

QUALIDADE DE MEDIÇÕES EM QUÍMICA ANALÍTICA. ESTUDO DE CASO: DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA**Queenie S. H. Chui e Ricardo R. Zucchini**

Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., Divisão de Química, Agrupamento de Materiais de Referência, Av. Prof. Almeida Prado, 532, 05508-901 São Paulo - SP

Jaim Lichtig

Instituto de Química da Universidade de São Paulo, Departamento de Química Fundamental, Cidade Universitária, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, 05508-900 São Paulo - SP

Recebido em 20/3/00; aceito em 19/9/00

QUALITY OF MEASUREMENTS IN ANALYTICAL CHEMISTRY STUDY OF CASE: Cadmium Determination by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry. Calculation of uncertainty of results represents the new paradigm in the area of the quality of measurements in laboratories. The guidance on the Expression of Uncertainty in Measurement of the ISO / International Organization for Standardization assumes that the analyst is being asked to give a parameter that characterizes the range of the values that could reasonably be associated with the result of the measurement. In practice, the uncertainty of the analytical result may arise from many possible sources: sampling, sample preparation, matrix effects, equipments, standards and reference materials, among others. This paper suggests a procedure for calculation of uncertainties components of an analytical result due to sample preparation (uncertainty of weights and volumetric equipment) and instrument analytical signal (calibration uncertainty). A numerical example is carefully explained based on measurements obtained for cadmium determination by flame atomic absorption spectrophotometry. Results obtained for components of total uncertainty showed that the main contribution to the analytical result was the calibration procedure.

Keywords: uncertainty calculation; flame atomic absorption spectrophotometry; calibration function.

INTRODUÇÃO

Atualmente, diferentes setores da indústria, da saúde, áreas de meio ambiente, entre outros, utilizam os resultados de análises gerados em laboratórios químicos para a tomada de decisões. Com base nestes resultados, aceitam-se ou rejeitam-se matérias primas, diferenciam-se a performance de fornecedores, processos produtivos são modificados, atua-se sobre a saúde das pessoas e dos animais.

Deste modo, os resultados das análises devem ser "bons", ou melhor, devem apresentar "qualidade aceitável" em função dos objetivos requeridos. Mas como podemos definir melhor estas medições de boa qualidade?

Analisemos um exemplo: Segundo a legislação ambiental, a contaminação de solos por cádmio não deve exceder a 5 µg/g. Se um laboratório determinou o teor de cádmio em um solo em 4,5 µg/g com incerteza de ± 0,5 µg/g, o resultado da análise indicou atendimento às exigências demandadas. Mas não seria o caso, se o resultado fosse 4,5 µg/g com incerteza de ± 0,8 µg/g. O laboratório estaria incorrendo em um certo risco de erro, ao afirmar que o solo atende às exigências prescritas em lei.

Caso os resultados analíticos tivessem sido expressos apenas como médias, eles não poderiam ter sido comparados com o valor de referência. Apenas quando as médias estão acompanhadas de suas incertezas, é possível tomar as decisões adequadas. Resultados médios sem as respectivas incertezas carecem de significado porque não dão a informação completa sobre a medição.

OBJETIVO

Este artigo apresenta um procedimento para o cálculo das incertezas em análise química, através de um estudo de caso aplicado aos resultados obtidos na determinação de cádmio

usando a técnica da espectrofotometria de absorção atômica com chama, para avaliação da capacidade de adsorção de argila utilizada como adsorvente de íons de metais.

CÁLCULOS DE INCERTEZAS EM ANÁLISE QUÍMICA**Incertezas em medições**

A atual preocupação da ciência da medição química é representada pela questão do cálculo da incerteza estatística associada aos resultados obtidos experimentalmente^{1,2}. Esta preocupação originou-se nos laboratórios analíticos prestadores de serviços, visto que a determinação das incertezas é exigida por critérios para o reconhecimento formal da competência técnica de laboratórios³⁻⁶. Esta questão é assunto ainda bastante controverso no meio científico. Até mesmo o significado do termo "incerteza" ainda não é perfeitamente entendido por muitos químicos, que costumam confundir-lo com a repetitividade^{7,9,12}.

De acordo com o Vocabulário Internacional de Metrologia^{8,9}, a incerteza de uma medição é um parâmetro associado ao resultado, que caracteriza a dispersão dos valores obtidos em torno da média.

A incerteza total é a soma das incertezas geradas pelos diversos componentes do processo de medição, cada um deles expresso como um desvio padrão. Através da combinação apropriada das variâncias, calcula-se a *incerteza padrão combinada*¹⁰⁻¹². Estabelecido um grau de confiança, determina-se a *incerteza combinada expandida*, através do critério do intervalo de confiança, utilizando um fator de abrangência, *k*. Na maioria dos casos, usa-se o valor de *k* = 2 correspondente ao estabelecimento do nível de confiança de aproximadamente 95%.

Entre as principais fontes geradoras de variabilidade em análise química estão a amostragem, a preparação da amostra em laboratório, a extração ou digestão, a pré-concentração de

soluções, e as interferências de vários tipos durante a quantificação (dos efeitos de matriz, das características dos instrumentos utilizados e da sua calibração, entre outras). A rigor, todo fator que contribui com a incerteza final do resultado analítico deve ser considerado; porém, para efeito didático, este trabalho concentrar-se-á, exclusivamente, na determinação das incertezas das etapas de marcha analítica previamente indicadas no exemplo para estudo de caso.

Incertezas de Resultados Obtidos usando a Espectrofotometria de Absorção Atômica com Chama

Na espectrofotometria de absorção atômica com chama, usualmente é feita uma calibração inicial do instrumento com uma série de soluções com concentrações conhecidas dentro de uma faixa de trabalho pré-estabelecida.

Plotando-se as concentrações conhecidas utilizadas x_i , contra as respostas do instrumento y_i , geralmente é possível observar correlações lineares. Estabelece-se uma curva de calibração que representa da melhor maneira possível o conjunto de pontos (x_i, y_i) obtidos.

Representando uma relação linear como $y = a x + b$, valores para a e b são obtidos através de método numérico dos mínimos quadrados, que é um modelo matemático de correlação entre os valores numéricos de x e de y ^{13,14}. O coeficiente de correlação r é calculado pela equação abaixo,

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})}{(n-1) s_x s_y}$$

onde S_x e S_y são as variâncias dos valores de x_i e y_i . O coeficiente de correlação varia entre -1 e +1. Quando utilizado em análise química, o conceito estatístico de r é muitas vezes mal interpretado^{15,16} e utilizado como critério de aceitação da linearidade da regressão por alguns analistas. Mesmo com valores altos de r , isto é, próximos de 1, porém abaixo de 0,999, é possível que a regressão não seja linear²¹, o que deve ser verificado com os testes estatísticos de comparação de variâncias.

Incerteza da Curva de Calibração

Laboratórios normalmente levantam a curva de calibração com 4 a 5 pontos ao longo da faixa de trabalho desejada, com algumas repetições em cada ponto. A média aritmética é o valor aceito e o desvio padrão da média é calculado para cada ponto, sendo que a incerteza pontual é dada pelo intervalo de confiança da média, estabelecido o grau de confiança desejado. Calculadas desta maneira, as incertezas não são representativas para a curva de calibração como um todo; trata-se de incertezas pontuais, e nada se pode afirmar quanto aos pontos intermediários da curva.

O uso da análise pela variância do resíduo está sendo amplamente difundido para calcular a incerteza ao longo da curva de calibração¹⁶⁻²². A dispersão das medições deve ser independente da concentração das soluções de referência, que é a propriedade conhecida como homoscedasticidade^{16,19,21} em y . Deve ser válido o pressuposto de que a variância é constante nos erros aleatórios. Se por acaso a variável independente x estiver sujeita a erros, estes devem ser desprezíveis quando comparados aos erros em y .

Para verificar se a equação de regressão é estatisticamente significativa efetuam-se os testes para verificação de ajuste do modelo linear, validade da regressão, sua eficiência e sua eficiência máxima¹⁹⁻²².

Teste de Ajuste do Modelo Linear

Antes de utilizarmos a função calibração estabelecida pela teoria dos mínimos quadrados, é preciso testar a linearidade, procedendo-se à comparação de variâncias.

A discussão que trata dos detalhes para a aplicação do modelo seguido é encontrada em literatura^{20,22}, e não será repetida neste trabalho, devido ao pouco acréscimo que traria aos químicos analíticos. O Quadro 1 descreve os elementos necessários para obtenção da análise pela variância.

O teste é feito através do cálculo da razão das médias quadráticas, ou seja, $F = MQL/MQEP$, e compara-se o valor obtido com $F_{crítico} = F_{(m_i - 2); (n - m_i); \alpha / 2}$ (tabelado), para o grau de confiança desejado.

Se $F \leq F_{crítico}$, aceita-se a linearidade, ou seja, o ajuste do modelo é considerado satisfatório. Caso contrário, novo intervalo para a faixa de trabalho deve ser estabelecido. Na prática exclui-se o ponto correspondente à concentração mais alta da faixa pré-estabelecida e procede-se ao teste com os novos limites. Se a condição $F \leq F_{crítico}$ é atendida, confirma-se a linearidade, ou seja, as variâncias em y são independentes dos níveis de concentração em x .

Teste de Validade da Regressão

Compara-se $F = MQR / MQE$ com o valor de $F_{crítico}$ tabelado, no nível de confiança selecionado.

Se $F \geq F_{crítico}$, aceita-se, no nível de confiança selecionado, que $a \neq 0$, o que significa que a inclinação da reta da regressão não é nula. Há indicação de que a regressão é significativa.

Se $F \leq F_{crítico}$, não há indicação de existência de relação linear entre as variáveis x e y ; e não tem sentido utilizar a regressão.

Teste de Eficiência da Regressão

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

Quadro 1. Médias quadráticas e graus de liberdade utilizados na análise de variância

Fonte	Soma Quadrática	Equação	ν	Média Quadrática
SQ dos totais	SQT	$\sum \sum y_{ij}^2$	n	$MQT = SQT / n$
correção ("b")	FC	$n \cdot y_{00}^2$	1	FC
SQT corrigida	SQC	$\sum \sum (y_{ij} - y_{00})^2$	$n - 1$	$MQC = SQC / (n - 1)$
SQ da regressão ("a")	SQR	$\sum (y_i - y_{00})^2$	1	$MQR = SQR$
SQ do resíduo	SQE	$\sum \sum (y_{ij} - y_i)^2$	$n - 2$	$MQE = SQE / (n - 2)$
SQ do erro puro	SQEP	$\sum \sum (y_{ij} - y_{i0})^2$	$n - m_i$	$MQEP = SQEP / (n - m_i)$
SQ da linearidade	SQL	$\sum (y_i - y_{i0})^2$	$m_i - 2$	$MQL = SQL / (m_i - 2)$

$n = \sum n_i$ = número total de medições; m_i = número de níveis com repetições da variável x ; y_{ij} = valor da variável controlada; y_{00} = média de todos os valores de y ; y_i = valor da variável controlada calculada pela equação obtida; y_{i0} = média das determinações repetidas no nível i ; O índice "i" refere-se ao nível da variável independente x ; o índice "j" refere-se às repetições feitas em cada nível de x . Nos casos de SQR e SQL, os somatórios vão de $i = 1$ até $i = n$. Nos casos de SQT, SQC, SQE e SQEP, os primeiros somatórios vão de $i = 1$ até $i = m_i$ e os segundos somatórios vão de $j = 1$ até $j = n_i$.

$R^2 = \frac{SQR}{SQC}$, sendo que o valor desejado para R^2 é teoricamente 1.

Na prática, valores abaixo de 0,95 ($R^2 < 0,95$) indicam que a regressão não é eficiente.

Cálculo de eficiência máxima ($R^2_{\text{máx}}$)

O cálculo de $R^2_{\text{máx}}$ indica a variância máxima explicável pela regressão.

$$R^2 = \frac{SQC - SQEP}{SQC}$$

Cálculo da incerteza de medições em x e y com a função calibração

O intervalo de confiança calculado para a reta de regressão, utilizando a distribuição T de Student, no nível de confiança selecionado e com o número de graus de liberdade ($n - 2$), é entendido como a incerteza da função calibração. A incerteza para qualquer ponto dentro da faixa de trabalho estudada, também válida para valores individuais, pode ser expressa como:

$$\text{Incerteza de } y_i = \pm T Sy_i \quad (1)$$

E os limites do intervalo de confiança para estimativas de y_i podem ser expressos assim:

$$y_i - T (\alpha / 2 ; n - 2) Sy_i \leq y_i \leq y_i + T (\alpha / 2 ; n - 2) Sy_i$$

sendo que

$T(\alpha / 2 ; n - 2)$ = fator da tabela T de Student no nível de de confiança $(1 - \alpha) \%$ e $(n - 2)$ graus de liberdade

Sy_i = desvio padrão da estimativa de y_i , na regressão

Pela lei de propagação de erros, entende-se que, para cada valor de y_i , existe um intervalo cujos limites são estabelecidos por duas curvas hiperbólicas^{16,19,21}, definindo os limites superior e inferior da curva média da regressão. A largura deste limite é influenciada pela incerteza das medições em y e pela incerteza das estimativas dos coeficientes linear e angular obtidas.

Na prática, o interesse ao se usar o método analítico é obter a incerteza de x_i , que corresponde aos valores dos limites do intervalo de confiança de y_i . O intervalo é conhecido como intervalo fiducial^{19,22} e está associado à incerteza dos valores obtidos nos eixos das abscissas.

Para o cálculo do intervalo fiducial, o valor medido em y deverá ser substituído na fórmula abaixo, calculando-se o valor de interesse em x ²².

$$\text{Valor de interesse } (x_i) = \frac{\text{valor obtido } (y_i) - b}{a} \pm \frac{TSy_i}{a} \quad (2)$$

Cálculo da incerteza de medições de amostras de concentração desconhecida

Para obter a incerteza da resposta analítica procurada, utiliza-se a expressão (2) com Sy_i calculado seguindo as expressões abaixo:

- Quando y_i corresponde à média de " R " replicatas, o desvio padrão de y_i é dado por¹⁶⁻²³ :

$$Sy_i = \sqrt{\frac{MQE}{P} + S_b^2 + S_a^2(x_o - x_m)^2} \quad (3)$$

sendo que:

MQE = média quadrática dos resíduos obtida na Análise pela Variância

R = número de repetições independentes para medições da amostra de concentração desconhecida

$x_m = \sum x_i / n$ (x_i = valores da variável independente ; $n = n^o$ total de medições efetuadas na regressão)

x_o = valor de x obtido para a amostra de concentração desconhecida

$S_b^2 = MQE / n$ (contribuição da parcela de b, coeficiente linear, ao desvio padrão)

$S_a^2 = MQE / S_{xx}$ (contribuição da parcela de a, coeficiente angular, ao desvio padrão)

$S_{xx} = \sum(x_i - x_m)^2$ (soma quadrática dos x)

- Quando y_i corresponde a apenas uma medição, a seguinte equação é calculada:

$$Sy_i = \sqrt{MQE + S_b^2 + S_a^2(x_o - x_m)^2} \quad (4)$$

ESTUDO DE CASO EXPERIMENTAL

Uma solução de $CdCl_2 \cdot 2,5H_2O$ contendo 56,3 mg de Cd (II) foi colocada em contato com 1 g de argila sob agitação constante, à temperatura ambiente por 4 horas. Em seguida, a fase líquida foi separada por filtração e a concentração de cádmio foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica com chama.

O procedimento analítico é apresentado brevemente abaixo, através de algumas etapas experimentais adotadas:

- 1 - Preparação da solução da amostra, para conter o elemento de interesse, em balão volumétrico de 250 mL;
- 2 - Diluições necessárias para ajustar a concentração do elemento à faixa linear da curva de calibração;
- 3 - Leituras no espectrofotômetro de absorção atômica utilizando instrumento da PERKIN ELMER, modelo 5000, com chama de ar-acetileno, lâmpada de cátodo oco de cádmio ajustada no comprimento de onda 228,8 nm e fenda de abertura de 0,7 nm, e corretor de fundo com lâmpada de deutério;
- 4 - Cálculo do Resultado Final

Para o cálculo da incerteza dos resultados são consideradas as seguintes fontes de incerteza:

- balança (marca Mettler com 160g de capacidade e escala de 0,1 mg);
- vidrarias volumétricas;
- espectrofotômetro utilizado e função calibração.

Para a estimativa da incerteza devido à pesagem, são consideradas as informações oferecidas pelo certificado de calibração da balança analítica, emitido por laboratório credenciado pela Rede Brasileira de Calibração^{3,12}.

As vidrarias volumétricas utilizadas são avaliadas quanto aos seus volumes, considerando efeitos devido à temperatura entre o momento da calibração e de sua utilização na análise química; é considerada a contribuição do fator de diluição ao cálculo da incerteza do resultado final¹⁰.

A incerteza devido à função calibração é obtida através do cálculo do intervalo de confiança da equação de regressão, considerando o modelo univariado, utilizando a Análise pela Variância dos Resíduos¹⁷⁻²².

RESULTADOS OBTIDOS

Estimando a incerteza padrão devido à pesagem

A massa inicial encontrou-se na faixa de 0,0200 a 0,2000 g da escala da balança, obtida por diferença. O certificado de calibração da balança mostrou que uma massa obtida por diferença, na região que compreendia os valores até 1,0000 g,

apresentava uma incerteza de $\pm 0,1$ mg (95% de confiança). Para obter a componente da incerteza em desvio padrão, dividiu-se este número por 2 (fator de abrangência aplicado para o cálculo de incerteza), ou seja, $0,1 / 2 = 0,05$.

O desvio padrão nas repetições para obtenção das massas nesta faixa foi estimado em $\pm 0,1$ mg, usando gráficos de controle^{23,24}.

Combinando-se as duas componentes, obteve-se a incerteza (expressa como um desvio padrão) devido à etapa de pesagem. Como a massa inicial é obtida por diferença, a parcela 0,05 é multiplicada por 2.

$$s(m_i) = \sqrt{2(0,05)^2 + (0,1)^2} = 0,1225 \text{ mg}$$

Estimando a incerteza padrão devido à diluição da massa inicial

A solução aquosa contendo íons cádmio, após contato com a argila foi filtrada em balão volumétrico de 250 mL.

Para calcular a incerteza devido às vidrarias volumétricas partiu-se da especificação ISO para vidrarias volumétricas^{25,26}. Em geral, os limites de tolerâncias declarados não indicam o nível de confiança associado e qual a distribuição populacional a que elas pertencem. Portanto, estimou-se a incerteza utilizando a máxima amplitude declarada pela tolerância dividida por raiz quadrada de 6, assumindo-se a distribuição triangular¹⁰⁻¹². Sendo assim, para a diluição da massa inicial em balão volumétrico de 250 mL, o desvio padrão calculado foi de $0,15 / 6^{1/2} = 0,0612$ mL, sendo que 0,15 mL foi obtido de tabelas para tolerâncias em balões volumétricos de 250 mL^{25,26}.

Para considerar o efeito devido à diferença entre temperaturas, na calibração e no momento da análise, foi estimada uma variação de temperatura de $\pm 3\text{K}$ (com 95% de confiança)¹⁰, considerando o coeficiente de dilatação volumétrica da água ($2,1 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C}$ a 20°C). Uma vez que a dilatação volumétrica do líquido é consideravelmente maior que a do frasco ($10 \times 10^{-6} / ^\circ\text{C}$ para vidros borossilicatos e $25 \times 10^{-6} / ^\circ\text{C}$ para vidros sódio-cálcio), desprezou-se o efeito deste último no cálculo. Sendo assim, para frasco de 250 mL, o intervalo de 95% de confiança de $\pm 250 \times 3 \times 2,1 \times 10^{-4}$, ou seja, 0,1575 representa o efeito da temperatura à incerteza do resultado final. Considerando a distribuição retangular¹⁰⁻¹², o desvio padrão é calculado dividindo 0,1575 por raiz quadrada de 3, resultando em 0,09094.

A incerteza combinada, referente à etapa de dissolução da amostra em volume final de 250 mL, foi calculada combinando-se as 2 parcelas de desvio padrão,

$$s(V_F) = \sqrt{(0,0612)^2 + (0,09094)^2} = 0,1096$$

Estimando a incerteza padrão devido ao fator de diluição

Para fazer as medidas de cádmio, utilizando a função calibração, foram necessárias 2 diluições de 10 vezes da solução anterior. Para diluições de 10 vezes, foi utilizada pipeta volumétrica de 10 mL e balões volumétricos de 100 mL.

Tabela 1. Cálculo da incerteza devido às diluições

material volumétrico (V - mL)	s ^(*)	tolerância/6 ^{1/2} padrão + efeito de temperatura	desvio padrão combinado	incerteza padrão combinada (1s - mL)	incerteza padrão relativa (1s/V)
pipeta 10 mL	0,012	0,00878	$(0,012^2 + 0,0878)^{1/2}$	0,0149	0,00149
balão 100 mL	0,010	0,0520	$(0,010^2 + 0,0520)^{1/2}$	0,0529	0,000529
balão 250 mL	0,020	0,101	$(0,020^2 + 0,101)^{1/2}$	0,103	0,000412

(*) desvio padrão obtido através de gráficos de controle (levando em conta operações de rotina)

A Tabela 1 mostra os valores obtidos para o cálculo da incerteza padrão combinada, que foi expresso como um desvio padrão, levando-se em conta as variabilidades devido a operações de rotina e especificação de vidrarias^{25,26}. Considerando a distribuição triangular¹⁰⁻¹² para limites de tolerância especificados, calculou-se o desvio padrão, dividindo-se estes valores por raiz quadrada de 6.

Ao fator de diluição está associada a incerteza devido aos volumes inicial e final. Como o fator é calculado por operação de divisão, a incerteza associada ao fator é dada por $s_{\text{fator}} / \text{fator}$. Em seguida, a incerteza associada ao fator é calculada para uma diluição de 1:10, usando pipeta de 10 mL e balão de 100 mL.

$$\frac{s_{\text{fator}10}}{\text{fator}10} = \sqrt{\left(\frac{s_{v10}}{10}\right)^2 + \left(\frac{s_{v100}}{100}\right)^2}$$

sendo que:

$s_{\text{fator}10}$ = desvio padrão do fator (corresponde à utilização de pipeta de 10 mL e balão volumétrico de 100 mL)

$\text{fator}10$ = valor do fator, neste caso, é 10

Substituindo os respectivos valores:

$$\frac{s_{\text{fator}10}}{10} = \sqrt{(0,00149)^2 + (0,000529)^2}$$

$$s_{\text{fator}10} = 0,0158$$

Estimando a incerteza devido à função calibração

A curva de calibração foi obtida com 5 soluções preparadas com concentrações diferentes: 0,50; 0,75; 1,0; 1,5 e 2,0 mg/L de Cd (II), a partir de uma solução estoque de $1,000 \pm 0,002$ g/L de Cd (II). Os erros em "x" são pressupostos desprezíveis quando comparados às variabilidades em "y". A mesma curva foi preparada em 4 dias diferentes (em 21, 22, 23 e 29/08/97).

A Tabela 2 indica os dados brutos deste experimento e a decomposição das variâncias é mostrada na Tabela 3.

Os resultados de testes para o ajuste do modelo seguido (Tabela 4) mostra que o valor da razão MQL/MQEP=0,1795 foi inferior ao valor tabelado ($F_{\text{crítico}} = 4,15$). A indicação de existência de relação linear entre as variáveis dependente y e independente x foi altamente significativa e confirmada com a razão MQR/MQE = 22 715.

O valor obtido de $R^2 = 0,9992$ demonstrou a eficiência da regressão, com $R^2_{\text{máx}}$ de 0,9994. Os parâmetros da regressão foram estimados (coeficiente angular, $a = 0,2358$ e coeficiente linear, $b = 0,01419$). Leitura única de absorvância obtida para a solução amostra foi de 0,273.

A concentração de cádmio e sua incerteza, em mg/L, foi calculada utilizando a expressão (2) e (4) com $T_{(18; 0,025)} = 2,101$.

$$\begin{aligned} \text{concentração de cádmio} &= \frac{0,273 - 0,01419}{0,2358} \pm \frac{2,101 \times 0,003861}{0,2358} \\ &= (1,098 \pm 0,034) \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Tabela 2. Dados brutos/construção da curva de calibração de cádmio

x_i	y_{ij}	x_m	$x_i - x_m$	y_i	y_{oo}	y_{io}	$y_{ij} - y_{oo}$	$y_{ij} - y_i$	$y_i - y_{oo}$	$y_{ij} - y_{io}$	$y_i - y_{io}$
Bloco 1											
0,50	0,137	1,15	(0,65)	0,1321	0,2853	0,1330	-0,1483	-0,1532	0,004937	0,004000	0,0009375
0,50	0,134	1,15	(0,65)	0,1321		0,1330	-0,1513	-0,1532	0,001937	0,001000	-0,0009375
0,50	0,131	1,15	(0,65)	0,1321		0,1330	-0,1543	-0,1532	-0,001063	-0,002000	-0,0009375
0,50	0,130	1,15	(0,65)	0,1321		0,1330	-0,1553	-0,1532	-0,002063	-0,003000	-0,0009375
Bloco 2											
0,75	0,187		0,75	0,1910		0,19075	-0,0983	-0,0943	-0,00400	-0,003750	0,0002500
0,75	0,193		0,75	0,1910		0,19075	-0,0923	-0,0943	0,00200	0,002250	0,0002500
0,75	0,190		0,75	0,1910		0,19075	-0,0953	-0,0943	-0,00100	-0,000750	0,0002500
0,75	0,193		0,75	0,1910		0,19075	-0,0923	-0,0943	0,00200	0,002250	0,0002500
Bloco 3											
1,00	0,247	1,15	(0,15)	0,2499		0,2505	-0,0383	-0,0353625	-0,0029375	-0,003500	-0,0005625
1,00	0,249	1,15	(0,15)	0,2499		0,2505	-0,0363	-0,0353625	-0,0009375	-0,001500	-0,0005625
1,00	0,251	1,15	(0,15)	0,2499		0,2505	-0,0343	-0,0353625	0,0010625	0,000500	-0,0005625
1,00	0,255	1,15	(0,15)	0,2499		0,2505	-0,0303	-0,0353625	0,0050625	0,004500	-0,0005625
Bloco 4											
1,50	0,364	1,15	0,35	0,3678		0,3645	0,0787	0,0825125	-0,0038125	-0,000500	0,003313
1,50	0,360	1,15	0,35	0,3678		0,3645	0,0747	0,0825125	-0,0078125	-0,004500	0,003313
1,50	0,363	1,15	0,35	0,3678		0,3645	0,0777	0,0825125	-0,0048125	-0,001500	0,003313
1,50	0,371	1,15	0,35	0,3678		0,3645	0,0857	0,0825125	0,0031875	0,006500	0,003313
Bloco 5											
2,00	0,488	1,15	0,85	0,4857		0,48775	0,2027	0,2003875	0,002313	0,0002500	-0,002063
2,00	0,483	1,15	0,85	0,4857		0,48775	0,1977	0,2003875	-0,002687	-0,004750	-0,002063
2,00	0,489	1,15	0,85	0,4857		0,48775	0,2037	0,2003875	0,003313	0,001250	-0,002063
2,00	0,491	1,15	0,85	0,4857		0,48775	0,2057	0,2003875	0,005313	0,003250	-0,002063
Somas quadráticas											
SQT											
32,2500	1,9505	21,1600	7,4100	1,9502	0,0814	SQC	SQR	SQE	SQEP	SQL	
						1,9503	0,3226	0,3223	0,00026	0,00019	0,000066
Coefficiente angular							0,2358				
Coefficiente linear							0,01419				
x_i = variável independente							SQT = soma quadrática / totais				
y_{ij} = variável dependente							SQC = soma quadrática corrigida				
$x_m = S x_i / n$							SQR = soma quadrática / regressão				
y_i = correspondente a x_m na função calibração							SQE = soma quadrática / resíduo				
y_{oo} = média aritmética dos valores de y_i							SQEP = soma quadrática / erro puro (replicatas)				
y_{io} = média das replicatas (nível i)							SQL = soma quadrática / linearidade				

Tabela 3. Análise de variâncias

Fontes de Variabilidade	Somas Quadráticas (SQ)	Graus de Liberdade	Médias Quadráticas (MQ)	
<i>dos totais</i>	1,95053	20	0,0975265	MQT
<i>da correção</i>	0,08139	1	0,0813960	FC
<i>dos totais corrigidos</i>	0,32260	19	0,01697937	MQC
<i>da regressão</i>	0,32235	1	0,32235276	MQR
<i>do resíduo</i>	0,00025	18	1,4191E-05	MQE
<i>do erro puro (replicatas)</i>	0,00018	15	1,26333E-05	MQEP
<i>da linearidade</i>	0,00006	3	2,19792E-05	SQL
		$S_a^2 = 1,91511 \cdot 10^{-6}$		
		$S_b^2 = 7,09549 \cdot 10^{-7}$		

O resultado foi expresso como $(1,10 \pm 0,03)$ mg/L, ou seja, com 95% de confiança a concentração de cádmio na solução encontrava-se entre 1,07 e 1,13 mg/L. Em percentagem, a incerteza devido à função calibração representou 3%.

Cálculo da incerteza total do resultado final

Considerando que a amostra tinha sido diluída 100 vezes

(2 diluições de 10 vezes, com pipeta volumétrica de 10 ml e balões volumétricos de 100 mL) e inicialmente estava contida em balão volumétrico de 250 mL, o resultado calculado, em massa, passou a ser 27,4 mg de cádmio (mg cádmio = $1,098 \times 25$).

A Tabela 5 resume os componentes das incertezas devido às várias etapas do procedimento analítico descrito para a determinação de cádmio.

Tabela 4. Testes para verificação de linearidade e eficiência da regressão

LINEARIDADE	“a” é diferente de zero?
F _{calculado} = MQL / MQEP = 0,1795 F _{3 ; 15 ; 0,025} = 4,15 F _{calculado} < F crítico Aceita-se a linearidade	F _{calculado} = MQR / MQE = 22 715 F _{1 ; 18 ; 0,025} = 5,98 F _{calculado} >> F crítico “a” é diferente de zero
EFICIÊNCIA	EFICIÊNCIA MÁXIMA
R ² = SQR / SQC = 0,9992 Aceita-se a eficiência	R ² _{máx} = (SQC - SQEP) / SQC = 0,9994

Tabela 5. Fontes de incerteza para o cálculo da incerteza total na determinação de cádmio.

Fontes de incerteza	Valor (v)	Incerteza Padrão (1s)	Incerteza Padrão (1s/v)
x _{obs} (mg/L)	1,098	0,01689 (*)	0,01538
V _f (mL)	250	0,1096	0,0004384
fator de diluição	2 x 10 ^(**)	0,02234 (**)	0,002234
massa inicial (mg)	56,3	0,1225	0,002176

(*) valor obtido utilizando a estimativa de S_y da regressão dividida pelo coeficiente angular da curva analítica - expressão (2) [0,003982 / 0,2358=0,01689]; (**) corresponde a 2

diluições de 10 vezes; portanto, $s = \sqrt{2x(0,0158)^2} = 0,02234$

Seguindo as recomendações internacionais estabelecidas para nomenclatura e expressão de incertezas em medições^{11,12}, são mostrados em seguida os cálculos para *incerteza combinada* e *incerteza combinada expandida* para o resultado de 27,4 mg.

Cálculo da incerteza combinada - $u_{(C)}$

$$\frac{u_{(C)}}{27,4} = \pm \sqrt{(0,01538)^2 + (0,0004384)^2 + (0,002234)^2 + (0,002176)^2}$$

$$u_{(C)} = \pm 0,01570 \times 27,4$$

$$u_{(C)} = \pm 0,43$$

Resultado Final: (27,4 ± 0,4) mg

Cálculo da incerteza combinada expandida - U

$$U = \pm 2 \times 0,43$$

$$U = \pm 0,86$$

Resultado Final : (27,4 ± 0,9) mg

U (em percentagem) = 3%

COMENTÁRIOS

Observa-se que a incerteza combinada expandida expressa em percentagem de 3% referente ao resultado 27,4 mg, tem o mesmo valor obtido para a incerteza da função calibração. Comparando-se os valores de incertezas das várias etapas do procedimento analítico adotado (Tabela 5), percebe-se que as incertezas relativas à obtenção da massa inicial (CV = 0,002176), à diluição inicial (CV = 0,0004384) e ao fator de diluição (CV = 0,002234) são bem menores que a incerteza associada à medição obtida com a função calibração (CV = 0,01538).

O exemplo apresentado refere-se à medição única da amostra de concentração desconhecida. Analisando a expressão (III), observa-se que, à medida que o número de replicatas “ R “ de amostras aumentar, o termo MQE/R diminuirá e, conseqüentemente o termo TSy_i / a da expressão (II). Portanto a incerteza do valor de interesse também diminuirá, à medida que se

efetuar um maior número de replicatas para a amostra de concentração desconhecida.

Em trabalhos de rotina, recomenda-se estabelecer a função calibração com pelo menos 5 pontos, distribuídos de forma equidistante, ao longo da faixa de trabalho desejada. Estudos para planejamento otimizados^{21,27} sugerem fazer 2 replicatas pelo menos para as concentrações mais alta e mais baixa da faixa de trabalho estudada. A ISO 8466/90²⁸ recomenda procedimento com 10 replicatas de cada uma das concentrações mais alta e mais baixa da faixa de trabalho, mantendo-se leitura única para os pontos intermediários, para checar a homogeneidade de variâncias.

Como é observado no presente estudo, replicatas de amostras e de soluções de referência, usadas para a construção da curva de calibração, são fatores importantes que determinam os graus de liberdade a serem considerados no cálculo das médias quadráticas, na análise de variância, e que influenciam no valor a ser obtido para a incerteza dos resultados.

A abordagem das incertezas, da forma como foi discutida, não pretendeu subestimar outras fontes de variabilidade importantes, que são as interferências e efeitos de matriz em uma análise química, porém não incluídas nesta discussão.

CONCLUSÃO

O exemplo dado como estudo de caso mostra a importância de se conhecer as parcelas de incertezas que contribuem ao resultado final, uma vez que permite identificar a etapa que mais contribui à incerteza total do resultado final. São recomendadas medidas de controle²⁹ para que a qualidade dos resultados gerados em laboratório seja monitorada. A função calibração, muito empregada na química analítica, pode ser planejada, a fim de proporcionar uniformidade às práticas metroológicas nos diversos laboratórios que venham a gerar resultados a serem comparados entre si, ou que venham a representar informações para decisões em situações de impasse.

A discussão da qualidade de resultados analíticos, através das incertezas associadas às medições obtidas, representa contribuição à necessária uniformização para os seus cálculos, ao mesmo tempo conscientizando o químico analista a respeito da correta expressão de resultados em análise química.

A recomendação para utilizar o Sistema Internacional de Unidades ajudou a uniformizar a expressão das medições nas áreas científicas e tecnológicas. Da mesma forma é necessário o consenso para o cálculo e a expressão da incerteza em medições, a fim de facilitar a interpretação apropriada dos resultados em análises químicas.

REFERÊNCIAS

- Royal Society of Chemistry / Analytical Methods Committee; *Analyst* **1995**, 120, 2303.
- Horwitz, W.; Albert, R.; *Analyst* **1997**, 122, 615.
- ISO GUIDE 25; *General Requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. 4th Edition, 1997 (E).

4. Bode, P.; *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **1997**, *215*, 51.
5. Bode, P.; *Total Quality Management to prevent wrong results and a waste of time and money*; In IAEA Symposium Series Kyderabad - IAEA-SM-344/13, 1996.
6. Bode, P.; *Analyst* **1995**, *120*, 1527.
7. ISO-DIS 5725/1990; *Accuracy (Trueness and Precision) of Measurement Methods and Results - Part I - General Principles and Definitions*, Suíça, 1990.
8. ISO VIM / International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology, 2nd Edn., Geneva, 1993.
9. Inmetro/Instituto Nacional de Metrologia; *Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia* - Portaria 029 de 10/03/95, Rio de Janeiro, 1995.
10. Eurachem - Working Group; *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* ; English 2st Edition (draft EURACHEM/CITAC Guide, June 1999) (ISBN O-948926-08-2, 1st Edition, 1995, Crown Copyright, England).
11. ISO / International Organization for Standardization; *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* ; Geneva, 1995.
12. Inmetro/Instituto Nacional de Metrologia; *Guia para a expressão da incerteza de medição*, 2^a Edição Brasileira, agosto de 1998.
13. Draper, N.R.; In *Applied Regression Analysis*; John Wiley & Sons, Inc., 2nd Edition; New York, 1980, p 3.
14. Costa Neto, P.L.O.; In *Estatística*; Edgard Blücher Editora Ltda; 12^a Impressão, São Paulo, 1977, p 54.
15. Royal Society of Chemistry / Analytical Methods Committee; *Analyst* **1988**, *113*, 1469.
16. Royal Society of Chemistry / Analytical Methods Committee; *Analyst* **1994**, *119*, 2363.
17. Danzer, K.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* **1995**, *351*, 3.
18. Hunter, J. Stuart; *JAOAC* **1981**, *64*, 3, 574.
19. Waeny, J.C. Castro; *Publicação IPT 1319*, 1984, São Paulo, Brasil.
20. Barros Neto, B. de, Scarminio, I.S. e Bruns, R.E.; In *Planejamento e Otimização de Experimentos*; Editora da UNICAMP, 2^a Edição, Campinas, São Paulo, 1996, série Manuais (p.156-162) ISBN 85-268-0336-0.
21. Pimentel, M. F. e Barros Neto, B.; *Quim. Nova* **1996**, *19*, 268.
22. Giller, M.; Monografia para obtenção do título Especialista em Eng^a da Qualidade, Pontifícia Universidade Católica, Paraná, 1994, p 38.
23. Mullins, E.; *Analyst* **1994**, *119*, 369.
24. B S 5700; *Guide to Process Control using Quality Control Chart Method and Cusum Techniques*, England, 1984.
25. ISO-DIS 648; *Laboratory Glassware, One Mark Pipettes*, Suíça, 1976.
26. ISO-TC48-R1042; *One mark volumetric flasks*, Suíça, 1968.
27. Box, G. E. P.; Hunter, W. G. AND Hunter, J.S.; In *Statistics for Experimenters - Introduction to Design, Data Analysis and Model Building*; John Wiley & Sons Ed., New York, 1987.
28. ISO 8466-1; *Water quality - Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics ; Part 1 : Statistical evaluation of the linear calibration function*; 1^a Edição, Suíça, 1990.
29. Royal Society of Chemistry / Analytical Methods Committee; *Analyst* **1995**, *120*, 29.