	-	-	-

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em mg/kg.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 19 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Ni.

Elemento	Repetição*					
Ni						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	0,0078	0,0077	0,0076	0,0075	0,0078	0,0077
2	0,008145	0,008207	0,008171	0,008562	0,008259	0,008091
3	0,0073	0,0072	0,0072	0,0073	0,0074	0,0074
4	0,0074	0,0076	0,0097	0,0089	0,0089	0,0093
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	0,0068	0,0076	0,0077	0,0065	0,0053	0,0059
9	0,0050	0,0040	0,0051	0,0052	0,0050	0,0042
10	-	-	-	-	-	-
11	0,0039	0,0041	0,0042	0,0040	0,0039	0,0042
12	0,0048	0,0048	0,0048	0,0049	0,0049	0,0047
13	0,0059	0,0058	0,0058	0,0060	0,0058	0,0059

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em mg/kg. Fonte: Autoria própria.

Tabela 20 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Mo.

Elemento	Repetição*					
Mo						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	0,199	0,213	0,213	0,221	0,212	0,218
2	0,214	0,204	0,210	0,210	0,201	0,204
3	0,219	0,209	0,210	0,218	0,211	0,212
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	0,186	0,184	0,192	0,188	0,188	0,188
7	-	-	-	-	-	-
8	0,206	0,221	0,206	0,217	0,227	0,210
9	0,240	0,245	0,241	0,24	0,243	0,244
10	-	-	-	-	-	-
11	0,187	0,208	0,206	0,203	0,194	0,209
12	0,209	0,199	0,199	0,199	0,199	0,198
13	0,179	0,182	0,182	0,186	0,182	0,178

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em %. Fonte: Autoria própria.

Tabela 21 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Mn.

Elemento	Repetição*					
Mn						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	0,272	0,291	0,283	0,267	0,270	0,283
2	0,300	0,297	0,302	0,301	0,289	0,300
3	0,285	0,281	0,280	0,281	0,289	0,283
4	0,236	0,254	0,255	0,248	0,244	0,244
5	0,309	0,314	0,302	0,300	0,308	0,305
6	0,279	0,272	0,272	0,275	0,279	0,270
7	0,273	0,261	0,255	0,257	0,274	0,256
8	0,309	0,304	0,296	0,299	0,342	0,327
9	0,295	0,292	0,284	0,290	0,294	0,290
10	0,237	0,240	0,239	0,236	0,240	0,243
11	0,25	0,26	0,26	0,26	0,26	0,27
12	0,262	0,249	0,252	0,249	0,244	0,245
13	0,225	0,228	0,217	0,234	0,227	0,224

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em %. Fonte: Autoria própria.

Tabela 22 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Mg.

Elemento	Repetição*					
Mg						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	2,60	2,59	2,59	2,54	2,56	2,60
2	2,333	2,276	2,310	2,343	2,257	2,293
3	2,33	2,29	2,31	2,34	2,37	2,32
4	2,26	2,41	2,43	2,32	2,35	2,51
5	2,22	2,22	2,24	2,22	2,29	2,22
6	2,29	2,19	2,16	2,25	2,21	2,13
7	1,71	1,41	1,64	1,55	1,69	1,66
8	2,10	2,12	2,19	2,16	2,20	2,15
9	2,254	2,270	2,220	2,280	2,210	2,240
10	2,26	2,28	2,28	2,25	2,21	2,25
11	2,40	2,47	2,40	2,42	2,40	2,47
12	2,37	2,34	2,41	2,37	2,40	2,42
13	2,02	1,97	2,01	2,01	2,02	1,96

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em %. Fonte: Autoria própria.

Tabela 23 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Fe.

Elemento	Repetição*					
Fe						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	0,941	0,972	0,978	0,958	0,975	0,990
2	0,981	0,985	1,003	1,002	0,979	1,005
3	1,000	0,991	1,000	1,000	1,000	0,992
4	0,929	0,951	1,017	0,935	0,939	0,979
5	0,896	0,869	0,920	0,923	0,918	0,930
6	0,951	0,925	0,930	0,930	0,918	0,918
7	-	-	-	-	-	-
8	0,972	1,054	1,063	0,983	0,979	1,08
9	1,026	1,021	1,018	1,025	1,023	1,022
10	0,795	0,793	0,795	0,788	0,793	0,775
11	1,06	1,04	1,02	1,05	1,04	1,08
12	0,918	0,962	0,926	0,937	0,896	0,948
13	0,853	0,826	0,845	0,874	0,855	0,878

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em %. Fonte: Autoria própria.

Tabela 24 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Cu.

Elemento	Repetição*					
Cu						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	0,116	0,127	0,116	0,116	0,123	0,121
2	0,114	0,112	0,111	0,115	0,123	0,115
3	0,120	0,119	0,121	0,122	0,118	0,119
4	0,103	0,106	0,104	0,110	0,118	0,113
5	0,130	0,129	0,130	0,123	0,124	0,124
6	0,114	0,114	0,110	0,114	0,112	0,113
7	0,110	0,116	0,110	0,102	0,113	0,108
8	0,129	0,136	0,138	0,131	0,131	0,124
9	0,119	0,119	0,118	0,118	0,116	0,119
10	0,098	0,100	0,102	0,092	0,094	0,095
11	0,13	0,12	0,13	0,10	0,13	0,13
12	0,122	0,118	0,119	0,119	0,118	0,12
13	0,095	0,086	0,091	0,092	0,086	0,088

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em %. Fonte: Autoria própria.

Tabela 25 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Cr.

Elemento	Repetição*					
Cr						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	134,7	129,5	127,7	135,3	133,2	128,6
2	64,5	65,6	68,4	65,6	72,6	68,8
3	78,2	77,4	72,5	73,8	73,1	72,7
4	-	-	-	-	-	-
5	89,4	91,4	91,4	92,7	93,1	91,5
6	77,35	76,08	78,14	81,58	80,76	80,83
7	-	-	-	-	-	-
8	106,9	81,3	98,98	67,7	52,6	69,98
9	83,75	82,9	83,5	83,4	84,0	83,9
10	-	-	-	-	-	-
11	47,6	50,9	49,3	50,9	49,3	50,3
12	59,8	59,9	59,7	59,8	59,6	59,8
13	-	-	-	-	-	-

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em mg/kg. Fonte: Autoria própria.

Tabela 26 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Co.

Elemento	Repetição*					
Co						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	0,043	0,042	0,043	0,043	0,043	0,043
2	0,042	0,041	0,042	0,042	0,041	0,042
3	0,044	0,044	0,042	0,043	0,043	0,043
4	0,040	0,041	0,041	0,041	0,040	0,041
5	0,048	0,047	0,047	0,048	0,048	0,047
6	0,043	0,042	0,042	0,043	0,043	0,043
7	-	-	-	-	-	-
8	0,043	0,040	0,040	0,044	0,044	0,044
9	0,038	0,037	0,038	0,038	0,037	0,036
10	0,036	0,036	0,035	0,034	0,034	0,035
11	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
12	0,033	0,033	0,034	0,033	0,033	0,034
13	0,032	0,032	0,032	0,033	0,032	0,033

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em %. Fonte: Autoria própria.

Tabela 27 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Cd.

Elemento	Repetição*					
Cd						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	9,1	9,1	8,9	9,1	9,2	9,3
2	6,7	6,9	7,7	7,9	6,7	8,6
3	8,4	8,7	9,0	8,0	9,1	9,1
4	8,0	8,3	8,0	7,7	8,3	8,0
5	9,8	9,6	9,5	9,3	9,4	9,5
6	12,20	11,87	11,82	11,81	12,23	12,30
7	-	-	-	-	-	-
8	7,1	6,5	7,3	6,2	4,7	5,3
9	7,5	8,2	8,4	7,7	8,5	7,9
10	6,89	7,4	6,35	6,85	7,3	6,4
11	6,0	6,2	6,1	6,0	6,1	6,0
12	6,1	5,8	6,00	6,0	6,2	5,9
13	-	-	-	-	-	-

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em %. Fonte: Autoria própria.

Tabela 28 Resultados obtidos para a caracterização via interlaboratorial do elemento Ca.

Elemento	Repetição*					
Ca						
Lab.	1	2	3	4	5	6
1	9,49	9,58	9,44	9,51	9,62	9,69
2	10,200	10,165	10,294	10,392	10,042	10,394
3	9,23	9,18	9,27	9,09	9,19	9,28
4	-	-	-	-	-	-
5	8,64	8,68	8,40	8,46	8,70	8,64
6	9,08	8,82	8,65	8,73	8,82	8,63
7	9,06	9,14	9,54	9,23	9,76	9,24
8	8,75	8,71	9,24	9,06	8,81	9,0
9	9,70	9,78	9,73	9,778	9,80	9,72
10	9,01	9,08	8,69	9,06	8,84	8,91
11	8,09	7,76	7,60	8,07	7,72	7,82
12	10,57	10,01	10,50	10,52	10,53	10,37
13	9,43	9,01	8,91	9,04	9,18	9,06

* - As repetições 1 a 3 correspondem a amostra 1 e as repetições 4 a 6 a amostra 2.

OBS: Os resultados são apresentados em %. Fonte: Autoria própria.

Com os resultados fornecidos pelos laboratórios, é possível analisar os dados obtidos de forma a caracterizar o material. A análise de dados foi realizada por meio dos métodos de determinação de valor médio como média, mediana, média aparada, desvio padrão, entre outros.

A análise dos resultados de valor médio é apresentado na Tabela 29. Os resultados são apresentados com unidades em porcentagem ou nas unidades especificadas. O apêndice B apresenta a planilha Excel® utilizada para a realização dos cálculos de caracterização.

Os resultados foram analisados inicialmente para a presença de *outliers* através dos métodos de *Grubbs* e *Dixon*, quando encontrados, esses resultados foram removidos do conjunto de dados.

Tabela 29 Valores de valor médio para o resultado do Interlaboratorial calculado por meio da média, mediana, média aparada e média robusta.

mensurandos	Média	Mediana	Média Aparada	Média Robusta	Outlier
Chumbo mg/kg	144,515	152,097	146,953	148,289	Não
Cromo mg/kg	73,193 (79,671)	76,870 (79,123)	76,546	77,119	Sim (1)
Cobre	0,115	0,118	0,116	0,117	Não
Zinco	0,595	0,607	0,6	0,61	Não
Ferro	0,952	0,964	0,959	0,96	Não
Manganês	0,271	0,2745	0,272	0,272	Não
Cálcio	9,224	9,156	9,243	9,206	Não
Níquel mg/kg	0,006	0,006	0,006	0,006	Não
Molibdênio	0,207	0,207	0,205	0,206	Não
Magnésio	2,291 (2,239)	2,279 (2,225)	2,265	2,267	Sim (1)
Cobalto	0,040	0,041	0,040	0,041	Não
Cádmio mg/kg	8,0	8,03	7,774	7,844	Não

OBS: Os valores em parênteses são os resultados antes da remoção do respectivo outlier.

OBS 2: Quando não especificados os resultados são apresentados em %.

Fonte: Autoria própria.

Os mensurandos cromo (Cr) e magnésio (Mg) foram os únicos que apresentaram a presença de *outliers*. Para esses elementos os resultados obtidos na análise de média e mediana antes da remoção dos *outliers*, são apresentados em parênteses. Devida a natureza do cálculo, por meio da média robusta e da média aparada, o resultado de ambas antes e depois da remoção do *outlier* são iguais.

Quando analisados os resultados, observa-se que, dentre as técnicas utilizadas, apesar de todas serem metodologias conhecidas e amplamente utilizadas, nem sempre esses métodos apresentam a mesma avaliação.

Nos casos onde existe a presença de *outlier* pode-se observar que a presença de valores suspeitos gera um maior efeito sobre os resultados calculados através da média. A remoção de valores considerados *outliers* é prevista quando tratamos de populações consideradas normalmente distribuídas, nesses casos, após a remoção do *outlier* o valor central é estimado através da média.

Quando trabalhamos com conjunto de dados onde não se pode considerar o conjunto de dados normalmente distribuídos, a mediana é uma das alternativas para estimar o valor de tendência central. A mediana, juntamente com a média aparada e a média robusta são parte de um conjunto de metodologias conhecidos como estatística robusta. Neste trabalho, utilizou-se a metodologia da remoção do *outlier* para a análise via mediana como uma forma de avaliação e comparação para os outros métodos, porém quando se utiliza a metodologia da mediana não é necessária a avaliação da presença de *outliers* no conjunto de dados.

Após a obtenção dos valores centrais, é possível calcular os desvios padrões para os resultados fornecidos pelos participantes do interlaboratorial. Os desvios padrão foram calculados utilizando-se as diferentes formas de determinação de valor central de forma a comparar os diferentes métodos. Por exemplo, para o chumbo, seu desvio padrão foi calculado separadamente utilizando-se o resultado obtido por meio da análise da média, da mediana e média aparada, além do desvio padrão robusto e do desvio padrão obtido através do quartil. O desvio padrão é uma metodologia aplicada a fim de avaliar a dispersão dos resultados em comparação ao valor central,

em outros termos, o desvio padrão é uma forma de medir a precisão de um conjunto de dados.

Os resultados de desvio padrão encontram-se nas mesmas unidades que os valores de caracterização e são apresentados na Tabela 30.

Tabela 30 Desvio-padrão para os 12 mensurandos, calculados utilizando os diferentes métodos de análise de valor médio.

mensurandos	DP Via Média	DP Via Mediana	DP Via Média Aparada	DP Robusto	DP Via quartil
Chumbo mg/kg	25,131	26,359	19,327	19,994	29,148
Cromo mg/kg	15,225	14,968	10,464	14,934	23,568
Cobre	0,012	0,012	0,008	0,008	0,011
Zinco	0,068	0,07	0,05	0,04	0,104
Ferro	0,075	0,076	0,053	0,064	0,083
Manganês	0,027	0,027	0,022	0,028	0,038
Cálcio	0,711	0,714	0,497	0,579	0,713
Níquel mg/kg	0,002	0,002	0,001	0,002	0,003
Molibdênio	0,018	0,018	0,010	0,011	0,02
Magnésio	0,157	0,152	0,121	0,144	0,172
Cobalto	0,005	0,005	0,004	0,003	0,006
Cádmio mg/kg	1,818	1,818	1,238	1,598	2,173

Fonte: Autoria própria.

OBS : Quando não especificados os resultados são apresentados em %.

Avaliando os resultados obtidos para o desvio padrão é possível observar que os valores obtidos através da avaliação da média e da mediana são similares em magnitude.

Os resultados obtidos através da média aparada e do desvio padrão robusto possuem maior variação quando comparados com os dois primeiros, porém mantem-se próximos em valor. No entanto ao avaliarmos os resultados obtidos pelo quartil observa-se uma grande diferença quando comparada com os outros resultados.

O método de determinação do quartil é realizado através dos quadrantes, mais especificamente através da diferença entre o primeiro e o terceiro quadrante, o que significa que a avaliação é realizada onde encontram-se 50% dos resultados da análise. O desvio padrão obtido por meio do quartil é realizado através de um fator de correção aplicado ao quartil.

Como o desvio padrão é obtido por esse fator de correção, os valores obtidos para o desvio padrão do quartil gerou em média, valores maiores que os obtidos pelos outros métodos.

Para a certificação do material de referência é necessário a escolha de uma metodologia principal para ser utilizada. Quando levamos em consideração que a verificação da presença de *outliers* pode não ser realizada a escolha de uma metodologia robusta que sofra pouca ou nenhuma influência de possíveis valores suspeitos é necessária.

Levando essa necessidade em consideração, temos as opções de utilizarmos a mediana, a média aparada, média robusta ou o quartil. A média aparada, por remover os valores superiores e inferiores sem consideração se são ou não *outliers*,

podem subestimar o desvio padrão, que por consequência, pode subestimar incerteza do material.

O quartil, ao contrário da média aparada, leva em consideração a influência dos dados sendo removidos, porém como o fator utilizado trabalha com uma margem de segurança o desvio padrão pode ser superestimado o que pode gerar uma incerteza maior que a esperada.

Dentre a mediana e a média robusta, ambos os métodos apresentam valores médios comparados com o quartil e a média aparada e ambas são opções viáveis para serem utilizadas como métodos de determinação do valor central. No caso da média robusta, apesar de sua determinação ser de simples entendimento, seu cálculo manual pode tornar-se complicado por exigir várias interações. Por esse motivo o método de determinação de valor central através da mediana apresentou-se como a melhor opção entre confiabilidade do resultado e praticidade de obtenção.

5.3 Cálculo da incerteza

Tendo obtido os valores referentes a caracterização, homogeneidade e estabilidade é possível determinar a incerteza associada aos mensurandos de interesse.

Para este trabalho, escolheu-se previamente a realização do estudo de estabilidade apenas para os elementos cálcio, cobre, ferro, manganês e zinco e consequentemente, apenas esses elementos foram avaliados para constarem como elementos certificados (incertezas apresentadas na Tabela 31). O restante dos

mesurandos apesar de não serem certificados foram avaliados de forma a serem incluídos como mesurandos de referência não certificado.

Tabela 31 Incerteza associada ao estudo de estabilidade com tempo de prateleira escolhido em 36 meses.

<i>U_{Its}</i>	
Ca	0,85
Cu	0,031
Fe	0,19
Mn	0,020 ₈
Zn	0,057

OBS: Os mesurandos encontram-se em %

Fonte: Autoria própria.

A incerteza associada ao estudo de homogeneidade foi calculada anteriormente e os resultados são apresentados na Tabela 32.

Tabela 32 Grau de homogeneidade e incerteza associada aos elementos de interesse para a homogeneidade entre frascos.

mensurandos	GH %	U_{bb}
Níquel mg/kg	2,18	0,00016
Molibdênio	0,92	0,0019
Magnésio	0,95	0,021
Cobalto	0,50	0,0002
Cádmio mg/kg	1,27	0,10

Chumbo mg/kg	2,40	45,37
Cromo mg/kg	4,21	10,41
Cobre	1,93	0,0022
Zinco	0,57	0,0034
Ferro	2,50	0,027
Manganês	3,42	0,0095
Cálcio	0,68	0,062

OBS: A não ser que especificados os mesurandos encontram-se em %

Fonte: Autoria própria.

Com a incerteza da estabilidade e a incerteza da homogeneidade é necessário calcular a incerteza associada à caracterização u_{car} (Tabela 33) através da Equação 08. Essa incerteza pode então ser combinada a u_{lts} e u_{bb} de forma a obtermos a incerteza combinada u_c .

Tabela 33 Incerteza associada a caracterização para os elementos de interesse.

	u_{car}
Níquel mg/kg	0,0022
Molibdênio	0,069
Magnésio	0,63
Cobalto	0,012
Cádmio mg/kg	2,42
Chumbo mg/kg	45,86
Cromo mg/kg	25,62

Cobre	0,033
Zinco	0,17
Ferro	0,28
Manganês	0,076
Cálcio	2,64

OBS: A não ser que especificados os mesurandos encontram-se em %

Fonte: Autoria própria.

Com o auxílio da Equação 43 determinou-se a incerteza combinada dos mensurandos a serem certificados: cálcio, cobre, ferro, manganês e zinco. Para o restante dos mensurandos, apesar de eles não possuírem o estudo de estabilidade sua incerteza combinada também foi determinada de forma a permitir utilizar os mensurandos como materiais de referência não certificado. As incertezas combinadas são apresentadas na Tabela 34.

Tabela 34 Resultados das incertezas associadas aos estudos de caracterização, homogeneidade, estabilidade e a incerteza combinada.

mensurandos	U_{car}	U_{bb}	U_{lts}	U_c
Níquel mg/kg	0,0022	0,00016	-	0,0022
Molibdênio	0,069	0,0019	-	0,069
Magnésio	0,632	0,021	-	0,63
Cobalto	0,012	0,0002	-	0,012
Cádmio mg/kg	2,42	0,103	-	2,42
Chumbo mg/kg	45,86	45,37	-	64,51

Cromo mg/kg	25,62	10,41	-	27,65
Cobre	0,033	0,0022	0,0312	0,045
Zinco	0,168	0,0034	0,0574	0,178
Ferro	0,278	0,027	0,194	0,34
Manganês	0,076	0,0095	0,0198	0,079
Cálcio	2,64	0,062	0,852	2,77

OBS: A não ser que especificados os mesurandos encontram-se em %

Fonte: Autoria própria.

Para utilização a incerteza combinada é multiplicada por um fator de expansão k de forma a gerar a incerteza expandida U_{ex} . Normalmente o valor de k utilizado é 2, porém é possível calcular o fator k através da distribuição t de *student* e dos graus de liberdade efetivos calculados através da equação de Welch-Satterwaite (Equação 45). Pelo Excel® é possível calcular k através do comando “=INVT(probabilidade, V_{eff})”*, no caso é comum utilizar-se da probabilidade de 0,05 que corresponde a uma cobertura de 95% de confiança. Os resultados estão apresentados na Tabela 35, e um resumo das propriedades dos materiais produzidos são apresentados na Tabela 36.

* Programa Microsoft Excel® utilizado: Microsoft Excel 365.

Tabela 35 Incerteza combinada, graus de liberdade efetivos e incerteza expandida.

mensurandos	u_c	V_{eff}	k	U_{ex}
Níquel mg/kg	0,0022	8,08	2,31	0,0051
Molibdênio	0,069	8,01	2,31	0,16
Magnésio	0,63	12,03	2,18	1,38
Cobalto	0,012	11,61	2,20	0,027
Cádmio mg/kg	2,42	10,04	2,23	5,40 ₇
Chumbo mg/kg	64,51	20,00	2,09	135,02
Cromo mg/kg	27,65	10,63	2,23	61,62
Cobre	0,045	20,94	2,09	0,095
Zinco	0,178	14,71	2,14	0,38
Ferro	0,34	19,10	2,09	0,71
Manganês	0,079	14,00	2,16	0,17
Cálcio	2,77	13,25	2,16	5,99

OBS: Quando não especificados os resultados são apresentados em %.

Tabela 36 Valor esperado, Incerteza associada e fator de expansão para os elementos estudados.

mensurando s	Valor encontrado	Incerteza associada	k (95%)
Níquel mg/kg	0,006	0,0051	2,31
Molibdênio	0,21	0,16	2,31
Magnésio	2,29	1,38	2,18
Cobalto	0,040	0,027	2,20
Cádmio mg/kg	8,00	5,40 ₇	2,23
Chumbo mg/kg	144,52	135,02	2,09
Cromo mg/kg	73,19	61,62	2,23
Cobre	0,12	0,095	2,09
Zinco	0,60 ₅	0,38	2,14
Ferro	0,95	0,71	2,09
Manganês	0,27	0,17	2,16
Cálcio	9,22	5,99	2,16

Fonte: Autoria própria.

OBS: Quando não especificados os resultados são apresentados em %.

Quando analisamos os resultados das incertezas é possível determinar os fatores que mais influenciam o resultado um modo mais fácil de observar essa contribuição é por meio de um cálculo de contribuição relativa. Para determinar a

incerteza relativa (u_{rel}) utiliza-se a Equação 47 (Eq 47). A contribuição relativa de cada componente para a incerteza combinada é apresentada na Figura 28.

$$u_{rel} = \frac{u^2}{u_c^2} * 100 \quad \text{Eq 47}$$

Figura 28 Contribuição relativa de cada componente para a incerteza combinada. AZUL: u_{car} , CINZA: u_{lts} , VERMELHO: u_{bb}

Fonte: Autoria própria.

É possível observar que, dentre as fontes de contribuição a incerteza proveniente da caracterização oferece a maior contribuição, já a menor contribuição é a proveniente da homogeneidade exceto para o chumbo que apresentou uma alta contribuição da incerteza da homogeneidade.

A alta contribuição da incerteza de caracterização era esperada e é devida a escolha da metodologia de programa interlaboratorial para a determinação de valor de consenso. Apesar da caracterização por este meio ser uma metodologia que melhor simula as condições de uso que o material de referência irá encontrar durante sua vida útil, por englobar os vários fatores que podem influenciar a incerteza como, por exemplo: a análise dos mesurandos em dias diferentes, análise por operadores diferentes, equipamentos diferentes, entre outros, esses mesmos motivos geram uma dispersão maior entre os resultados, o que acarreta em uma incerteza maior atribuída a caracterização.

Como discutido anteriormente, a contribuição do estudo de estabilidade, apesar de menor que a contribuição da caracterização, ainda se apresenta em valores elevados em alguns casos. A extensão ou redução do tempo de prateleira afeta diretamente u_{its} , entretanto, apenas a modificação da incerteza da estabilidade pode não levar a grandes diminuições da incerteza final, uma vez que a maior contribuinte é a incerteza da caracterização. Essa análise é válida para os elementos cálcio, manganês, ferro, zinco e cobre devido a serem os elementos em que a estabilidade foi avaliada.

Considerando a caracterização como a maior contribuinte da u_c , o produtor de material de referência que deseja melhorar a incerteza associada ao seu material deve primeiramente trabalhar em aprimorar o processo de caracterização, que terá uma melhor eficiência na redução da incerteza do material.

5.4 Produção de artigo de revisão

Durante a realização deste trabalho foi realizada uma parceria com os pesquisadores da EMBRAPA-SP Gilberto R. Batista e Ana R. A. Nogueira, o professor doutor Igor R. B Olivares e os mestrandos Guilherme T. K. de Toledo e Danieli C. Marcki com o intuito de produzir um artigo de revisão visando entender as tendências e inovações relacionadas ao desenvolvimento de materiais de referência.

Inicialmente foi definido que o trabalho seria focado em materiais de referência produzidos para matrizes de água, alimentos, solo e sedimentos. Para o levantamento de dados, foi definido a utilização dos bancos de dados Scopus, SciFinder e Science Direct. A Figura 29 apresenta um fluxograma resumindo o processo de levantamento de dados.

Após a pesquisa básica e uma análise de títulos dos artigos obtidos, os resultados não relacionados foram removidos gerando um banco de dados de 1056 artigos. Esses artigos foram classificados segundo suas áreas de aplicação e os grupos de interesse foram separados fornecendo um banco de dados de 26 artigos.

Através de análises dos bancos de dados foi possível observar algumas tendências como exemplificado na Figura 30 onde é possível observar o crescimento de publicações relacionadas a materiais de referência nos últimos anos.

Figura 29 Fluxograma resumindo o método de levantamento de dados utilizado para a produção do artigo.

Fonte: Igor R. B. Olivares et. al⁶¹.

Figura 30 Quantidade de artigos relacionados a MRC publicados nos últimos anos.

Fonte.: Igor R. B. Olivares et. al⁵¹.

Ao final da parceria foi possível publicar o artigo na revista *Trends in analytical chemistry* em sua edição 100, páginas 53-64. O trabalho também foi escolhido pela revista para representar o artigo de capa de sua respectiva edição.

Figura 31 Página inicial do artigo publicado na revista *Trends in analytical Chemistry* em sua 100ª edição.

Trends in Analytical Chemistry 100 (2018) 53–64

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Trends in Analytical Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/trac

Trends in developments of certified reference materials for chemical analysis - Focus on food, water, soil, and sediment matrices

I.R.B. Olivares ^{a,*}, G.B. Souza ^b, A.R.A. Nogueira ^b, G.T.K. Toledo ^a, D.C. Marcki ^a

^a University of São Paulo, Chemistry Institute of São Carlos (IQSC-USP), Av. Trabalhador São-carlense, 400 CP 780, São Carlos, SP, CEP 13560-970, Brazil
^b Embrapa Pecuária Sudeste, Rodovia Washington Luiz, Km 234, CP 339, CEP 13560-970, São Carlos, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Available online 30 December 2017

Keywords:
Reference material
ISO/IEC 17025
ISO 17034
ISO guide 35
Quality assurance (QA)
Traceability
Uncertainty
Stability
Homogeneity
Characterization

ABSTRACT

The growing demand for traceable and reliable results in analytical chemistry can be illustrated with the growth in ISO/IEC 17025 accreditation. Among different technical requirements in this quality system, the use of CRMs is highlighted because of its applications in many operations, such as method validation, proficiency tests, estimation of the uncertainties and quality control.

Over the past several years, there has been an increased need to use different types of CRMs in chemical analysis, new CRM publications about its developments and certification. This paper proposes to show a detailed review considering the development of certified reference materials (CRM) for chemical analysis, focusing on food, water, soil and sediment matrices. An evaluation of the trends and best-applied practices in its development in the last 2 years was performed, to guide new developments for this material that is increasingly necessary to laboratories.

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Quality has become a critical issue in different fields over the last several decades [1]. In the area of chemistry, there is an increasing demand for traceable and reliable results that can influence the quality of life and cross-border trade [2]. Therefore, it is evident that ensuring the quality of the results is vital for laboratory credibility.

Quality management systems (QMS), as the International Standard ISO/IEC 17025 (General requirements for the competence of testing and calibration laboratories), provides tools that allow the management of the administrative and technical operations carried out by a laboratory in a systematic way, which can help ensure the quality of the results [3].

The formal recognition of the implementation of a laboratory quality management system, such as ISO/IEC 17025 or ISO15189 (Medical laboratories - Requirements for quality and competence), is performed by the national accreditation bodies of different countries, which audit and assess these systems. To reach mutual recognition between the assessments of different countries, entities such as ILAC (International Laboratory Accreditation

Cooperation) promote mutual recognition agreements with their full members (actually 91 signatories from 95 economies). For entities from different countries that are ILAC members and associates, there are currently approximately 40.000 testing laboratories and 10.000 calibration laboratories that implement the system and are accredited by the quality management system according to the ISO/IEC 17025 standard, as well as 6.000 accredited clinical laboratories by the ISO 15189 standard. According to Fig. 1, these numbers continue to grow [3,4].

The international standard ISO/IEC 17025 proposes that a laboratory should establish, implement and maintain a quality system that is appropriate to the scope of its activities. The term quality assurance (QA) is directly related to the ability to provide trustworthy results that meet those quality requirements.

Within this context, three technical requirements of the ISO/IEC 17025 can be highlighted as critical operations to ensure the attainment and maintenance of reliable results: method validation, uncertainty estimation and quality control (QC). Those three requirements are part of the analytical quality assurance cycle (AQAC), which is a valuable tool that was developed to help QA in analytical laboratories, as shown in Fig. 2 [5].

As a vital part of the AQAC, QC is important for monitoring and evaluating the validity of the methods and equipment used in the laboratories' activities. Many strategies can be used in QC, such as

* Corresponding author.
E-mail address: igorolivares@iqsc.usp.br (I.R.B. Olivares).

<https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.12.013>
0165-9936/© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

Fonte.: Igor R. B. Olivares et. al.⁵¹

Figura 32 Capa da 100ª edição da revista *Trends in analytical chemistry*. Trabalho publicado é destaque nesta edição.

Fonte: Fornecido pela revista TrAC.

6 CONCLUSÃO

A produção de um material de referência certificado de fertilizante mineral de matriz mineral foi alcançada gerando um material com mensurandos cálcio, cobre, ferro, manganês e zinco certificados e com os mensurandos cromo, chumbo, cobalto, cádmio, magnésio, molibdênio e níquel como elementos indicativos, que podem ser utilizados como um material de referência. A certificação de vários elementos aumenta o custo de produção de um MRC, por esse motivo normalmente são escolhidos apenas alguns elementos para a certificação. Durante a produção do MRC notou-se que a maior contribuição para a incerteza foi a proveniente do estudo de caracterização, que para este trabalho foi realizado por meio de um programa Interlaboratorial. Para trabalhos futuros um aprimoramento do processo de caracterização pode levar a redução da incerteza associada ao MRC. Durante o trabalho e a produção do artigo foi possível observar o constante crescimento na quantidade de artigos publicados relacionados a MR e MRCs o que mostra a importância e o interesse em materiais de referência, o que suporta a necessidade de maiores investimentos na pesquisa de materiais especialmente no meio acadêmico de forma a impulsionar o mercado brasileiro além de gerar produtos de interesse que podem ser imediatamente comercializados. Este trabalho produziu 128 frascos de um possível material de referência certificado, dentre esses 10 frascos foram utilizados para os estudos de estabilidade e homogeneidade, 28 foram distribuídos entre os laboratórios participantes do interlaboratorial pelo laboratório nacional agropecuário, sendo que o restante dos frascos ficou aos cuidados do LANAGRO-SP para serem utilizados e distribuídos entre seus laboratórios conforme sua necessidade.

REFERÊNCIAS

- 1 Peduzzi, P., **Participação da agropecuária no PIB sobe para 23% em 2015**, Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2015-12/participacao-da-agropecuaria-no-pib-sobe-para-23-em-2015>, Acessado em: 27/11/2018

- 2 conab, **Estimativa para safra 2017/2018 é de até 227,5 milhões de toneladas**, Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/estimativa-para-safra-2017-2018-e-de-ate-227-5-milhoes-de-toneladas>, Acessado em: 27/11/2018

- 3 CNA, **Participação do agronegócio no PIB é a maior em 13 anos, estima CNA**, Disponível em: <https://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/participacao-do-agronegocio-no-pib-e-a-maior-em-13-anos-estima-cna.ghtml>, Acessado em: 18/04/2018

- 4 MAPA, 25, 2009, **Instrução Normativa SDA/MAPA 25**, Ministerio da agricultura, <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=recuperarTextoAtoTematicaPortal&codigoTematica=1229186>

- 5 Standardization, I. O. f., ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017, 2017, **Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração**, 32, <https://www.iso.org/standard/39883.html>

- 6 IEC, I. E. C., **About the IEC**, Disponível em: <http://www.iec.ch/about/?ref=menu>, Acessado em: 03/05/2018

- 7 ISO, I. O. f. S., **About ISO**, Disponível em: <https://www.iso.org/about-us.html>, Acessado em: 26/04/2018

- 8 Olivares, I. R. B. **Gestão de Qualidade em Laboratórios**.Campinas:Editora Átomo, 2015, 146

- 9 Longo, R. M. J. **Gestão da Qualidade: Evolução Histórica, Conceitos Básicos e Aplicação na Educação**. IPEA, V 1996.

- 10 Juran, J. M. and Godfrey, A. B. **Juran's quality handbook**.New York:McGraw Hill, 1999,

- 11 Crosby, P. B. **Quality Without tears: The art of Hassle-free Management**:McGraw-Hill, 1984,

- 12 Feigenbaum, A. V. **Total Quality Control**.New York:McGraw-Hill, 1961,

- 13 OECD, NIT-DICLA-035, 2011, **Princípios das boas práticas de laboratório - BPL**, 19, http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=4&cod_uo_numeracao=00587&num_documento=035
- 14 ABNT, **Conheça a ABNT**, Disponível em: <http://www.abnt.org.br/abnt/conheca-a-abnt>, Acessado em: 03/05/2018
- 15 Olivares, I. R. B. **Laboratory Quality Management**.Campinas:Editora Átomo, 2016, 154
- 16 ISO, I. O. f. S., ISO 15189:2012, 2012, **Medical laboratories -- Requirements for quality and competence**, 53, <https://www.iso.org/standard/56115.html>
- 17 Cooperation, I. L. A., **Facts & Figures**, Disponível em: <http://ilac.org/about-ilac/facts-and-figures/>, Acessado em: Junho/2018
- 18 Olivares, I. R. B. and Lopes, F. A. Essential steps to providing reliable results using the Analytical Quality Assurance Cycle. **Trends in Analytical Chemistry**, V 35, 109-121, 2012.
- 19 INMETRO, NIT-DICLA-026, 2018, **Requisitos para a Participação de Laboratórios em Atividades de Ensaio de Proficiência.**, 11, http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=4&cod_uo_numeracao=00778&num_documento=026
- 20 ABNT. ABNT ISO GUIA 35 Material de referência - Princípios gerais e estatísticos para certificação. **ABNT**, V 2012.
- 21 Inmetro. Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM 2012). **INMETRO**, V 1, 95, 2012.
- 22 ABNT NBR ISO 17034, 2017, **ABNT NBR ISO 17034 Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência**, 27,
- 23 standardization, i. o. f. ISO GUIDE 35 Reference materials -- General and statistical principles for certification. **ISO**, V 2006.
- 24 REMEQ-I, **Apresentação**, Disponível em: <http://www2.inmetro.gov.br/remeq-i/>, Acessado em: 10/05/2018
- 25 Marcki, D. C. Desenvolvimento de candidato a material de referência certificado para Uísque: um material eficaz para a garantia da qualidade e manutenção da ISO/IEC 17025 em Laboratórios de Ensaio. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2017

26 EURACHEM/CITAC, 2012, **Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third edition**, www.eurachem.org

27 ISO, I. O. f. S., ABNT ISO GUIA31, 2017, **ABNT ISO GUIA 31 - MATERIAIS DE REFERÊNCIA - CONTEÚDO DE CERTIFICADOS, RÓTULOS E DOCUMENTAÇÃO ASSOCIADA**, 11,

28 ABNT, 17043:2011 Versão corrigida 2017, 2011, **Avaliação da conformidade — Requisitos gerais para ensaios de proficiência**, <http://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=375488>

29 Verma, S. P. and Quiroz-Ruiz, A. Critical values for six Dixon tests for outliers in normal samples up to sizes 100, and applications in science and engineering. **Revista Mexicana de Ciencias Geologicas**, V 23, 2, 133-161, 2006.

30 Analytical Methods, C. Robust statistics—how not to reject outliers part 1. Basic Concepts. **Analyst**, V 114, 12, 1693-1697, 1989.

31 Analytical Methods, C. Robust statistics—how not to reject outliers part 2 Inter-laboratory trials. **Analyst**, V 114, 12, 1699-1702, 1989.

32 Grubbs, F. E. Sample Criteria for Testing Outlying Observations. V 27-58, 1950.

33 Dean, R. B. and Dixon, W. J. Simplified Statistics for Small Numbers of Observations. **Analytical Chemistry**, V 23, 4, 636-638, 1951.

34 Reis, M. m., **INE 7002 - Inferência Estatística – Testes de Hipóteses cap. 10**, Disponível em: <http://www.inf.ufsc.br/~marcelo.menezes.reis/Cap10.pdf>, Acessado em: 14/12/2018

35 NIST/SEMATECH. **e-Handbook of Statistical Methods** Disponível em: <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/>, Acessado em: 06/06/2018.

36 Thompson, M.;Ellison, S. L. R. and Wood, R. The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories: (IUPAC technical report). **Pure and Applied Chemistry**, V 78, 1, 145-196, 2006.

37 Rorabacher, D. B. Statistical treatment for rejection of deviant values: critical values of Dixon's "Q" parameter and related subrange ratios at the 95% confidence level. **Analytical Chemistry**, V 63, 2, 139-146, 1991.

38 Action, P., **Distribuição Normal**, Disponível em: <http://www.portalaction.com.br/probabilidades/62-distribuicao-normal>, Acessado em: 14/06/2018

- 39 N Miller, J. and Charlotte Miller, J. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry** 2005,
- 40 Wilcox, R. R. Trimmed Means. **John Wiley & Sons, Ltd**, V 2014.
- 41 Trosset, M. W. An introduction to statistical inference and its applications with R. **CRC Press**, V 2009.
- 42 Standardization, I. O. f. **ISO 13528: Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons**:ISO, 2005,
- 43 van der Veen, A. M. H. and Pauwels, J. Uncertainty calculations in the certification of reference materials. 1. Principles of analysis of variance. **Accreditation and Quality Assurance**, V 5, 12, 464-469, 2000.
- 44 van der Veen, H. A. M.;Linsinger, J. T. P.;Lamberty, A. and Pauwels, J. Uncertainty calculations in the certification of reference materials. **Accreditation and Quality Assurance**, V 6, 6, 257-263, 2001.
- 45 van der Veen, A. M. H.;Linsinger, P. T. and Pauwels, J. Uncertainty calculations in the certification of reference materials. 2. Homogeneity study. **Accreditation and Quality Assurance**, V 6, 1, 26-30, 2001.
- 46 van der Veen, H. A. M.;Linsinger, J. T. P.;Lamberty, A. and Pauwels, J. Uncertainty calculations in the certification of reference materials 3. Stability study. **Accreditation and Quality Assurance**, V 6, 6, 257-263, 2001.
- 47 Linsinger, T. P. J.;Pauwels, J.;Lamberty, A., *et al.* Estimating the uncertainty of stability for matrix CRMs. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, V 370, 2, 183-188, 2001.
- 48 Inmetro, DIMEC/nt-02/v.00, 2008, **A estimativa da incerteza de medição pelos métodos do ISO GUM 95 e de simulação de Monte Carlo**, DIMEC,
- 49 Van Der Veen, A. M. H.;Linsinger, T. P. J.;Schimmel, H., *et al.* Uncertainty calculations in the certification of reference materials 4. Characterisation and certification. **Accreditation and Quality Assurance**, V 6, 7, 290-294, 2001.
- 50 MAPA, 27, 2006, **Instrução Normativa SDA/MAPA 27**, Ministerio da agricultura, http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=recupera_rTextoAtoTematicaPortal&codigoTematica=1229258
- 51 Olivares, I. R. B.;Souza, G. B.;Nogueira, A. R. A., *et al.* Trends in developments of certified reference materials for chemical analysis - Focus on food, water, soil, and sediment matrices. **TRAC Trends in Analytical Chemistry**, V 100, 53-64, 2018.

Apêndice B: Planilha Excel® utilizada para tratar os dados do interlaboratorial.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD			
1	Análise																																
2	Metodologia																																
3																																	
4	Identificação do Laboratório	Valor A	Valor B	Valor C	Valor D	Valor E	Valor F	Valor G	Valor H	Valor I	Valor J	Valor K	Valor L	Valor M	Valor N	Valor O	Valor P	Valor Q	Valor R	Valor S	Valor T	Valor U	Valor V	Valor W	Valor X	Valor Y	Valor Z	Valor AA	Valor AB	Valor AC	Valor AD		
5	1	3,43	3,58	3,44	3,51	3,62	3,63	3,55	3,65	3,66	3,67	3,68	3,69	3,70	3,71	3,72	3,73	3,74	3,75	3,76	3,77	3,78	3,79	3,80	3,81	3,82	3,83	3,84	3,85	3,86	3,87		
6	2	10,2	10,165	10,284	10,392	10,442	10,394	10,2478	10,328	10,267	10,2067	10,1467	10,0867	10,0267	9,9667	9,9067	9,8467	9,7867	9,7267	9,6667	9,6067	9,5467	9,4867	9,4267	9,3667	9,3067	9,2467	9,1867	9,1267	9,0667	9,0067		
7	3	8,23	8,18	8,27	8,33	8,39	8,45	8,51	8,57	8,63	8,69	8,75	8,81	8,87	8,93	8,99	9,05	9,11	9,17	9,23	9,29	9,35	9,41	9,47	9,53	9,59	9,65	9,71	9,77	9,83	9,89		
8	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
9	5	8,64	8,66	8,4	8,46	8,7	8,64	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63	8,63		
10	6	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08	3,08		
11	7	3,06	3,14	3,54	3,23	3,16	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24	3,3283	3,24		
12	8	8,75	8,71	9,24	9,06	8,81	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9	8,3283	9		
13	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
14	10	3,7	3,78	3,73	3,778	3,8	3,72	3,7513	3,78	3,8	3,84	3,91	3,9317	3,9550	3,9783	3,9999	4,0216	4,0433	4,0650	4,0867	4,1083	4,1300	4,1517	4,1733	4,1950	4,2167	4,2383	4,2600	4,2817	4,3033	4,3250		
15	11	3,01	3,08	3,08	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06		
16	12	8,09	7,76	7,6	8,07	7,72	7,82	7,8433	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82	7,82		
17	13	10,57	10,01	10,5	10,52	10,53	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37	10,4167	10,37		
18	14	3,43	3,01	8,31	3,04	3,18	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06	3,1050	3,06		
19	15																																
20	16																																
21	17	1 Laboratório	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
22	18	sem resultados																															
23	19	Média	3,224	3,155633333																													
24	20	Média Robusta																															
25	21	3,206																															
26	22	Desvio padrão com "outlier"																															
27	23	0,711																															
28	24	Média																															
29	25	Desvio padrão																															
30	26	0,714																															
31	27	Média																															
32	28	Desvio padrão																															
33	29	0,715																															
34	30	Média																															
35	31	Desvio padrão																															
36	32	0,716																															
37	33	Média																															
38	34	Desvio padrão																															
39	35	0,717																															
40	36	Média																															
41	37	Desvio padrão																															
42	38	0,718																															

Fonte: Autoria própria

Apêndice C : Certificado do material de referência produzido.

Research in Quality Assurance for Laboratories Instituto de Química de São Carlos (IQSC) Universidade de São Paulo (USP)
DOC. RQA_001	Relatório de certificação MRC de fertilizante mineral	Data: 25/09/2018

RQA Labs – Research in Quality Assurance for Laboratories

Endereço: Avenida Trabalhador São-Carlense, 400

CEP: 13560-970, São Carlos – SP. Edifício: Q14

Contato: +55 (16) 3373-6669

Laboratório não acreditado

Tipo de MRC

MRC de matriz sólida contendo os principais componentes de interesse para fertilizantes minerais de aplicação via solo, segundo Instrução Normativa SDA/MAPA nº25 de 23 de Julho de 2009 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Descrição geral e uso pretendido

Material destinado a uso interno para controle de qualidade de laboratórios para avaliação dos componentes certificados: cálcio, cobre, ferro, manganês e zinco e monitoramento dos elementos apenas de referência: cromo, chumbo, cobalto, cádmio, magnésio, molibdênio e níquel.

Cada Frasco do material contém aproximadamente 46g do material de referência.

Instruções de uso

- O material deve ser armazenado em temperatura ambiente.
- Antes de sua utilização o operador deve agitar o frasco contendo o material vigorosamente.

Revisão 01	Página 1 de 4
----------------------	---------------

Research in Quality Assurance for Laboratories Instituto de Química de São Carlos (IQSC) Universidade de São Paulo (USP)
DOC. RQA_001	Relatório de certificação MRC de fertilizante mineral	Data: 25/09/2018

- Após retirada a quantidade desejada de material, o frasco deve ser novamente selado, utilizando-se do próprio sistema de vedação contido nos frascos.

- A quantidade de material necessário pode variar dependendo do método analítico utilizado.

Concentrações certificadas e suas incertezas associadas

Elemento (Unidade)	Concentração	Incerteza associada	K (95%)
Cobre (%)	0,115	0,095	2,09
Zinco (%)	0,595	0,381	2,14
Ferro (%)	0,952	0,712	2,09
Manganês (%)	0,271	0,171	2,16
Cálcio* (%)	9,224	5,99	2,16
Níquel* (mg/Kg)	0,006	0,0051	2,31
Molibdênio* (%)	0,207	0,159	2,31
Magnésio* (%)	2,291	1,38	2,18
Cobalto* (%)	0,04	0,027	2,20
Cádmio* (%)	8	5,397	2,23
Chumbo* (mg/Kg)	144,515	135,02	2,09
Cromo* (mg/Kg)	73,193	61,62	2,23

*Elemento informativo. Analito não certificado.

Revisão 01	Página 2 de 4
----------------------	---------------

Research in Quality Assurance for Laboratories Instituto de Química de São Carlos (IQSC) Universidade de São Paulo (USP)
DOC. RQA_001	Relatório de certificação MRC de fertilizante mineral	Data: 25/09/2018	

Métodos Utilizados

A produção e estudo do material de referência foi realizado conforme as orientações descritas na ISO GUIA 35.

Os valores atribuídos para a incerteza foram calculados a partir de três estudos: Homogeneidade (U_{bb}), Caracterização (U_{car}) e Estabilidade (U_{lts}) (para um tempo de prateleira de 36 meses). Sua combinação foi realizada através da equação $U_{expandida} = K * \sqrt{U_{bb}^2 + U_{car}^2 + U_{lts}^2}$ onde o fator de expansão K foi determinado através da equação de Welch-Satterhwaite levando-se em consideração as 3 componentes da incerteza e um fator de abrangência de 95%.

A caracterização do material foi realizada através de um estudo interlaboratorial realizado em 2016/2017 pelo LANAGRO-SP, que contou com a participação de 13 laboratórios. O valor de consenso para os resultados fora obtidos através da avaliação da **mediana** dos resultados.

O estudo de estabilidade foi realizado durante um período de 12 meses, e a incerteza relacionada a validade do material foi obtida através da equação $U_{lts} = x * U_b$ onde x representa o tempo de validade escolhido para o material (36 meses) e U_b representa a incerteza associada a taxa de degradação, que foi obtida através do coeficiente angular da regressão linear dos resultados de estabilidade.

Todos os analitos encontraram-se com grau de heterogeneidade abaixo de 5%, garantindo sua homogeneidade.

Revisão 01	Página 3 de 4
----------------------	---------------

Research in Quality Assurance for Laboratories Instituto de Química de São Carlos (IQSC) Universidade de São Paulo (USP)
DOC. RQA_001	Relatório de certificação MRC de fertilizante mineral	Data: 25/09/2018	

Validade

Esta certificação é válida até: **Dez/2020**

Este certificado é válido com suas incertezas associadas desde que o material seja mantido e manuseado de acordo com as instruções de uso. Ao final desde certificado a estabilidade não é garantida e há a necessidade de re-certificação do material, não sendo recomendado o seu uso.

Nomes e assinaturas dos responsáveis pela certificação:

Certificado por:

Aprovado por:

Guilherme T. K. de Toledo

Igor R. B. Olivares

Revisão 01	Página 4 de 4
----------------------	---------------

Fonte: Autoria própria