

SISTEMÁTICA RÁPIDA E FÁCIL DE VALIDAR SEUS MÉTODOS E ESTIMAR A INCERTEZA

Odair Katsutomo Augusto⁽¹⁾

Químico pela Universidade Ibirapuera e Engenheiro Agrônomo pela Faculdade Cantareira. Especialização em Engenharia do Saneamento Básico pela Faculdade de Saúde Pública da USP. Aperfeiçoamento em tópicos de Estatística pelo Instituto de Matemática e Estatística da USP. Pós-graduando em Geoprocessamento pelo SENAC – SP. Trabalha na Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo, onde atuou como analista, químico, supervisor de laboratório e atualmente exerce atividades relacionadas à gestão da qualidade.

Wanderley Aparecido Beia Germini⁽²⁾

Biólogo pela Universidade Guarulhos e Especialização em Educação Ambiental pelo SENAC Rio. Trabalha na Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo, onde atuou como analista e biólogo e desde 1999 exerce as atividades de gestão da qualidade.

Endereço⁽¹⁾: Rua Conselheiro Saraiva, nº 519 – Santana – São Paulo – SP – CEP: 02037-021 – Brasil – Tel: +55 (11) 2971- 4209 – email: odairkaugusto@sabesp.com.br

RESUMO

OS LABORATÓRIOS DE ENSAIOS FÍSICOS E QUÍMICOS DEVEM COMPROVAR QUE A METODOLOGIA UTILIZADA NAS SUAS CONDIÇÕES ATENDE AOS CRITÉRIOS ESTATISTICAMENTE VÁLIDOS E TAMBÉM PRECISAM ESTIMAR A INCERTEZA DE MEDIÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS. NO INTUITO DE FACILITAR A VIDA DO PESSOAL DESSES LABORATÓRIOS, ESTE TRABALHO APRESENTA UMA FORMA RÁPIDA E FÁCIL DE VALIDAR E ESTIMAR INCERTEZA, POR MEIO DA REALIZAÇÃO DE 49 ENSAIOS, CUJOS RESULTADOS FORAM REGISTRADOS EM PLANILHA ELETRÔNICA QUE FAZ OS CÁLCULOS ESTATÍSTICOS E MOSTRA SE OS RESULTADOS ATENDEM OS CRITÉRIOS ESTABELECIDOS. ESSA VALIDAÇÃO PODE SER APLICADA NAS METODOLOGIAS DE ENSAIO EM ÁGUA, ESGOTOS, LODOS E PRODUTOS QUÍMICOS E MATERIAIS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE ÁGUA E ESGOTOS. A SISTEMÁTICA PROPOSTA FOI UTILIZADA NA DETERMINAÇÃO DE TURBIDEZ, AVALIOU-SE QUE O ENSAIO É ADEQUADA AO USO E CONCLUIU-SE QUE ESTE MÉTODO FACILITA E AGILIZA O TRABALHO DO TÉCNICO DO LABORATÓRIO.

PALAVRAS-CHAVE: Validação de método, estimativa de incerteza, ensaios

INTRODUÇÃO

De acordo com o orientativo do Inmetro, DOQ-CGCRE-008, é fundamental que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para demonstrar, por meio da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida. O laboratório ao empregar métodos normalizados, necessita demonstrar que tem condições de operá-los de maneira adequada, dentro das condições específicas existentes nas suas instalações antes de implementá-los, não necessitando realizar os seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, faixa de trabalho e faixa linear, comparação de métodos, avaliação de aceitabilidade, robustez e comparação de precisão entre métodos, desde que os parâmetros de validação estejam declarados no métodos em questão, entretanto se um método for modificado, o laboratório deve assegurar que o método atende aos requisitos pretendidos. Segundo o Guia para a Expressão da Incerteza de Medição do Inmetro, quando se relata o resultado de medição, é obrigatório uma indicação quantitativa da qualidade do resultado através da indicação da incerteza e sem essa indicação os resultados não podem ser comparados, portanto é

necessário ter procedimento facilmente compreendido de aceitação geral para avaliar e expressar a incerteza.

OBJETIVO

Demonstrar a aplicação do método de validação e estimativa de incerteza de forma fácil e rápida.

MATERIAL E MÉTODOS

Definição de parâmetros de validação

A validação proposta neste trabalho tem como referência o documento orientativo do INMETRO - DOQ-CGCRE-008.

Os parâmetros de validação devem estar claramente declarados no plano de validação. Esses parâmetros devem ser calculados durante o processo de validação e podem variar de acordo com o tipo de ensaio como mostra tabela 1 abaixo.

Tabela 1: Parâmetros e tipos de ensaio

Parâmetros	Tipo de ensaio			
	Qualitativo	Determinação do principal componente	Análise de Traços	Propriedades Físicas
Precisão		X	X	X
Especificidade/Seletividade	X	X	X	X
Tendência/Recuperação		X	X	X
Robustez	X	X	X	X
Sensibilidade/Faixa de trabalho		X	X	X
Limite de Detecção	X		X	
Limite de Quantificação			X	

Plano de Validação

Foi elaborado um programa de validação para determinação de turbidez, contendo os responsáveis, situação dos equipamentos, materiais de referência e datas de início e término de cada processo de validação, conforme tabela 3.

Verificação dos equipamentos e materiais de referência

Foi avaliado as condições de uso e verificação de calibração dos equipamentos e vidrarias, a especificação e validade dos reagentes e padrões de referência, segundo os procedimentos internos específicos, conforme tabela 3. Caso existam condições não conformes, deve ser efetuado as manutenções, calibrações ou aquisições devidas para depois passar à próxima etapa.

Preparação das Amostras

Amostra é a unidade de um produto que mostra sua natureza, qualidade e tipo. Matriz é amostra sem o analito de interesse que será utilizada na preparação de outras amostras com adição de padrão com objetivo de avaliar as interferências do método.

Solução Padrão, considerada Material de Referência Certificado (MRC), é a solução padrão-estoque utilizada para preparação das amostras com adição de padrão. Foi preparada com todos os cuidados e registros que garantem sua rastreabilidade ao Sistema Internacional (SI) e tem sua incerteza em relação à concentração do analito estimada com base nas contribuições da pureza, volumetria e gravimetria. Caso seja usado padrão adquirido externamente, o mesmo deve possuir certificado, com rastreabilidade e incerteza.

Foram preparadas (07) replicatas independentes de cada amostra (de A a G) conforme tabela 2.

Para possibilitar a avaliação da repetitividade intralaboratorial, as amostras foram preparadas, por três analistas diferentes, os mesmos que realizaram os ensaios.

Tabela 2: Preparação das amostras

Amostra	Analista	Descrição	Concentração	Solvente
A	1	Matriz sem adição de padrão	Zero	Matriz
B	1	Matriz com a menor concentração desejada do analito	Próxima ao limite de detecção	Matriz
C	2	Matriz com a maior concentração desejada do analito	Valor máximo da curva de calibração	Matriz
D	2	Matriz com concentração média	Meio da curva de calibração	Matriz
E	3	Ponto intermediário com matriz	Contida na curva de calibração e diferente das anteriores	Matriz
F	3	Padrão de trabalho com matriz	Próxima à média das amostras ou limite de especificação	Matriz
G	3	Padrão de trabalho sem matriz	Igual à solução F	Água Reagente

Para amostra B, sugere-se que a concentração seja de 20 % a 50% do limite máximo permitido pela legislação.

Registros da Validação

O registro de validação é normalmente realizado em um relatório. Para facilitar o registro da validação, ou seja, dados referentes à matriz utilizada, metodologia, faixa de trabalho, procedimento, concentração das amostras, materiais de referência e equipamentos foi utilizado o formulário padrão conforme tabela 3.

Tabela 3: Metodologia, equipamentos e materiais de referência

LABORATORIO:	Inorgânica	DATA:	12/03/2013	RESPONSAVEL:	Elvira A. S. Venckunas
Ensaio:	Turbidez (Faixa Baixa)				
Método:	Nefelométrico				
Metodologia Referenciada:	Standard Methods FOR THE EXAMINATION OF WATER & WASTEWATER 21st Edition				
Limite da Legislação/especificação	0,5	ppm	Preencher a célula anterior com "%" ou "ppm" ou "ppb"		
Faixa de Trabalho:	de 0,10 a 20 NTU				
Instrução de Trabalho/versão:	PO-CQ0422				
EQUIPAMENTOS E MATERIAIS DE REFERÊNCIA					
Equipamentos e Vidrarias utilizados na realização do ensaio		Validade da Calibração		Certificado	
Turbidímetro HACH 2100N BP: 1381243		nov/14		7024170	
Micropipeta RAININ EDP BP:1381314		jun/14		RBC 4805/13	
Balão de Vidro de 200 mL		ago/15		BVT 4657	
Padrões e Reagentes		Data de Validade		Certificado	
Nome do padrão ou reagente		Data de validade do padrões ou reagente		Número do certificado	
Solução Padrão Formazina 4000 NTU		out/13		IonSol-17618	
Solução Padrão Formazina STABLCAL <0,10 NTU LOTE:8210		jul/13		HACH-26621-05	
Solução Padrão Formazina STABLCAL 20NTU LOTE:8211		jul/13		HACH-26621-06	
Solução Padrão Formazina STABLCAL 200NTU LOTE:8207		jul/13		HACH-26621-07	
Solução Padrão Formazina STABLCAL 1000NTU LOTE:8212		jul/13		HACH-26621-08	
Solução Padrão Formazina STABLCAL 1000NTU LOTE:8212		jul/13		HACH-2461-02	
				Conc. Valor do padrão ou reagente	
				Incerteza Valor da incerteza no certificado	
				4000 NTU ± 40 NTU	
				<0,10 NTU não consta	
				20 NTU ± 1 NTU	
				200 NTU ± 10 NTU	
				1000 NTU ± 50 NTU	
				4000 NTU ± 200 NTU	

O planejamento da foram definidos a matriz, as concentrações e os volumes preparados, suficientes para todo o processo, conforme tabela 4.

Tabela 4: Planejamento da validação

PLANO DE VALIDAÇÃO						
Matriz é uma amostra com todos os seus componentes exceto o analito de interesse.						
Amostra	Água Final					
Data Coleta	11/03/2013	Embalagem/Preservação	Filtração em 0,2um, Frasco Plástico - refrigeração - prazo 48 horas			
PREPARAÇÃO DE AMOSTRA						
AMOSTRAS	DESCRIÇÃO	Volumes/massa		Concentração	Número da vidraria	
		Padrão	Total		Balão Volumétrico	Pipeta
A	Matriz sem adição de padrão	-	200 mL	0,08 NTU	BVT 4657	F0500505C
B	Matriz com menor concentração desejada do analito	0,005 mL	200 mL	0,10 NTU	BVT 4657	F0500505C
C	Matriz com a maior concentração desejada do analito	5000 mL	200 mL	100 NTU	BVT 4657	F0500505C
D	Matriz com concentração média	1000 mL	200 mL	20 NTU	BVT 4657	F0500505C
E	Matriz com concentração diferente das demais	0,50 mL	200 mL	10 NTU	BVT 4657	F0500505C
F	Padrão de trabalho com matriz	0,050 mL	200 mL	1,00 NTU	BVT 4657	F0500505C
G	Padrão de trabalho sem matriz	0,050 mL	200 mL	1,00 NTU	BVT 4657	F0500505C

RESULTADOS

Foram registrados, os técnicos que realizaram os ensaios, o valor teórico e os resultados dos ensaios conforme tabela 5.

Tabela 5: Técnicos que realizaram os ensaios, valor teórico e resultados

RESULTADOS DOS ENSAIOS							
Técnicos	1 - Elvira		2 - Tania		3 - Durães		
DESCRIÇÃO	Sem analito	Menor Concentração próximo (LD)	Superior	Médio	Intermediário	Padrão COM Matriz	Padrão SEM Matriz
AMOSTRAS	A	B	C	D	E	F	G
Valor teórico (NTU)	0,08	0,1	20	20	10	1,0	1,0
Técnico	Elvira	Elvira	Elvira	Tania	Tania	Durães	Durães
Replicatas/Data	07/10/2013	07/10/2013	07/10/2013	07/10/2013	07/10/2013	07/10/2013	07/10/2013
1	0,080	0,191	20,200	20,200	10,400	1,090	1,020
2	0,084	0,183	20,200	20,200	10,400	1,090	1,010
3	0,084	0,191	20,100	20,100	10,400	1,080	1,010
4	0,078	0,181	20,100	20,100	10,500	1,080	1,000
5	0,079	0,188	20,100	20,100	10,400	1,090	1,000
6	0,076	0,181	20,100	20,100	10,400	1,090	1,010
7	0,079	0,185	20,100	20,100	10,400	1,090	1,010
Média	0,08000	0,1857	20,129	20,129	10,414	1,087	1,009
Desvio Padrão	0,00300	0,0043	0,049	0,049	0,038	0,005	0,0069
Limites de critérios de aceitação para % recuperação/precisão	---	23	10	10	11	16	16

CÁLCULOS

Todos os cálculos envolvidos e avaliação dos resultados obtidos nesta sistemática foram realizados automaticamente na planilha do excel de registro de validação.

Limite de Detecção (LD)

Foi calculado de acordo com a equação 1, utilizando os resultados dos ensaios das 7 replicatas da amostra B, conforme conforme tabela 6.

$$LD = t.s \quad \text{equação (1)}$$

Onde:

$t = 3,143$ para 99 % de grau de confiança (para as 7 replicatas da amostra B com 6 graus de liberdade)

s = desvio padrão dos 7 resultados da amostra B

Deve considerar que o limite de detecção não poderá exceder 20% do limite da legislação ou especificação que será denominado “Valor Máximo de Limite de Detecção” (VMLD).

Tabela 6: Cálculo do limite de deteteção

Limite de Detecção (LD)		VMLD = 1/5 do Limite da Legislação ou Especificação
LD calculado	0,089429	
Valor Máximo de LD (VMLD)	0,10000	
Conclusão	Atende ao critério de Limite de LD	

Limite de Quantificação (LQ)

Foi calculado de acordo com a equação 2, utilizando os resultados dos ensaios das 7 replicatas da amostra B, conforme coforme tabela 7.

$$LQ = 5.s \quad \text{equação (2)}$$

Deve considerar que o limite de quantificação não poderá exceder 60% do limite da legislação ou especificação e foi denominado “Valor Máximo de Limite de Quantificação” (VMLQ). Caso o LQ for menor que a incerteza, recalculer o LQ conforme equação 3.

$$LQ = \frac{U}{0,4} \quad \text{equação (3)}$$

Onde:

U = incerteza expandida

A soma do LQ mais a incerteza não deve ultrapassar o limite da legislação ou especificação. Caso contrário, avaliar e melhorar o processo analítico, preparar outra solução com concentração mais alta e repetir os ensaios. Se não conseguir atingir estes critérios, o método não é adequado.

Tabela 7: Cálculo de limite de quantificação

Limite de Quantificação		VMLQ = (Limite da Legislação ou Especificação - Incerteza)
Valor de LQ calculado	0,095	
Valor máximo do LQ (VMLQ)	0,4250	
Conclusão	Atende ao critério de Limite de LQ	

Linearidade

Foi calculado utilizando o coeficiente de correlação linear entre os valores teóricos das amostras: B,C,D,E e F e os valores médios das 7 replicatas das mesmas amostras, com o recurso CORREL da planilha eletrônica do Excel, conforme tabela 8. O método para ser linear tem que apresentar valor calculado maior que o critério de aceitação de coeficiene de correlação linear cujo valor é 0,995.

Tabela 8: Cálculo de linearidade

Linearidade		>0,995 = Limite estabelecido no Standard Methods 21ª edição
Coefficiente de Correlação Linear (amostras B e F)	1,000	
Critério de Aceitação de Coeficiente de Correlação Linear	> 0,995	
Conclusão	Atende ao critério de Linearidade	

Seletividade

Foram comparados, conforme tabela 9, os 7 resultados da amostra G com os 7 resultados da amostra F, através dos testes “F” (diferença entre as precisões), de acordo com a equação 4. Para 7 resultados o F_{tabelado} é igual a 4,28 com 6 graus de liberdade.

$$F_{\text{calculado}} = \frac{s_1^2}{s_2^2} \tag{4} \text{equação}$$

Onde:

- “s” é o desvio padrão calculado das 7 replicatas de cada amostra F e G;
- s_1^2 e s_2^2 são variâncias de cada amostra, com a maior variância no numerador;

Se $F_{\text{calculado}}$ for menor que F_{tabelado} , as variâncias podem ser consideradas iguais, isto é, a matriz não tem um efeito importante sobre a precisão do método na faixa de concentração em estudo.

Neste caso, os desvios padrão dos dois grupos de resultados (amostras F e G) e a igualdade das médias podem ser testados com a distribuição t de Student como segue abaixo.

O valor de “S²” é a soma das variâncias dos componentes individuais do erro aleatório, através da equação 5:

$$S^2 = \frac{(6 \cdot s_1^2) + (6 \cdot s_2^2)}{12} \tag{5} \text{equação}$$

Onde:

s_1^2 e s_2^2 são os mesmos utilizados no cálculo do teste F.

Com os valores das médias e do S^2 , foi encontrado o valor de “ $t_{\text{calculado}}$ ” através da equação 6:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{2S^2}{7}}} \tag{6} \text{equação}$$

Onde:

- \bar{x}_1 = média dos resultados da amostra F;
- \bar{x}_2 = média dos resultados da amostra G;

Se $t_{\text{calculado}}$ for menor que 2,18 (para 12 graus de liberdade para as duas amostras), então o método é seletivo, não sofrendo interferência significativa da matriz. Caso contrário, os interferentes da matriz deverão ser investigados por testes de robustez, para definir os limites de aplicação e/ou deve-se descartar o uso do método.

Tabela 9: Cálculo da seletividade

Seletividade - Avaliação do efeito da matriz		
Teste F (amostra F e G)	2,00	Critério de aceitação das diferença entre amostras < 4,28 - 95% de confiança e 6 graus de liberdade em
Teste T (amostra F e G)	0,447	Critério de Aceitação das diferenças entre amostras < 2,18 - 95% de confiança e 12 graus de liberdade
Conclusão	Atende ao critério de seletividade	

Exatidão

a) Materiais de Referência

Foi comparado, conforme tabela 10, os resultados do padrão de trabalho sem matriz (Amostra G) com a concentração nominal do padrão, utilizando critério de decisão, o índice Z (Z-Score), calculado de acordo com a equação (7):

$$Z = \frac{(\bar{x}_{lab} - \bar{x}_v)}{s} \quad \text{equação (7)}$$

Onde:

\bar{x}_{lab} = média dos valores das 7 replicatas da amostra G;
 \bar{x}_v = valor aceito como verdadeiro;
 s = desvio padrão dos valores das 7 replicatas da amostra G.

Critérios para avaliação do Z-Score:

$|z| \leq 2$ = resultado satisfatório, o método possui exatidão estatisticamente válida;
 $2 < |z| \leq 3$ = resultado questionável, preparar nova amostra e refazer os cálculos;
 $|z| > 3$ = resultado insatisfatório, o método não é exato e deve ser revisto ou descartado.

Tabela 10: Cálculo de exatidão do Material de Referência

Materiais de Referência		Z score é o número de desvio padrão da amostra G	
$ z $	1,242		
Critério de Aceitação	$ z \leq 2$	Satisfatório	$2 < z \leq 3$ Questionável $ z > 3$ Insatisfatório
Conclusão	Atende ao critério de Exatidão		

b) Recuperação

Foi calculado conforme tabela 11, a % de recuperação das concentrações das Amostras B, C, D, E e F. Neste cálculo foi utilizado como referência o valor médio das 7 replicatas da amostra A, utilizando a equação 8.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{(c_1 - c_2)}{c_3} \times 100 \quad \text{equação (8)}$$

Onde:

c_1 = concentração determinada de cada amostra (média dos valores das 7 replicatas da amostra B, C, D, E e F);
 c_2 = concentração determinada na amostra (média dos valores das 7 replicatas da amostra A);
 c_3 = valor nominal de cada amostra B, C, D, E e F

Critério de aceitação:

Para determinar o critério de aceitação da recuperação deve ser utilizada a fórmula empírica de HORWITS, conforme a equação 9.

$$\text{Valor calculado} = 2^{(1 - 0,5 \log C)} \quad \text{equação (9)}$$

Onde:

Valor calculado = % da variação da recuperação
 $\log C$ = logaritmo do valor teórico de cada amostra (B, C, D, E e F).
A porcentagem de recuperação deve estar contida na faixa entre $100 \pm$ o valor calculado.

Tabela 11: Cálculo de recuperação

Recuperação						
Amostras	B	C	D	E	F	% Recuperação deve estar contido entre 100 ± o valor calculado
% Recuperação	106	100	100	103	101	
Critério de Aceitação	sim	sim	sim	sim	sim	
Conclusão	Atende ao critério de Recuperação em todas as amostras.					

Precisão

É o grau de concordância entre os resultados obtidos nas seguintes condições: mesmo procedimento de medição, mesmo técnico, mesmo equipamento usado sob mesmas condições, mesmo local e repetições em curto espaço de tempo. Foi obtido a precisão para cada um dos três técnicos que participaram da validação (1,2 e 3), calculando o limite de repetitividade com os dados de todas as replicatas de cada técnico.

a) Repetitividade

Foi calculado, conforme tabela 12, o desvio padrão relativo (DPR) das amostras B a G. Se o DPR for menor que o valor calculado para o limite de precisão (fórmula empírica de HORWITS), a variação é aceita. Caso alguma amostra estiver com DPR acima do critério de aceitação, deve refazer as 7 replicatas. Foi utilizado a equação 10 para calcular a repetitividade de cada amostra.

$$DPR = \frac{DP}{M} \times 100 \quad \text{equação (10)}$$

Onde:

DP = desvio padrão;
 CM = concentração média determinada na amostra

Tabela 12: Cálculo de repetitividade

Repetitividade							
Amostras	B	C	D	E	F	G	DPR deve ser menor que o Limite Calculado para cada amostra
DPR	2,34	0,24	0,24	0,36	0,45	0,68	
Critério de Aceitação	sim	sim	sim	sim	sim	sim	
Conclusão	Atende ao critério de Repetitividade em todas as amostras						

b) Precisão intermediária

Foi calculado, conforme tabela 13, o Desvio Padrão Relativo Intermediário (DPRI) das amostras B a F. Neste caso a precisão foi determinada através do cálculo do (DPRI), utilizando a equação 11.

$$DPRI = \frac{(SI \times 100)}{CMD} \quad \text{equação (11)}$$

Onde:

SI = desvio padrão da precisão intermediária com operadores diferentes
 CMD = concentração média determinada (média de todos os resultados das amostras B,C, D, E e F).

Calcular a média dos limites de critério de aceitação (ML);

$ML = (\text{soma dos limites B a F})/5$

Se o DPRI for menor que ML o método está adequado, caso contrário deve verificar qual amostra está com variabilidade maior e repetir.

Para o cálculo do SI foi utilizado a equação 12.

$$SI = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (y_k - \bar{y})^2} \quad \text{equação (12)}$$

Onde:

y_k = cada resultado obtido;

\bar{y} = representa a média aritmética de cada resultado obtido.

Tabela 13: Cálculo de precisão intermediária

Precisão Intermediária						
Desvio Padrão da Precisão Intermediária:	0,033					O DPRI tem que ser menor que a média aritmética dos limites
Amostras	B	C	D	E	F	
S(resultado - média) ²	0,000113	0,01428571	0,014286	0,00857	0,000143	
Média aritmética de todas as concentrações	10,220					
Média aritmética dos limites do critério	14					
Desvio Padrão Relativo Intermediário	0,3					
Conclusão	Atende ao critério de Precisão Intermediária .					

Incerteza

Para a estimativa da incerteza dos resultados dos ensaios, foi considerado que todos os componentes de incerteza que contribuem para a incerteza padrão combinada abrangidos por esta forma de validação, estão presentes no número de repetições das n observações independentes, executadas durante a validação do método. Desse modo, adotou-se a estimativa de incerteza do tipo A como forma de caracterizar a dispersão dos valores do mensurando, conforme Guia para a Expressão da Incerteza de Medição, 3ª edição, 2003, INMETRO.

A estimativa da incerteza foi obtida pelo conjunto de dados de amostras com adição de padrão (amostras B, C, D, E e F), conforme verifica-se na tabela 13.

a) Incerteza padrão

Foi calculado a incerteza padrão (u) através do desvio padrão agrupado das 7 replicatas de cada amostra e o desvio padrão médio, através da equação 13.

$$u = \frac{DPM}{\sqrt{7}} \quad \text{Equação (13)}$$

Onde:

DPM = Média aritmética dos desvios padrão das 5 amostras (B a F) cujas amostras são com efeito matriz

b) Incerteza expandida

Foi utilizada a tabela da distribuição de Student com $\nu = n - 1$ graus de liberdade e nível de confiança de 95% e calculado conforme equação 13. Obtidos na planilha conforme tabela 14.

$$U = t_{(n-1)} \cdot u \quad \text{Equação (13)}$$

Onde:

$t_{(n-1)} = 2,45$ para 6 grau de liberdade

Tabela 14: Cálculo da incerteza

Incerteza		A incerteza tem que ser menor que tolerância	
Incerteza Expandida U	0,0275	95% confiança, k=2	
Tolerância da incerteza	0,1600	Corresponde ao limite do padrão de trabalho	
Critério de aceitação	sim		
Conclusão	<i>Atende ao critério de Incerteza</i>		

Avaliação da validação do método

A metodologia atende todos os critérios de validação, portanto o método está adequado ao uso. A expressão do resultado, para este método será: (X,X ± 0,027) NTU

CONCLUSÃO

Verifica-se a viabilidade de aplicação da sistemática de validação e estimativa de incerteza, avaliando todos os parâmetros principais necessários para avaliação de método, com 49 ensaios e com auxílio de planilha excel. Assim todos os cálculos são efetuados de forma automática, agilizando e facilitando o trabalho do técnico de laboratório.

RECOMENDAÇÕES

Quando o critério não for atendido em algum dos parâmetro avaliados , antes de refazer os ensaios, as seguintes ações devem ser avaliados:

- Avaliar se houve erro de aplicação da instrução do método;
- Avaliar se houve erro na transcrição de dados;
- Avaliar se houve erro nos cálculos.

Caso haja problema em algum parâmetro de validação e, mesmo com todas ações de correção tomadas não atendeu ao critério de aceitação, o método pode ser aprovado com ressalva, sugerindo ações pertinentes de controle de qualidade. Para problemas com reprodutibilidade, sugere-se implantação do spike e repetitividade pode ser utilizado ensaios em duplicatas.

A estimativa de incerteza deve ser apresentada após cada resultado de ensaio, na mesma unidade de medida, precedida do sinal ±. Os valores numéricos do resultado e sua incerteza não devem ser dados com um número excessivo de dígitos. Quando a incerteza expandida *U* ou uma incerteza padrão *u* for dada, raramente é necessário mais que dois dígitos significativos para a incerteza. Os resultados devem ser arredondados para serem coerentes com a incerteza dada.

Normalmente adotam-se uma faixa de trabalho cujo valor central da curva, corresponda a 100 % do valor normalmente encontrado na rotina e o valor máximo da curva, 150% do valor central. Desta forma evita uma incerteza expandida superior ao Limite de Quantificação, pois, como esta metodologia de cálculo utiliza o cálculo da incerteza agrupada, um desvio padrão de uma concentração muito alta, aumentará significativamente a incerteza da metodologia avaliada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21 st, p.1.7, 2.8-2.11, Ed. Washington, 2005.
2. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos: **DOQ-CGCRE-008** rev.04. Rio de Janeiro, Jul/2011.
3. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO. Guia para a Expressão da incerteza de mediação. 3ª Ed, p.11, 63 e 68. Rio de Janeiro, Ago/2003.
4. GUIA EURACHEM. Determinando a Incerteza na Medição Analítica. 2ª Ed, p.43.

5. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). November 2005.