

Comentários e correções relativas as considerações do comitê técnico científico do congresso de Metrologia 2017

Considerações do comitê técnico científico	Comentários e correções
O texto do abstract está muito bom, entretanto na versão em inglês está mais claro que os dados obtidos na comparação interlaboratorial foram tratados por diversos métodos estatístico. A versão em português pode ser melhorada.	Texto foi alterado para condizer com o texto do abstract
Produção de Material de Referência Certificado A guia 34 já foi substituída pela NBR ABNT 17034, atualizar a referência e citação no texto e na apresentação.	Referências atualizadas
Não ficou claro como as amostras utilizadas para estudo de homogeneidade foram/serão utilizadas para os estudos de estabilidade. Descrever melhor.	Texto reescrito do modo a tornar mais compreensível o procedimento
Descrever os estudos de estabilidade (curta e longa duração), bem como o tratamento dado aos resultados	Essa etapa da produção ainda não foi finalizada, o teste de estabilidade deve ser finalizado apenas em Fevereiro. Deste modo escolheu-se por excluir a apresentação desta etapa do presente trabalho.
De acordo com a isso guia 35, mesmo não apresentando resultados satisfatórios para o teste de ANOVA os MR podem ser considerados homogêneos suficientes desde que a incerteza associada à homogeneidade seja adequada ao uso pretendido. Justificar a viabilidade do candidato a MR através da incerteza alvo é mais adequado.	Adicionado ao texto: “Para a produção de um material de referência a homogeneidade de um material é determinada através de seu uso pretendido, desse modo, dependendo de sua finalidade um MRC pode ter maior ou menor grau de heterogeneidade, além disso determinar a extensão dessa heterogeneidade é essencial, uma vez que ela deve ser incorporada na incerteza final de um MRC. ”
Os autores informam que removeram outliers e então recalcularam a mediana, este procedimento é inadequado, a remoção de outliers é prevista para populações consideradas normais, logo estima-se a tendência central com a média. Para populações que não se pode descartar a não-normalidade pode utilizar-se a mediana como indicador de tendência central e nesses casos não se procede a remoção de outliers uma vez que valores dispersos não a influenciam.	Apesar da remoção de outliers ser realizada quando se utilizando do cálculo da média, o objetivo nesta etapa do trabalho era avaliar a influência que os diferentes métodos utilizados sofrem na presença de outliers, para um determinado conjunto de dados. Deste modo, mostrar que mesmo métodos aceitos pela literatura (como a média) não devem ser utilizados sem o devido entendimento do conjunto de dados a ser tratado.

## **Avaliação interlaboratorial para caracterização de material de referência de fertilizante mineral**

**Toledo G T K**<sup>1,2</sup>, **Olivares I R B**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de química de São Carlos, Universidade de São Paulo (IQSC-USP);

<sup>2</sup>E-mail: guilherme.teruaki@gmail.com

**Resumo:** Os materiais de referência (MR) ou MRCs (material de referência certificado) são materiais conhecidos por serem suficientemente homogêneos e estáveis, que trazem em seus certificados os valores de suas propriedades e suas incertezas associadas garantindo sua rastreabilidade metrológica. Neste trabalho foi desenvolvido um MR de fertilizante mineral contendo os elementos: Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn, caracterizados através de um ensaio interlaboratorial realizado pelo Lanagro/SP (laboratório nacional agropecuário), os resultados obtidos foram avaliados utilizando-se diferentes técnicas estatísticas. Testes de homogeneidade do material também foram realizados, mostrando que o candidato a material de referência encontra-se homogêneo todos os analitos de interesse.

**Palavras-chave:** Material de referência certificado, ISO/IEC 17025, ISO Guia 35

**Abstract:** Reference material or certified reference material (RM or CRM respectively) are materials known for being sufficiently homogenous and stable, which bring in their certificates the values of their properties and their associated uncertainties, ensuring their metrological traceability. In this work, a mineral fertilizer RM was developed, containing the following elements Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb and Zn. Characterized by an interlaboratorial study carried out by the Lanagro/SP (National Agricultural and Livestock Laboratory) and the obtained results were evaluated by different statistical techniques. Tests of homogeneity of the material were also carried out, showing that the candidate of reference material is homogeneous for all analytes of interest.

**Keywords:** Certified Reference Material, ISO/IEC 17025, ISO Guide 35

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil é um dos países com as melhores condições para o setor agropecuário, seu clima diversificado, a grande incidência de energia solar e suas chuvas regulares facilitam a produção neste setor.

Segundo o ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA) o Brasil conta atualmente com aproximadamente 340 milhões de hectares (3.4 milhões de Km<sup>-2</sup>) de terra com ótimas condições de plantio. Com essas condições favoráveis, em 2014 o setor pecuário contribuiu com 21% do PIB (produto interno bruto) do país[1].

Acompanhando a demanda de produtos agropecuários os avanços científicos e tecnológicos modernizaram a indústria, possibilitando uma produção maior, mais eficiente e mais rápida de produtos agropecuários. Dentre os avanços destacam-se os fertilizantes, produto que se tornou fundamental, devido a sua aplicação como repositores de nutrientes essenciais às plantas que acabam se esgotando devido ao uso constante do solo.

Os principais componentes de interesse nos fertilizantes são dentre outros: B, Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, N, Ni P, S e Zn que são considerados micronutrientes nos fertilizantes minerais[2]. Além desses compostos, o monitoramento de Cd, Cr, Pb também são de interesse devido ao fato destes metais serem nocivos para a saúde humana, segundo a resolução do ministério da agricultura [3].

Para garantir a qualidade no monitoramento desses elementos é necessário a utilização de um sistema que permita avaliar se os resultados obtidos pelas análises dos fertilizantes pelos laboratórios são rastreáveis e confiáveis. Uma alternativa que tem crescido em popularidade é a utilização de um sistema de gestão de qualidade baseado nos requisitos da

norma ISO/IEC 17025:2005[4], que fornece ferramentas e procedimentos que permitem ao laboratório gerenciar e controlar todos os fatores que podem influenciar o resultado e a qualidade de suas análises.

A adesão a um sistema de qualidade não é obrigatória, porém para que laboratórios prestem serviços para órgãos do governo brasileiro, como por exemplo o MAPA, ANVISA (Agência nacional de vigilância sanitária), ANA (Agência Nacional de Águas), IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente), é necessária a acreditação na ISO/IEC 17025:2005.

Dentro das definições e requisitos da ISO/IEC 17025:2005 podemos destacar o controle de qualidade que define a necessidade do monitoramento contínuo dos métodos de análise bem como a qualidade dos resultados obtidos[5]. Um dos métodos de monitoramento sugeridos pela ISO é a utilização de materiais de referência ou materiais de referência certificados (MR ou MRC).

Os MR ou MRCs são materiais conhecidos por serem suficientemente homogêneos e estáveis, trazendo em seus certificados (no caso dos MRCs) os valores de suas propriedades e suas incertezas associadas, garantindo assim sua rastreabilidade metrológica[6, 7].

## 2. PRODUÇÃO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA CERTIFICADO

O material utilizado para a produção do MRC foi obtido e fornecido pelo laboratório nacional agropecuário de São Paulo (Lanagro/SP). A matriz fornecida é uma mistura de fertilizantes minerais coletados pelo serviço de fiscalização.

A produção do material de referência é realizado conforme as diretrizes dispostas pela

ABNT NBR ISO 17034 e ISO GUIA 35[6, 8], onde é possível destacar 3 etapas essenciais para o processo: a caracterização, a estabilidade e a homogeneidade

O estudo de homogeneidade foi realizado através da análise de ANOVA, segundo a ISO GUIA 35[8], Para este teste foram separados 10 frascos do material de referência recolhidos aleatoriamente dentre o lote do MR. Para cada frasco análises em duplicata foram realizadas para a avaliação da homogeneidade

Esses mesmos frascos serão utilizados para o estudo da estabilidade de longa duração, onde as amostras serão analisadas em datas pré-determinadas durante o período de 1 ano. Os resultados obtidos para o teste de homogeneidade foram utilizados como o primeiro ponto do teste de estabilidade.

A caracterização do material de referência foi realizada através de um interlaboratorial realizado pelo Lanagro/SP que teve participação de 13 laboratórios (laboratórios de fiscalização do governo e laboratórios convidados).

Os resultados obtidos foram avaliados segundo a ISO GUIA 35 assim como métodos estatísticos alternativos para comparação de resultado. Os métodos utilizados para o cálculo do valor médio foram: média, mediana e média aparada, seguido da análise de outlier através dos testes de Grubbs[9] e Dixon[10], sendo a variação interna dos resultados avaliadas através de desvio padrão e range interquartilico[11].

### 3. RESULTADOS

Os resultados obtidos para a homogeneidade foram avaliados segundo os critérios definidos na ANOVA, o fator F para cada analito é apresentado na tabela 1.

Tabela 1 Resultado do teste de ANOVA para a homogeneidade do material de referência. E valor de variação percentual para as amostras.

Analito	Fator F	F Crítico	Resultado	%
<b>Chumbo</b>	0,6	3,0204	Homogêneo	2,4
<b>Cromo</b>	0,4	3,0204	Homogêneo	4,2
<b>Cobre</b>	1,6	3,0204	Homogêneo	2,3
<b>Zinco</b>	3,4	3,0204	Não homogêneo	1,3
<b>Ferro</b>	0,9	3,0204	Homogêneo	2,5
<b>Mangânês</b>	0,8	3,0204	Homogêneo	3,4
<b>Cálcio</b>	1,0	3,0204	Homogêneo	0,7

A avaliação da homogeneidade mostrou que apenas para o zinco foi observada uma homogeneidade insuficiente pelo teste de ANOVA, porém se observarmos os valores de variabilidade em porcentagem para o teste de homogeneidade observa-se que a variação para o zinco é de apenas 1.3%. O motivo que pode levar ao zinco ser reprovado pelo teste de ANOVA é que esse método avalia a variação entre os frascos (homogeneidade) comparada com a variação dentro do frasco (repetibilidade), quanto temos um método com uma repetibilidade alta, poucas variações na homogeneidade fazem com que o teste de ANOVA acuse o material como não homogêneo.

Para a produção de um material de referência a homogeneidade de um material é determinada através de seu uso pretendido, desse modo, dependendo de sua finalidade um MRC pode ter maior ou menor grau de heterogeneidade, além disso determinar a extensão dessa heterogeneidade é essencial, uma vez que ela deve ser incorporada na incerteza final de um MRC.

Tabela 2 Valores de valor predito para o resultado do Interlaboratorial calculado de quatro maneiras distintas, média,

mediana e média aparada. A não ser que especificados, os resultados são apresentados em %.

Analito	Média	Mediana	Média Aparada	Outlier
<b>Chumbo mg/Kg</b>	144,5	152,1	147,0	Não
<b>Cromo mg/Kg</b>	73,2 (79,7)	76,9 (79,1)	76,5 (76,5)	Sim
<b>Cobre</b>	0,115	0,118	0,116	Não
<b>Zinco</b>	0,595	0,607	0,600	Não
<b>Ferro</b>	0,95	0,96	0,96	Não
<b>Manganês</b>	0,271	0,274	0,272	Não
<b>Cálcio</b>	9,22	9,16	9,24	Não
<b>Níquel mg/Kg</b>	0,0064	0,0066	0,0065	Não
<b>Molibdênio</b>	0,207	0,207	0,205	Não
<b>Magnésio</b>	2,29 (2,24)	2,28 (2,26)	2,26 (2,26)	Sim
<b>Cobalto</b>	0,040	0,041	0,040	Não
<b>Cádmio mg/Kg</b>	8,00	8,03	7,77	Não

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

Os resultados obtidos no ensaio interlaboratorial para a caracterização do material de referência são apresentados na tabela 2.

Apesar ser solicitado aos laboratórios de análise em sextuplicata de 8 analitos, ao final do interlaboratorial os participantes forneceram os resultados para 12 analitos diferentes, como foi fornecido resultados adicionais, para esses metais não foi realizado o estudo de homogeneidade, porém o grau de heterogeneidade desses compostos serão avaliados posteriormente através dos próprios resultados do interlaboratorial. Dos resultados fornecidos, apenas para o cromo e o magnésio foi observada a presença de um (1) outlier, que foi então removido do conjunto de dados.

Observa-se que o valor médio calculado pelas diferentes técnicas apresentam valores que,

apesar de próximos, diferem uns dos outros. Observa-se que nas amostras onde há presença de outlier, o valor obtido através do cálculo de média apresenta maior variação entre o resultado antes e depois da remoção do outlier. Apesar do resultado da mediana também sofrer alteração ela se mostra mais robusta a presença de valores aberrantes no conjunto de dados.

Já para os valores utilizando o cálculo por média aparada, devido ao fato da metodologia remover ambos os valores extremos (superiores e inferiores) há uma tendência a se subestimar o valor do desvio padrão, apresentado na tabela 3.

Tabela 3 Desvio padrão para os 12 analitos, calculados utilizando os diferentes métodos de análise de valor médio. A não ser que especificados, os resultados são apresentados em %.

Analito	Média	Mediana	Média Aparada	Range interquartil
<b>Chumbo mg/Kg</b>	25,13	26,36	19,33	29,15
<b>Cromo mg/Kg</b>	15,22	14,97	10,47	23,57
<b>Cobre</b>	0,012	0,012	0,008	0,011
<b>Zinco</b>	0,07	0,07	0,05	0,10
<b>Ferro</b>	0,075	0,076	0,053	0,083
<b>Manganês</b>	0,027	0,027	0,022	0,038
<b>Cálcio</b>	0,711	0,714	0,497	0,713
<b>Níquel mg/Kg</b>	0,002	0,002	0,001	0,003
<b>Molibdênio</b>	0,018	0,018	0,010	0,020
<b>Magnésio</b>	0,16	0,15	0,12	0,17
<b>Cobalto</b>	0,005	0,005	0,004	0,006
<b>Cádmio mg/Kg</b>	1,82	1,82	1,24	2,17

No cálculo do desvio padrão percebe-se que a utilização do valor de média ou mediana não diferem em grande escala entre si, porém isso só é observado uma vez que a ausência de outliers é confirmada.

O range interquartil ao contrário do desvio padrão calculado através da média aparada tende a superestimar o valor da variação dos resultados.

Com base nestas avaliações e considerando os objetivos deste trabalho, foi

adotado o cálculo por mediana para a obtenção do valor predito, uma vez que esse é o método sugerido pelas normas, além dele apresentar maior robustez para a presença de outliers quando comparado com a média.

#### 4. CONCLUSÃO

Foi possível através do interlaboratorial realizado pelo Lanagro/SP caracterizar o candidato a material de referência de fertilizante mineral utilizando-se de técnicas estatísticas como média, mediana, média aparada, desvio padrão e range interquartilico.

Observou-se que os métodos de tratamento de dados utilizados, apesar de serem amplamente conhecidos e utilizados apresentam resultados diferentes para um mesmo conjunto de dados, portanto é importante que antes da utilização dessas metodologias a natureza do conjunto de dados seja conhecida, uma vez que, se utilizadas erroneamente podem apresentar uma avaliação que não condiz com a realidade, sendo o método da mediana considerado mais adequado para este MR.

A avaliação da homogeneidade apresentou-se satisfatória para todos os analitos, sendo o zinco o único a apresentar uma heterogeneidade insuficiente segundo o teste de ANOVA, mas o grau de heterogeneidade avaliado foi apenas de 1.3%. Portanto podemos considerar que o zinco possui um grau de heterogeneidade baixo, e podemos atribuir seu resultado de ANOVA a grande repetibilidade do método analítico.

#### Agradecimentos.

A realização desse projeto só se tornou possível devido a parceria obtida com o LANAGRO/SP, portanto agradecemos

imensamente a eles e principalmente a Flavia Consolini pelo apoio.

Agradecemos também ao IQSC e a CAPES pelo fomento fornecido através de bolsa de estudo.

#### Referências

1. Peduzzi P. Participação da agropecuária no PIB sobe para 23% em 2015 Agência Brasil2015. Available from: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2015-12/participacao-da-agropecuaria-no- PIB-sobe-para-23-em-2015>.
2. Instrução Normativa SDA/MAPA 25, 25 (2009).
3. Instrução Normativa SDA/MAPA 27, 27 (2006).
4. ISO IOFs. ISO/IEC 17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. In: Standardization IOF, editor.: ABNT; 2005.
5. Olivares IRB, Lopes FA. Essential steps to providing reliable results using the Analytical Quality Assurance Cycle. Trends in Analytical Chemistry. 2012;35:109-21.
6. ABNT NBR ISO 17034 Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência, ABNT NBR ISO 17034 (2017).
7. Inmetro. Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM 2012). 1 ed. Duque de Caxias, RJ: INMETRO; 2012. p. 95.
8. ABNT. ABNT ISO GUIA 35 Material de referência - Princípios gerais e estatísticos para certificação. ABNT; 2012.
9. Grubbs FE. Sample Criteria for Testing Outlying Observations. 1950:27-58.
10. Dean RB, Dixon WJ. Simplified Statistics for Small Numbers of Observations. Anal Chem. 1951;23(4):636-8.
11. Higgins J, Green S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions. John Wiley & Sons Ltd2008.