

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CERTIFICAÇÃO DE
MATERIAL DE REFERÊNCIA DE PILHAS ALCALINAS**

Doutoranda: Alexandra Janine Schuh

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dirce Pozebon

Porto Alegre, setembro de 2021.

Sumário

Sumário	2
LISTA DAS FIGURAS	5
LISTA DAS TABELAS.....	9
LISTA DAS ABREVIACÕES.....	12
RESUMO	13
1. Introdução.....	15
2. Revisão Bibliográfica	16
2.1. Pilhas para produção de material de referência	21
2.1.1. Aspectos gerais	21
2.1.2. Pilhas Alcalinas	24
2.2. Produção do material	25
2.3. Caracterização do material.....	26
2.4. Validação de um método analítico.....	28
2.4.1. Seletividade e sensibilidade.....	30
2.4.2. Linearidade e faixa de trabalho	31
2.4.3. Limite de detecção (LD)	32
2.4.4. Limite de quantificação (LQ)	33
2.4.5. Exatidão	34
2.4.6. Precisão.....	36
2.5. Avaliação da homogeneidade	40
2.6. Avaliação da estabilidade	43
2.6.1. Avaliação da incerteza da estabilidade na ausência de tendência	46
2.7. Atribuição de valores de propriedade	47
2.7.1. Incerteza de medição	49
2.7.2. Certificado do MRC	52
3. Objetivos	53
4. Parte Experimental	53
4.1. Preparação dos materiais candidatos a MRC	53

4.1.1.	Seleção do material.....	54
4.1.2.	Preparação dos materiais	55
4.1.3.	Caracterização dos materiais	56
4.1.4.	Verificação das condições ambientais.....	57
4.1.5.	Envasilhamento	58
4.1.6.	Determinação da umidade residual.....	59
4.2.	Determinação dos elementos alvo por ICP OES	59
4.2.1.	Padrões e reagentes.....	59
4.2.2.	Decomposição das amostras dos materiais preparados	60
4.2.3.	Calibração	61
4.2.4.	Análise por ICP OES	61
4.3.	Avaliação/estimativa da homogeneidade do material.....	63
4.3.1.	Estimativa da massa mínima do material a ser utilizado na análise.....	63
4.4.	Avaliação da estabilidade do lote	63
4.5.	Atribuição do valor de propriedade	64
4.6.	Ensaio de proficiência	64
4.6.1.	Avaliação de desempenho dos laboratórios.....	65
4.7.	Cálculo de incerteza	65
4.7.1.	Quantificação das fontes de incerteza	67
5.	Resultados e Discussões.....	73
5.1.	Caracterização do material.....	73
5.1.1.	Umidade residual.....	78
5.2.	Validação do método	82
5.2.1.	Seletividade e sensibilidade.....	83
5.2.2.	Linearidade e faixa de trabalho	85
5.2.3.	Limite de detecção e quantificação	89
5.2.4.	Exatidão	89
5.2.5.	Precisão.....	90
5.3.	Homogeneidade dos materiais	91

5.3.1. Determinação da massa mínima a ser utilizada na análise.....	103
5.4. Estabilidade dos materiais.....	108
5.4.1. Estabilidade a curto prazo.....	108
5.4.2. Estabilidade a longo prazo.....	112
5.5. Atribuição dos valores de propriedade	117
5.6. Incertezas combinadas	118
5.7. Comparação interlaboratorial.....	121
6. Conclusões	123
7. Referências bibliográficas	124

LISTA DAS FIGURAS

Figura 1. Custos da importação de pilhas pelo Brasil nos últimos 10 anos. ²⁰	21
Figura 2. Variação da produção de pilhas, baterias e acumuladores elétricos no período entre 2012 e 2020 no Brasil. ²¹	22
Figura 3. Representação de uma pilha alcalina com corte transversal.....	24
Figura 4. Distribuição mássica de componentes numa pilha alcalina. ¹⁸	25
Figura 5. Representação de uma tocha onde o ICP de argônio é gerado e mantido. H representa o campo magnético induzido e I a bobina de indução.	27
Figura 6. Detalhamento do sistema de introdução de amostra no ICP mediante nebulização pneumática. O transporte da solução que passa pelo nebulizador é feito mediante uma bomba peristáltica.	28
Figura 7. “Viés” total, que consiste em “viés” de método e viés de laboratório.....	36
Figura 8. Arranjo dos frascos com amostras do material para avaliação da homogeneidade. DF: dentro do frasco e EF: entre os frascos.	42
Figura 9. Avaliação da homogeneidade do material candidato num frasco.....	43
Figura 10. Etapas envolvidas na avaliação da incerteza de medição.	51
Figura 11. Etapas de produção dos MRCs, tendo como referencias as normas ABNT NBR ISO 17034, ¹ ISO GUIA 30 ⁵⁸ e ISO GUIA 35. ⁵²	54
Figura 12. Detalhamento das amostras representativas do cátodo e ânodo de pilhas alcalinas.	55
Figura 13. Fluxograma das etapas da preparação do material correspondente ao cátodo e ânodo de pilhas alcalinas (amostras B e D).	56
Figura 14. Lote de frascos com a amostra D (cátodo de pilha alcalina).	58
Figura 15. Frasco contendo a amostra C (MnO ₂ comercial).....	59
Figura 16. Sequência das etapas de preparação das amostras para obtenção das respectivas soluções.	61
Figura 17. Diagrama de causa e efeito da incerteza para o MRC (<i>UMRC</i>) produzido. ^{14,25,52,57} U _{car} : incerteza expandida da caracterização; U _{sts} : incerteza expandida provinda da estabilidade a curto prazo; U _{bb} : incerteza expandida provinda da homogeneidade e U _{lts} : incerteza expandida provinda da estabilidade a longo prazo.	66
Figura 18. Diagrama de causa e efeito na incerteza de medição segundo o método utilizado no presente trabalho. As incertezas individuais estão definidas nas equações 28, 31, 33 e 35.....	66
Figura 19. Distribuição do tamanho das partículas na amostra A (Zn em pó comercial).	73

Figura 20. Distribuição do tamanho das partículas na amostra C (MnO ₂ comercial).....	74
Figura 21. Distribuição do tamanho das partículas na amostra B (ânodo de pilhas alcalinas).74	
Figura 22. Distribuição do tamanho das partículas na amostra D (cátodo de pilhas alcalinas).	75
Figura 23. Termograma da mostra A (Zn em pó, comercial) obtido por DSC.	75
Figura 24. Termograma da mostra B (ânodo de pilhas alcalinas) obtido por DSC.	76
Figura 25. Sobreposição dos termogramas referentes às amostras A e B obtidos por DSC....	76
Figura 26. Termograma da amostra C (MnO ₂ , comercial) obtido por DSC.	77
Figura 27. Termograma da amostra D (cátodo de pilhas alcalinas) obtido por DSC.	78
Figura 28. Sobreposição dos termogramas referentes às amostras C e D obtidos por DSC....	78
Figura 29. Termograma do material correspondente à amostra A (Zn em pó, comercial) obtido por TGA.	79
Figura 30. Termograma do material correspondente à amostra B (ânodo de pilhas alcalinas) obtido por TGA.	80
Figura 31. Termograma do material correspondente à amostra C (MnO ₂ comercial) obtido por TGA.....	81
Figura 32. Termograma do material correspondente à amostra D (cátodo de MnO ₂ em pilhas alcalinas) obtido por TGA.....	81
Figura 33. Sobreposição dos termogramas referentes às amostras C e D obtidos por TGA. ..	82
Figura 34. Curvas de calibração de cádmio.	83
Figura 35. Curvas de calibração de chumbo.	84
Figura 36. Curvas de calibração de mercúrio.....	84
Figura 37. Resultado do teste de Grubbs na avaliação da presença de <i>outliers</i> entre os valores das medidas para cada nível de concentração da curva de calibração de cádmio.....	86
Figura 38. Resultado do teste de Grubbs na avaliação da presença de <i>outliers</i> entre os valores das medidas para cada nível de concentração da curva de calibração de chumbo.....	87
Figura 39. Resultado do teste de Grubs na avaliação da presença de <i>outliers</i> entre os valores das medidas para cada nível de concentração da curva de calibração de mercúrio.	87
Figura 40. Perfil dos resíduos para a curva de calibração de cádmio.	88
Figura 41. Perfil dos resíduos para a curva de calibração de chumbo.	88
Figura 42. Perfil dos resíduos para a curva de calibração de mercúrio.....	89
Figura 43. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para chumbo na amostra A (Zn em pó).....	96

Figura 44. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Pb na amostra B (ânodo de pilha alcalina).	96
Figura 45. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Pb na amostra C (MnO ₂ , comercial).	97
Figura 46. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Pb na amostra D (cátodo de pilha alcalina).	97
Figura 47. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Cd na amostra A (Zn em pó).	98
Figura 48. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Cd na amostra B (ânodo de pilha alcalina).	98
Figura 49. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Cd na amostra C (MnO ₂ comercial).	99
Figura 50. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Cd na amostra D (cátodo de pilha alcalina).	99
Figura 51. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Hg na amostra A (Zn em pó).	100
Figura 52. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Hg na amostra B (ânodo de pilha alcalina).	100
Figura 53. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Hg na amostra C (MnO ₂ comercial).	101
Figura 54. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Hg na amostra D (cátodo de pilha alcalina).	101
Figura 55. Influência da massa do material candidato correspondente à amostra A (Zn em pó) na determinação de chumbo (a), Cd (b) e Hg (c). Cada ponto corresponde à média e ao desvio padrão dos resultados obtidos numa análise em triplicata.	104
Figura 56. Influência da massa do material candidato correspondente à amostra B (ânodo de pilha alcalina) na determinação de chumbo (a), Cd (b) e Hg (c). Cada ponto corresponde à média e ao desvio padrão dos resultados obtidos numa análise em triplicata.	105
Figura 57. Influência da massa do material candidato correspondente à amostra C (MnO ₂ comercial) na determinação de chumbo (a), Cd (b) e Hg (c). Cada ponto corresponde à média e ao desvio padrão dos resultados obtido para numa análise em triplicata.	106

Figura 58. Influência da massa do material candidato correspondente à amostra D (cátodo de pilha alcalina) na determinação de Pb (a), Cd (b) e Hg (c). Cada ponto corresponde à média e ao desvio padrão dos resultados obtidos numa análise em triplicata.	107
Figura 59. Influência da temperatura e umidade relativa (u.r.) na concentração de chumbo avaliada no teste de estabilidade a curto prazo dos materiais.	109
Figura 60. Influência da temperatura e umidade relativa (u.r.) na concentração de cádmio avaliada no teste de estabilidade a curto prazo dos materiais.	110
Figura 61. Influência da temperatura e umidade relativa (u.r.) na concentração de mercúrio avaliada no teste de estabilidade a curto prazo dos materiais.	111
Figura 62. Influência do tempo na concentração de chumbo avaliada no teste de estabilidade a longo prazo dos materiais.....	113
Figura 63. Influência do tempo na concentração de cádmio avaliada no teste de estabilidade dos materiais a longo prazo.	114
Figura 64. Influência do tempo na concentração de mercúrio avaliada no teste de estabilidade dos materiais a longo prazo.	115
Figura 65. Principais fontes de contribuição da incerteza do valor da concentração atribuída ao Pb. μ_{car} : incerteza na caracterização; μ_{bb} : incerteza da homogeneidade; μ_{lts} : incerteza da estabilidade a longo prazo. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO ₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.	119
Figura 66. Principais fontes de contribuição da incerteza do valor da concentração atribuída ao Cd. μ_{car} : incerteza na caracterização; μ_{bb} : incerteza da homogeneidade; μ_{lts} : incerteza da estabilidade a longo prazo. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO ₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.	120
Figura 67 Principais fontes de contribuição da incerteza do valor da concentração atribuída ao Hg. μ_{car} : incerteza na caracterização; μ_{bb} : incerteza da homogeneidade; μ_{lts} : incerteza da estabilidade a longo prazo. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO ₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.	121

LISTA DAS TABELAS

Tabela 1. Produtores de materiais de referência certificados (MRCs) no Brasil.	19
Tabela 2. Critérios recomendados pela AOAC para aceitação da recuperação do analito adicionado à amostra.	35
Tabela 3. Critérios para aceitação da repetibilidade recomendados pela AOAC.	38
Tabela 4. Critérios para aceitação da reprodutibilidade recomendados pela AOAC.	39
Tabela 5. Quantidade de cada sal adicionado às amostras dos materiais candidatos (vide a Figura 12).	57
Tabela 6. Programa do forno micro-ondas utilizado para decomposição das amostras dos materiais.	60
Tabela 7. Parâmetros instrumentais e condições de operação do instrumento de ICP OES.	62
Tabela 8. Umidade residual nos materiais produzidos.	82
Tabela 9. Coeficiente angular das curvas de calibração e resultados da ANOVA.	85
Tabela 10. Valores de $F_{\text{calculado}}$ na comparação da variância por nível de concentração; 8 graus de liberdade (n-2) e nível de confiança de 95,45%; $F_{\text{crítico}} = 6,76$	85
Tabela 11. Parâmetros das curvas de calibração obtidas a partir de soluções de calibração preparadas em HNO_3 5% v/v.	86
Tabela 12. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método.	89
Tabela 13. Erro normalizado e recuperação do analito, os quais foram calculados a partir das equações 27 e 8, respectivamente.	90
Tabela 14. Coeficiente de variação (CV) das medidas para cada ponto das curvas de calibração e amostras “cegas”.	90
Tabela 15. Concentrações (em mg L^{-1}) encontradas por analistas distintos e ANOVA dos resultados. $F_{\text{crítico}}: 7,708$	91
Tabela 16. Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (em mg kg^{-1}) encontradas no material correspondente à amostra A (Zn em pó, comercial) na avaliação da homogeneidade; n = 3 ..	92
Tabela 17. Resultados da ANOVA de fator único na avaliação da homogeneidade do material correspondente à amostra A (Zn em pó, comercial).	92
Tabela 18. Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (em mg kg^{-1}) encontradas no material correspondente à amostra B (ânodo de pilha alcalina) na avaliação da homogeneidade.	93
Tabela 19. Resultados da ANOVA de fator único na avaliação da homogeneidade do material correspondente à amostra B (ânodo de pilha alcalina).	93

Tabela 20. Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (em mg kg ⁻¹) encontradas no material correspondente à amostra C (MnO ₂ , comercial) na avaliação da homogeneidade.	94
Tabela 21. Resultados da ANOVA de fator único na avaliação da homogeneidade do material correspondente à amostra C (MnO ₂ , comercial).	94
Tabela 22. Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (em mg kg ⁻¹) encontradas no material correspondente à amostra D (cátodo de pilha alcalina) na avaliação da homogeneidade.....	95
Tabela 23. Resultados da ANOVA de fator único na avaliação da homogeneidade do material correspondente à amostra D (cátodo de pilha alcalina).....	95
Tabela 24. Média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das concentrações dos elementos nas amostras no estudo de homogeneidade; n = 30. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO ₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.	102
Tabela 25. Incerteza padrão e desvio padrão da repetitividade, em mg kg ⁻¹ , calculados no estudo da homogeneidade dos materiais candidatos. Com exceção do Hg na amostra C e Cd na amostra D, $\mu_{bb} = S_{bb}$, sendo s_{bb} o desvio padrão entre os frascos. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO ₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.	102
Tabela 26. Resultados da ANOVA dos dados obtidos na avaliação da massa mínima de amostra necessária na determinação dos três elementos; 11 graus de liberdade (n-1) e nível de confiança de 95,45%; $F_{\text{crítico}} = 4,07$	108
Tabela 27. Inclinação da reta (b1), incerteza associada (s(b ₁)) e incerteza padrão devido à estabilidade a longo prazo (μlts); $t_{\text{crit}} = 2,65$, para 5 graus de liberdade (n-2; 7 pontos de tempo) e nível de confiança de 95,45%. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO ₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.	116
Tabela 28. Valores da concentração mediana encontrados nos testes de homogeneidade dos materiais, desvio padrão percentual e incerteza expandida da caracterização (<i>Ucar</i>). Zn em pó comercial: amostra A; ânodo de pilha alcalina: amostra B; MnO ₂ comercial: amostra C; cátodo de pilha alcalina: amostra D.	117
Tabela 29. Incerteza expandida da fração mássica dos elementos nos materiais; k = 2, ao nível de confiança de 95,45%. Zn comercial: amostra A; ânodo de pilha alcalina: amostra B; MnO ₂ comercial: amostra C; cátodo de pilha alcalina: amostra D.	118
Tabela 30. Erro normalizado em módulo ($ En $) para Pb nos materiais candidatos, segundo os laboratórios participantes. A: Zn comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO ₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.	122

Tabela 31. Erro normalizado em módulo ($|En|$) para Cd nos materiais candidatos, segundo os laboratórios participantes. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO_2 comercial; D: cátodo de pilha alcalina. 122

LISTA DAS ABREVIACÕES

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas;

ANOVA: análise de variância;

AOAC: *Association of Official Agricultural Chemists*;

CGCRE: Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro;

COMAR: *Code d'Indexation des Matériaux de Référence*;

CV: coeficiente de variação;

DF: dentro de frascos;

DOQ-CGCRE: Documento da Qualidade da Coordenação Geral de Acreditação;

DPR: desvio padrão relativo;

DSC: calorimetria diferencial exploratória;

EF: entre frascos;

IARC: Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer;

ICH: *International Council for Harmonisation*;

ICP OES: espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado;

IEC: *International Electrotechnical Commission*;

ILAC: *International Laboratory Accreditation Cooperation*;

ISO: *International Organization for Standardization*;

IUPAC: *International Union of Pure and Applied Chemistry*;

LD: limite de detecção;

LQ: limite de quantificação;

LQs: limites de quantificação;

MR: material de referência;

MRC: material de referência certificado;

NCM: Nomenclatura Comum do Mercosul;

RBC: rede brasileira de calibração;

REMCO: *Committee on Reference Materials*;

TGA: termogravimetria;

VIM: Vocabulário Internacional de Metrologia;

u.r.: umidade relativa do ar

RESUMO

A produção de materiais de referência certificados (MRCs) é restrita no Brasil, principalmente para elementos traço em matrizes complexas, como é o caso de pilhas alcalinas. O tema da presente tese é a produção de MRCs de cátodo e ânodo de pilha alcalina, com respeito às concentrações de chumbo, cádmio e mercúrio. Quatro materiais candidatos foram preparados, dois simulando o cátodo e o ânodo de pilhas alcalinas e outros dois obtidos a partir do ânodo e cátodo de pilhas alcalinas comercializadas no Brasil. Os materiais candidatos foram avaliados por meio da calorimetria diferencial exploratória (DSC) e termogravimetria (TGA), quanto a potenciais riscos devidos a reações ocasionadas por ação da temperatura, sendo que nenhum risco foi detectado. Também foram caracterizados quanto à homogeneidade, distribuição do tamanho das partículas e estabilidade a curto e longo prazos. Foi observado que todas as partículas dos materiais eram $< 0,5$ mm e estes mostraram-se estáveis e homogêneos. Foi realizada a quantificação de três elementos alvo (Pb, Cd e Hg) por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), sendo feita validação da metodologia para tal finalidade. Para verificar a homogeneidade quanto às concentrações dos elementos alvo, foi ainda investigada a massa mínima de material a ser utilizada na análise. Foi observado que os quatro materiais produzidos atendem ao requisito de homogeneidade em relação às concentrações de chumbo, cádmio e mercúrio entre os frascos (EF) e dentro dos frascos (DF), considerando-se massa mínima de 250 mg de material. Os materiais também se mostraram estáveis a 40 °C e umidade relativa de 80% por um período de 24 meses. Na atribuição dos valores das concentrações de chumbo, cádmio e mercúrio e nos cálculos de incerteza para cada um dos elementos nos quatro materiais, as incertezas encontradas foram da mesma ordem de grandeza daquelas relatadas para MRCs sólidos. Amostras dos quatro materiais foram analisados por três laboratórios parceiros acreditados à norma NBR ISO/IEC 17025 e, excluindo-se um *outlier* (Pb em zinco em pó), as concentrações dos três elementos alvo encontradas pelos laboratórios estavam dentro da faixa esperada de concentração, evidenciando a reprodutibilidade dos valores de concentração atribuídos. Assim, conclui-se que os materiais produzidos atendem aos requisitos de qualidade nacionais e internacionais e, portanto, os quatro materiais são passíveis de certificação.

Palavras-chave: material de referência certificado; pilhas alcalinas; produção e caracterização; validação de metodologia; ICP OES; Pb, Cd e Hg

ABSTRACT

Certified reference materials (CRMs) production is restricted in Brazil, mainly for trace elements in complex matrices, such as alkaline cells. The theme of this thesis was the production of CRMs of anode and cathode of alkaline cells, with respect to Pb, Cd and Hg concentrations. Four candidate materials were prepared, two simulating the cathode and anode of alkaline cells and two others obtained from the anode and cathode of alkaline cells commercialized in Brazil. The candidate materials were evaluated by differential exploratory calorimetry (DSC) and thermogravimetry (TGA) regarding potential risks due to reactions caused by temperature action, and any risk was not detected. They were also characterized with respect to homogeneity, particles size distribution, and stability in short and long terms. All particles were < 0.5 mm, and the materials were stable and homogeneous, ensuring similar properties of them. Three target elements (Pb, Cd and Hg) were quantified by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES), whereas a methodology has been validated for this purpose. The minimum amount of material to be used in the analysis was also investigated to verify the homogeneity regarding the target elements concentrations. It was observed that the four materials produced meet the homogeneity requirement within the flasks and inside the flasks, considering that at least 250 mg of material is used in the analysis. The materials were also stable at 40 °C and 80% relative humidity for a period of 24 months. In the assignment of Pb, Cd and Hg concentration values and in the uncertainty calculations for each of the elements in the four materials, the uncertainties found were of the same order of magnitude of those reported for solid CRMs. The four materials were analysed by three partner laboratories accredited to the NBR ISO/IEC 17025 standard. Excluding an outlier (Pb in powdered zinc), the concentrations of the three target elements found by the laboratories were within the expected concentration range, evidencing the reproducibility of the assigned concentration values. Thus, it was concluded that the materials produced meet the national and international quality requirements and, therefore, the four materials are subject to certification.

Keywords: certified reference material; alkaline batteries; production and characterization; method validation; ICP OES; Pb, Cd and Hg

1. Introdução

Devido à necessidade de fornecer resultados confiáveis e rastreáveis, os laboratórios de análises e ensaios tem buscado sua certificação. Na área de análises químicas, materiais de referência certificados (MRCs) são utilizados para a rastreabilidade e confiabilidade dos resultados, sendo que os produtores de MRCs também precisam ser certificados, gerando uma cadeia interrompida de rastreabilidade junto ao Sistema Internacional de Unidades (SI). No Brasil existem 10 laboratórios acreditados à ABNT NBR ISO 17034,¹ para a produção de MRCs.

Existem mais de 10.000 materiais de referência disponíveis a nível mundial, segundo o banco de dados Code d'Indexation des Matériaux de Référence (COMAR)², um banco de dados francês criado nos anos 70 e que foi apresentado ao Comitê de Materiais de Referência da ISO (ISO/REMCO), o qual incentivou o uso do banco de dados francês como base para um sistema internacional de informações sobre MRCs.² Ainda assim, não há MRCs suficientes para atender a demanda mundial, ainda mais se considerarmos as peculiaridades da matriz para cada tipo de material analisado.

Este trabalho de tese teve o intuito de preparar quatro MRCs a partir de: 1) óxido de zinco em pó de grau p.a (para análise) comercial; 2) cátodo de pilhas alcalinas comercializadas; 3) dióxido de manganês (MnO_2) de grau p.a comercial e 4) ânodo de pilhas alcalinas comercializadas. Foram atribuídas as concentrações de mercúrio, chumbo e cádmio nos materiais preparados, de acordo com a ABNT NBR ISO 17034.¹ Os MRCs produzidos poderão ser utilizados como referência em laboratórios de análise química e em ensaios de proficiência.

2. Revisão Bibliográfica

A qualidade pode ser definida como a totalidade de requisitos e características de um produto ou serviço, quanto a sua capacidade de satisfazer necessidades explícitas ou implícitas sem prejuízo ao homem e ao meio ambiente.^{3,4} Podemos evidenciar a qualidade de um laboratório de análises e ensaios quando as atividades técnicas e administrativas são organizadas e planejadas.^{4,5}

O controle de qualidade em laboratórios de análises e ensaios é essencial para a obtenção de resultados precisos e confiáveis, pois resultados não fidedignos podem gerar perdas irreparáveis.⁵

Os laboratórios buscam excelência, credibilidade e capacitação para executar análises com resultados confiáveis, promovendo melhorias no sistema de gestão e na padronização de métodos. Assim, muitos laboratórios realizam a acreditação junto ao Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO), seguindo a norma ABNT NBR ISO/IEC 17025,⁶ que é um reconhecimento formal da competência técnica do laboratório para a realização de análises, ensaios e/ou calibrações.^{6,7} Esta norma descreve os requisitos mínimos que o laboratório deve atender para demonstrar sua competência e garantir resultados rastreáveis, exatos e precisos.^{6,7}

A acreditação a um sistema de reconhecimento internacional facilita o comércio, identifica centros de competência e atua no desenvolvimento tecnológico.^{5,6} Promove melhorias no planejamento, organização, registro de dados e na documentação de procedimentos utilizados, desde a amostragem até a liberação de resultados.⁷

O controle da qualidade de um laboratório deve contemplar a rastreabilidade de medições, validação de métodos, garantias internas e participação em programas de proficiência.⁶

Segundo o Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM),⁸ a rastreabilidade é definida 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”*.^{1,6,8-10} A rastreabilidade metrológica é um aspecto fundamental para a comparabilidade de resultados de análises.

Qualquer medição deve seguir elementos de referência para assegurar a rastreabilidade das grandezas básicas relevantes.¹¹ Resultados não confiáveis trazem riscos de decisões incorretas e podem acarretar custos elevados, além de riscos à saúde e ao meio ambiente.¹⁰ Uma

das formas de promover a rastreabilidade das medições, validar métodos de análise, realizar garantias internas e desenvolver programas de proficiência é a análise de MRCs e/ou materiais de referência (MRs).^{1,9-13}

Segundo a norma ABNT NBR ISO/IEC 17025,⁶ item 6.5.2.b, o laboratório deve assegurar a rastreabilidade metrológica ao Sistema Internacional (SI) por meio de MRCs produzidos por produtores competentes. A mesma norma indica que é considerado um produtor competente de material de referência aquele que atende aos requisitos da mesma.^{1,6}

A norma ABNT NBR ISO 17034¹ define MRC como: “*material de referência caracterizado por um procedimento metrologicamente válido para uma ou mais propriedades específicas, acompanhado por um certificado que fornece o valor da propriedade especificada, sua incerteza associada e uma declaração de rastreabilidade metrológica*”.¹ Esta norma define MR como: “*material suficientemente homogêneo e estável com respeito a uma ou mais propriedades especificadas, que foi estabelecido como adequado para seu uso pretendido em um processo de medição*”.¹

Materiais de referência e MRCs são ferramentas que visam garantir a qualidade e a confiabilidade de medições e são usados para fins de validação de métodos, calibração, estimativa da incerteza de medição, treinamento, controle de qualidade interno e em ensaios de proficiência.^{9,11-14}

Em análises químicas instrumentais, na etapa de calibração de um instrumento, cuja calibração requer periodicidade diária, semanal, quinzenal ou mensal, há a necessidade de declaração da rastreabilidade metrológica e, assim, deve-se utilizar um MRC.^{13,15} A calibração com MRC é uma etapa essencial e indissociável do próprio método de análise e a competência do laboratório para realizar a calibração é avaliada pela Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro (CGCRE) como parte integrante da própria análise. Conseqüentemente, não há necessidade de realizar a calibração por um órgão externo acreditado ao *International Laboratory Accreditation Cooperation* (ILAC) ou do próprio laboratório solicitar a acreditação para a execução deste serviço.¹⁵

A calibração é um requisito essencial para obter resultados exatos e precisos.¹² Por este motivo, a chave é o uso de substâncias com identidade comprovada e pureza bem estabelecida, como é o caso de um MRC.¹² Além disso, quando há a necessidade de declaração da rastreabilidade metrológica o uso de MRC torna-se essencial.^{13,15} Ademais, para a avaliação da validade dos resultados, segundo a norma ABNT NBR ISO/IEC 17025,⁶ item 7.7, pode-se usar

MRCs ou materiais de controle da qualidade produzidos por produtores que atendam à ABNT NBR ISO 17034,¹ a qual referencia as ISO GUIA 33¹³ e ISO GUIA 80.^{6,15-17}

Quando for usado um MRC, a propriedade certificada deve ser conhecida com suficiente confiabilidade e a matriz do MRC deve ser suficientemente similar àquela das amostras dos materiais analisados.¹¹ É recomendado que os MRCs sejam analisados regularmente a fim de garantir medições confiáveis.¹³

De forma geral, a produção de MRCs no Brasil é ainda muito recente e ainda está em desenvolvimento, havendo dez produtores de MRCs certificados acreditados pelo INMETRO. Os produtores de MRC no Brasil, identificados por PMR (produtores de materiais de referência) estão listados na Tabela 1. Como pode ser observado nesta tabela, todos os produtores possuem o seu escopo de acreditação limitado a alguns produtos. Assim, o aumento do número de produtores de MRCs no Brasil representa um avanço tecnológico, além de disponibilizar a laboratórios nacionais materiais específicos as suas necessidades.¹⁰ Vale citar que a maioria dos MRCs atualmente disponíveis são produzidos nos Estados Unidos, Canadá, países da Europa, Austrália, China e Japão.¹⁰ A importação de MRCs é tipicamente onerosa, morosa e existe ainda a possibilidade de ocorrer falha na logística de envio e recebimento dos mesmos no Brasil.⁵ Com tudo isso, o custo das análises e ensaios realizados pelos laboratórios aumenta significativamente.¹⁰ Além disso, não há MRCs para diversos produtos analisados, como é o caso de pilhas alcalinas.

Uma das causas de haver poucos produtores de MRCs no Brasil deve-se à complexidade de sua produção, pois requer um planejamento experimental detalhado, no qual deve ser prevista uma quantidade suficiente de material para a execução de todos os estudos inerentes a ele.¹¹ Ademais, há os altos custos relacionados à acreditação, segundo a ABNT NBR ISO 17034.¹

Tabela 1. Produtores de materiais de referência certificados (MRCs) no Brasil.

Código	Produtor	Estado da Federação	Produto
PMR 0003	Digimed - Digicrom Analítica Ltda.	SP	Padrões de pH e condutividade
PMR 0004	Visomes Comercial Metrológica Ltda.	SP	Padrões de pH, condutividade, densidade e turbidez
PMR 0006	White Martins Gases Industriais Ltda.	SP	Metano, nitrogênio e ar sintético
PMR 0007	Air Liquide Brasil Ltda.	SP	Nitrogênio e ar sintético
PMR 0008	Laboratórios Bruch Ltda.	SP	Soro padrão para anemia infecciosa equina e antígeno para anemia infecciosa equina
PMR 0009	Controllab Controle de Qualidade para Laboratórios Ltda.	RJ	Padrões de pH, condutividade e potencial redox
PMR 0010	Messer Gases Ltda.	SP	Nitrogênio e ar sintético
PMR 0011	QMC Saneamento Ltda.	SC	Concentração de cloreto em água
PMR 0012	Programa Nacional de Controle de Qualidade Ltda. – PNCQ.	RJ	Soro humano liofilizado
PMR 0013	Setting Comércio, Industrialização e Serviços de Calibrações e Ensaios Ltda.	SP	Padrões de pH e condutividade

Caso não exista um MRC que atenda às necessidades identificadas pelo laboratório, este pode produzir seu próprio material de referência (MR).¹¹ Um MR deve ser homogêneo e estável em relação a propriedades específicas, preparado para se adequar a uma utilização pretendida numa medição ou num exame de propriedades qualitativas.^{13,15} Os materiais de referência (MRs) podem ser usados para a avaliação da precisão, para treinamento de analistas em laboratório e para verificação de outros métodos.^{13,15} Como a produção de um MR constitui uma operação longa e onerosa, é aconselhável que o laboratório inicialmente solicite o MR a um produtor de MRC ou contate um grupo de usuários com a mesma necessidade e monte um projeto de parceria para a produção do MR.¹¹ No entanto, a produção de um MR ou MRC de alta qualidade é, geralmente, precedida por um longo processo de pesquisa e desenvolvimento.⁵

Constitui um processo lento, meticuloso e dispendioso e nem sempre é possível satisfazer a demanda de todos os tipos e quantidades dos materiais.¹³

O MR e o MRC devem ter similaridade com os materiais analisados no laboratório e devem ser analisados nas mesmas condições. Portanto, os MRs e MRCs mais apropriados são os que possuem uma matriz similar ao produto analisado.⁷ O laboratório deve avaliar o fato de que nem sempre é possível, econômica e tecnicamente, haver uma concordância perfeita entre as matrizes do MRC ou MR e do material analisado.¹¹ Deve avaliar se a diferença é aceitável e, caso não seja, todo o procedimento analítico deve ser reconsiderado.¹¹ Quando um usuário tiver que recorrer à utilização de outro MRC ou MR devido à indisponibilidade de um que seja o mais apropriado, convém que ele esteja plenamente consciente dos riscos decorrentes e, portanto, avalie o resultado de sua medição.¹³ O mesmo MRC ou MR jamais pode ser utilizado para a finalidade de calibração e como amostra “cega” em um processo de medição.¹³ O usuário deve também estar ciente de que a utilização de uma porção de MRC ou MR que não atenda à especificação deste pode aumentar significativamente a contribuição da não homogeneidade do material para a incerteza da propriedade certificada ou de referência, até o ponto em que os parâmetros estatísticos da certificação não são mais válidos.¹³ Em qualquer circunstância, o usuário deverá identificar e analisar sua necessidade, delineando e buscando uma reposta para cada caso.¹¹

As principais etapas de produção de um MRC segundo a ABNT NBR ISO 17034¹ são: preparo e envasamento do material, avaliação da homogeneidade, teste de estabilidade a curto e longo prazos e caracterização prévia.¹⁰ Posteriormente, para avaliação e certificação do material, pode ser realizado um ensaio colaborativo com outros laboratórios a fim de estabelecer valores adequados da propriedade e incerteza associada, com o auxílio de ferramentas estatísticas.¹⁰ Os laboratórios participantes devem sempre seguir as recomendações e instruções fornecidas pelo produtor do material para que os dados obtidos possam ser incluídos na análise estatística.¹⁰

A norma ABNT NBR ISO 17034¹ estabelece que a preparação e análise de material sólido devem contemplar: 1º) usinagem ou moagem, 2º) homogeneização, 3º) peneiramento e quarteamento, 4º) determinação da distribuição do tamanho das partículas, 5º) limpeza do frasco que irá conter o material, 6º) secagem e esterilização do frasco, 7º) embalagem de amostras representativas do lote, 8º) testes de homogeneidade e estabilidade e 9º) caracterização do material.¹⁰

2.1. Pilhas para produção de material de referência

2.1.1. Aspectos gerais

Ao longo do tempo, diferentes pilhas foram desenvolvidas; zinco-carbono, alcalinas, níquel metal-hidreto, níquel-cádmio, óxido de mercúrio, óxido de prata, íons lítio e lítio-metal-hidreto.¹⁸ As pilhas são atualmente divididas em duas categorias: pilhas primárias (não recarregáveis) e secundárias (recarregáveis). As pilhas primárias mais consumidas no Brasil são as do tipo alcalinas e zinco-carbono, a última chamada popularmente de “*pilha comum*”.¹⁹

Dados fornecidos pelo Ministério da Economia, Indústria, Comércio Exterior e Serviços,²⁰ indicam que a importação de pilhas primárias diminuiu nos últimos 10 anos, provavelmente devido à substituição de pilhas não recarregáveis por pilhas recarregáveis.²⁰ Porém, as pilhas alcalinas ainda compreendem 57% do total de pilhas importadas, correspondendo a 35 milhões de reais.²⁰ A Figura 1 ilustra o panorama da importação de pilhas pelo Brasil nos últimos 10 anos, conforme classificação do NCM (Nomenclatura Comum do Mercosul).²⁰

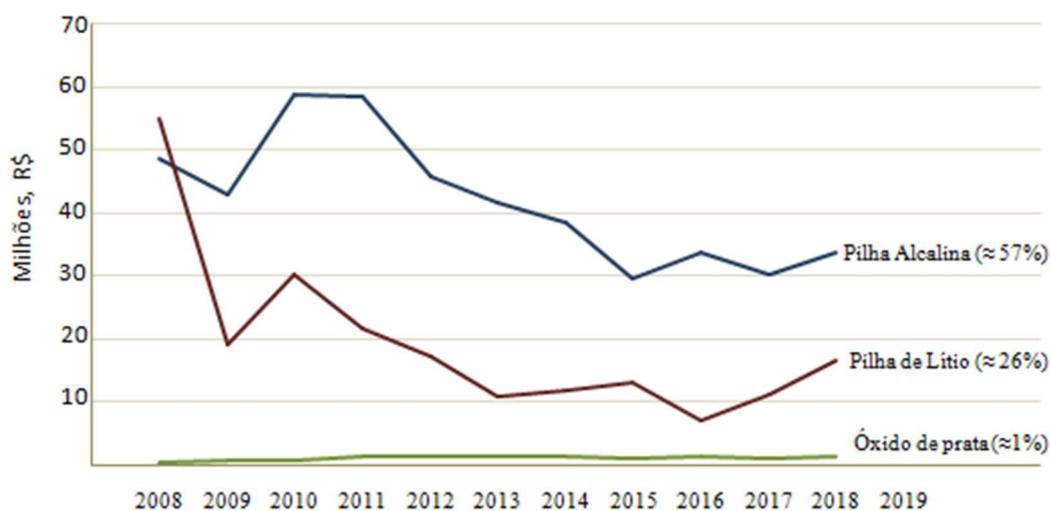


Figura 1. Custos da importação de pilhas pelo Brasil nos últimos 10 anos.²⁰

No Brasil, de janeiro 2019 a janeiro de 2020, houve uma queda na produção de pilhas, baterias e acumuladores elétricos (-4,8%). Porém, se forem considerados os últimos 8 anos, anteriores a 2020, a produção nacional manteve-se estável, como podemos observar na Figura 2.²¹

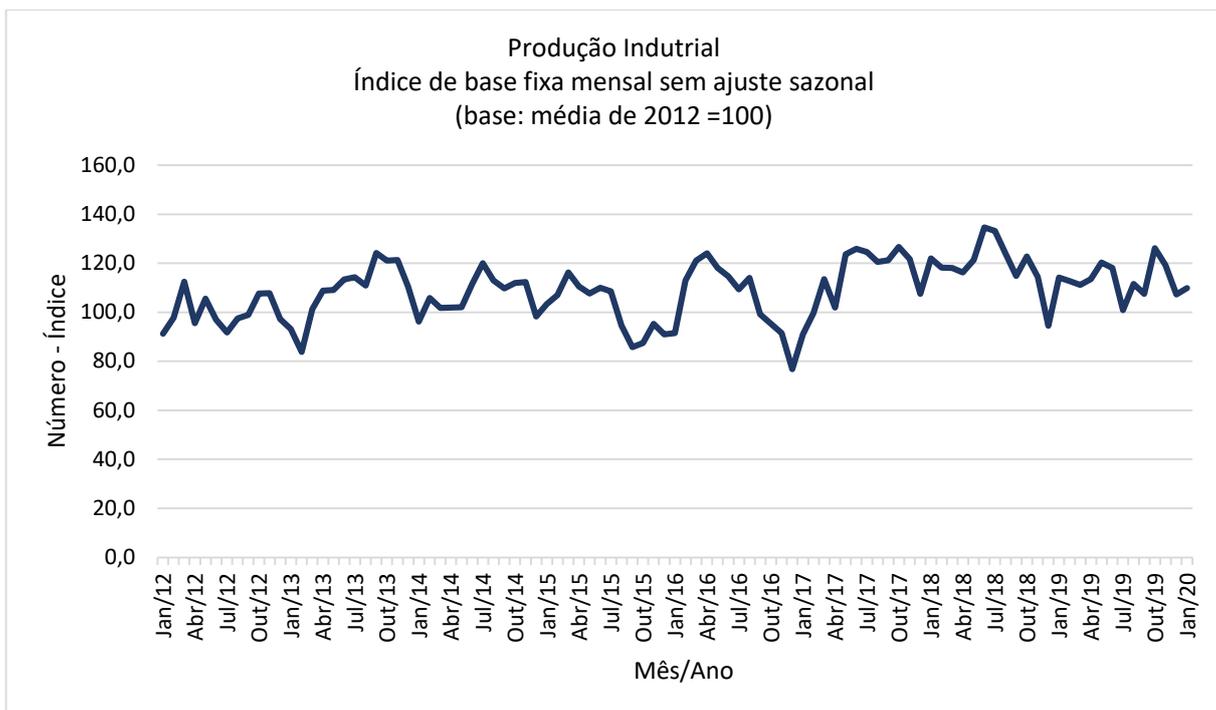


Figura 2. Variação da produção de pilhas, baterias e acumuladores elétricos no período entre 2012 e 2020 no Brasil.²¹

Um dos grandes problemas das pilhas alcalinas e pilhas zinco-carbono é a presença de elementos tóxicos, podendo causar diversas anomalias e doenças.^{18,19} Há diversos estudos,^{22,23} que relatam a determinação destes elementos em pilhas, com destaque para Hg, Cd e Pb.¹⁸ Os efeitos tóxicos destes elementos na saúde humana já são bem conhecidos: danos aos órgãos internos, distúrbios no trato respiratório e doenças pulmonares, disfunção do coração, distúrbios do sistema nervoso, doenças de pele, anomalias na fertilidade e gravidez.²² A acumulação desses elementos tóxicos nos tecidos do corpo humano e a ligação a enzimas podem prejudicar o funcionamento das células, o que também pode levar ao desenvolvimento de tumores e/ou cânceres.²²

O Pb tem a capacidade de afetar quase todo o corpo humano, incluindo os sistemas reprodutivo, neurológico, hematopoiético, hepático e renal.^{14,24-26} A exposição prolongada ao Pb por crianças é prejudicial ao cérebro e ao sistema nervoso das mesmas.^{14,25,26} A principal causa de exposição ao Pb entre 1950 e 2000 foi a gasolina, na qual era adicionado chumbo tetraetila.²⁴ Quando o Pb entrava na atmosfera, ele era removido do ar pela chuva e pelas partículas que caíam no solo e na água e, assim, contaminava o ambiente.²⁴ Felizmente, o chumbo tetraetila foi substituído por outros produtos onde o elemento não é detectado.

O Cd pode causar efeitos tóxicos nos pulmões, rins e no esqueleto.^{23,24} Este elemento é considerado um nefrotóxico cumulativo, cujo nível nos órgãos humanos aumenta com a idade

do indivíduo devido à falta de um processo bioquímico ativo para a eliminação do cádmio, além da reabsorção renal.²⁵ As mulheres tendem a acumular mais Cd que os homens, tornando-as mais vulneráveis aos efeitos do elemento.²³ Além disso, uma exposição baixa a moderada ao Cd durante a gravidez poderá prejudicar o desenvolvimento dos rins e a função cognitiva durante a primeira infância do filho.²³ Há diversos estudos que evidenciaram o risco carcinogênico da exposição crônica a este elemento.²⁵ O Cd ainda é usado em baterias e pigmentos²⁴ e, quando lançado no ambiente, pode acumular-se em organismos aquáticos e culturas agrícolas.²⁴

A exposição crônica ao Hg inorgânico pode causar neuropatia periférica, encefalopatia e doença renal intersticial.¹⁴ Já em sua forma metilada (CH₃Hg), o Hg pode afetar severamente o sistema nervoso central e causar doença coronariana.^{23,24} A metilação do Hg ocorre geralmente em micro-organismos presentes em água contaminada com Hg onde vivem peixes e animais marinhos predadores expostos à água contaminada com Hg. Ao consumir os peixes, o homem será exposto ao CH₃Hg, como consequência.^{23,24}

A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou o Pb, CH₃Hg e Cd como pertencentes aos grupos 2A (prováveis agentes cancerígenos para humanos), 2 B (possíveis agentes cancerígenos para seres humanos) e 1 (agentes cancerígenos humanos), respectivamente.²⁴

Na tentativa de reduzir os efeitos que o Hg, Cd e Pb podem causar nos ecossistemas, políticas mais severas sobre a fabricação de pilhas foram criadas em diversos locais do mundo. Neste contexto, o Brasil instituiu em 1999 a Resolução 257 através do CONAMA (Conselho Nacional de Meio Ambiente),²⁷ exigindo limites máximos de elementos tóxicos em pilhas importadas ou fabricadas no Brasil.^{18,19} Em 2008 foi estabelecida uma nova resolução, a Resolução CONAMA 401,²⁸ a qual estabeleceu limites mais restritivos para os três elementos, que são 0,0005% de Hg; 0,002% de Cd e 0,1% de Pb como limites máximos.^{19,28} Esta resolução também recomenda que a determinação destes três elementos por parte dos fabricantes e importadores seja feita anualmente em laboratório acreditado junto ao INMETRO e de acordo com a norma ABNT NBR ISO/IEC 17025.^{6,28} Em 2012, com o intuito de fortalecer a obrigatoriedade de fabricantes e importadores de pilhas em realizar análise, o INMETRO publicou a Portaria 239,²⁹ a qual reitera a necessidade de determinar Pb, Cd e Hg em pilhas, como indicado na Resolução Conama 401.^{28,29}

No Brasil existem atualmente 6 laboratórios acreditados à norma ABNT NBR ISO/IEC 17025, para a determinação de elementos tóxicos em pilhas alcalinas e zinco-carbono. Porém,

uma das maiores dificuldades encontradas por estes laboratórios é a garantia da rastreabilidade de seus resultados, uma vez que não existe MR ou MRC para este tipo de matriz.

2.1.2. Pilhas alcalinas

As pilhas alcalinas funcionam como dispositivo de armazenamento de energia há mais de 100 anos.³⁰ Elas são leves, possuem alta densidade energética e são de baixo custo.³⁰ As pilhas alcalinas contêm uma superfície anódica (ânodo) de zinco e um cátodo de dióxido de manganês (MnO_2). Como eletrólito alcalino o hidróxido de potássio (KOH) é usualmente utilizado, devido a sua alta condutividade iônica e menor viscosidade.³¹ Normalmente, a concentração da solução de KOH é 7 M ou 30% m/v, alcançando a máxima condutividade elétrica no sistema.³¹ Os materiais que compõem o eletrodo de zinco são uma mistura de zinco em pó ou granulado e alguns aditivos, que resultam numa mistura com consistência gelatinosa. Na Figura 3 é ilustrado o corte transversal de uma pilha alcalina cilíndrica.

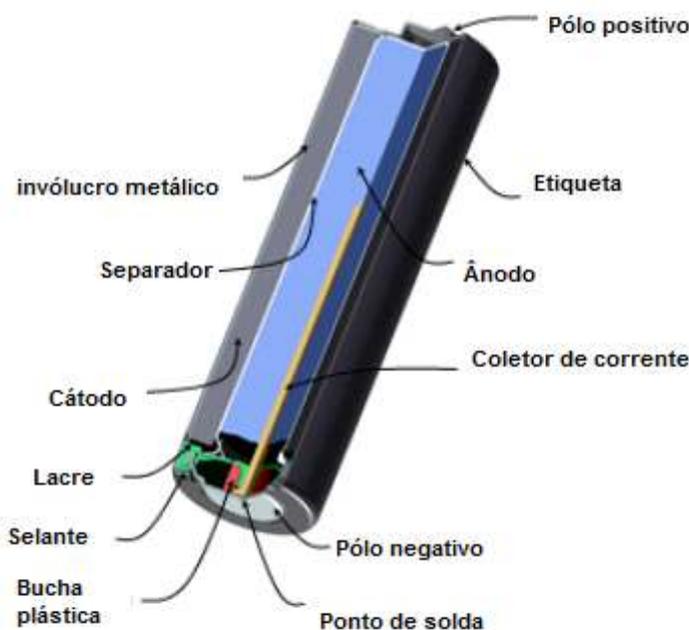


Figura 3. Representação de uma pilha alcalina com corte transversal.

No ânodo ocorre a oxidação do zinco em meio básico, gerando íons Zn^{+2} . Quando a solução de KOH é saturada com Zn^{+2} , o produto da reação de oxidação passa a ser o $Zn(OH)_2$, conforme a reação global apresentada na equação 1.³²



No ânodo pode ocorrer uma reação paralela de oxidação, uma reação indesejada entre zinco e água, resultando na geração de H_2 . Devido a esta reação, gradualmente pode ocorrer a auto corrosão do zinco e à medida que a área de superfície do eletrodo aumenta a taxa de corrosão torna-se mais significativa.³¹ Esta reação secundária consome eletrólito, reduz a eficiência do eletrodo de zinco e reduz a vida útil da pilha.^{18,31} Para retardar ou suprimir a auto corrosão é adicionado Hg e, assim, uma nova fase de amálgama rica em zinco é formada.³¹ Quando o nível de mercúrio excede 100 mg/cm^2 , a corrosão do zinco não amalgamado é inibida para menos de 40%.³¹ No entanto, devido à alta toxicidade do mercúrio e seu impacto no meio ambiente, o uso deste elemento é restringido.^{18,28,31} Foi verificado que as ligas de zinco com outros metais (por exemplo, Pb, Cd, Bi, Sn e In) estabilizam o eletrodo de zinco. No entanto, alguns destes elementos também são tóxicos.³¹ As pilhas alcalinas têm a distribuição mássica apresentada na Figura 4.

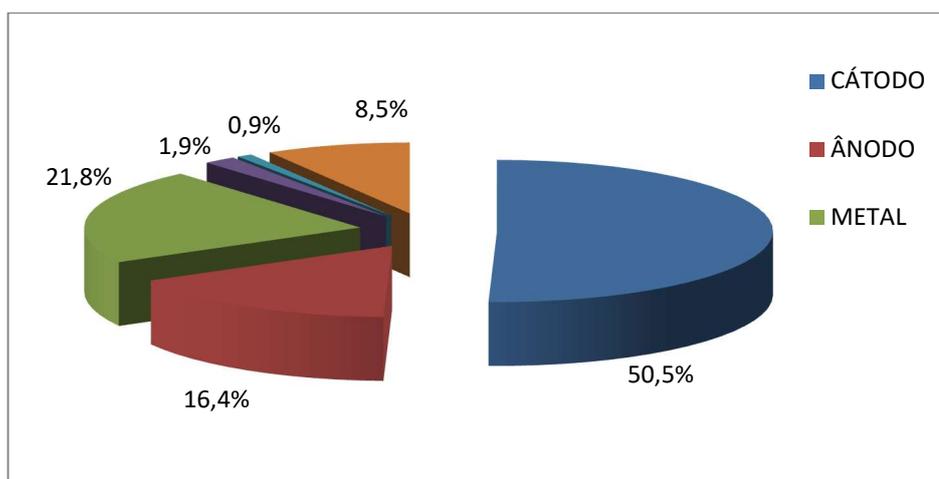


Figura 4. Distribuição mássica de componentes numa pilha alcalina.¹⁸

2.2. Produção do material

Conforme a ABNT NBR ISO 17034,¹ no processo de produção e caracterização do material candidato, devem ser asseguradas condições ambientais e de acomodação do mesmo para prevenir possível contaminação. Dependendo do material, deve ser também assegurada a sua estabilidade. Por exemplo, adição de produtos estabilizantes e/ou dessecantes a materiais que possam sofrer degradação ou absorver umidade¹. É importante que durante a produção de um MRC ou MR o produtor avalie possíveis interferências e alterações que o material possa sofrer e buscar alternativas para que isto não ocorra.¹

O material também deve ser armazenado adequadamente, pois deve manter a sua integridade e não deve ser contaminado e, por isso, o produtor deve dispor de áreas adequadas de armazenamento. Na embalagem onde é armazenado, cada alíquota do material deve ter sua integridade assegurada até que o lacre seja rompido ou o material seja utilizado para análise.^{1,5,9,33}

Para um material já certificado, durante intervalos pré-estabelecidos, a condição do produto deve ser avaliada a fim de detectar possível deterioração.¹ A embalagem do MRC ou MR deve possuir um rótulo com as seguintes informações: identificação do material, produtor, lote, número de identificação e todas as informações necessárias para que ele seja unívoco. Caso o tamanho da embalagem seja muito pequeno para um rótulo com todas as informações necessárias, este deverá direcionar as informações para o certificado do material.^{1,9,33}

2.3. Caracterização do material

Durante a produção do material candidato, o produtor deve avaliar o material através de análise, cujo método deve atender aos requisitos da norma ABNT NBR ISO/IEC 17025.^{1,6,31} Se a propriedade a ser certificada é a concentração de elementos químicos, uma das técnicas utilizadas é a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES),³⁴ a qual é muito bem estabelecida e reconhecida por possibilitar medições precisas e exatas. Contudo, é necessário que o método de determinação por ICP OES seja otimizado e validado, que atenda aos requisitos analíticos e confirme desempenho consistente aos requeridos para sua aplicação.³⁵

A técnica ICP OES fundamenta-se na utilização do plasma indutivamente acoplado (ICP) de argônio, que contém concentrações similares de elétrons e íons argônio em movimento. O ICP forma-se em uma tocha de quartzo, centralizada no interior de uma bobina de indução eletromagnética que é alimentada por uma fonte de radiofrequência. A tocha é constituída por três tubos concêntricos, com entradas de gás argônio independentes (Figura 5). Na parte externa, o argônio é introduzido, tangencialmente, com vazões de 8 a 20 L min⁻¹ para gerar e sustentar o plasma. Na parte intermediária, um fluxo de argônio auxiliar, cuja vazão varia de 0,1 a 1,5 L min⁻¹, é utilizado para estabilizar o plasma durante a introdução da amostra. E na parte central ocorre o transporte da amostra na forma de aerossol, por arraste com o gás nebulizador (argônio), cuja vazão varia de 0,6 a 0,8 L min⁻¹. A bobina de indução é responsável por manter o plasma devido ao acoplamento de radiofrequência (RF). A frequência utilizada é 27 ou 40 MHz e a potência pode variar de 800 a 2000 W. A temperatura do ICP varia de 6000

a 10000 K e no canal central do mesmo, onde passa a amostra, a temperatura é cerca de 6500 K.

Quando a amostra na forma líquida é introduzida no plasma, esta passa por um nebulizador para formar um aerossol líquido (*spray*), cujas gotículas são em seguida selecionadas numa câmara de nebulização; as gotículas menores (com cerca de 10 μm de diâmetro) seguem para o ICP e as maiores são descartadas. Na Figura 6 são mostrados um nebulizador e uma câmara de nebulização típicos, os quais compõem o sistema de introdução da amostra em forma de solução no ICP. Ao entrar no ICP, as gotículas selecionadas sofrem dessolvatação por aquecimento, formando um aerossol seco que é em seguida volatilizado, resultando em átomos livres, moléculas e íons que permanecem em equilíbrio. Os íons e átomos são excitados e a radiação detectada, lateralmente (vista radial) ou axialmente (vista axial) num detector apropriado. Se for monitorada a vista axial, as interferências são mais pronunciadas, mas a sensibilidade é maior. Linhas de emissão específicas, incluindo aquelas dos elementos medidos, podem ser selecionadas pelo policromador (que faz parte do instrumento de ICP OES) e as suas intensidades medidas. Mediante curvas de calibração obtidas através de soluções com concentração conhecida dos elementos medidos, a concentração destes é determinada.^{22,34,36,37}

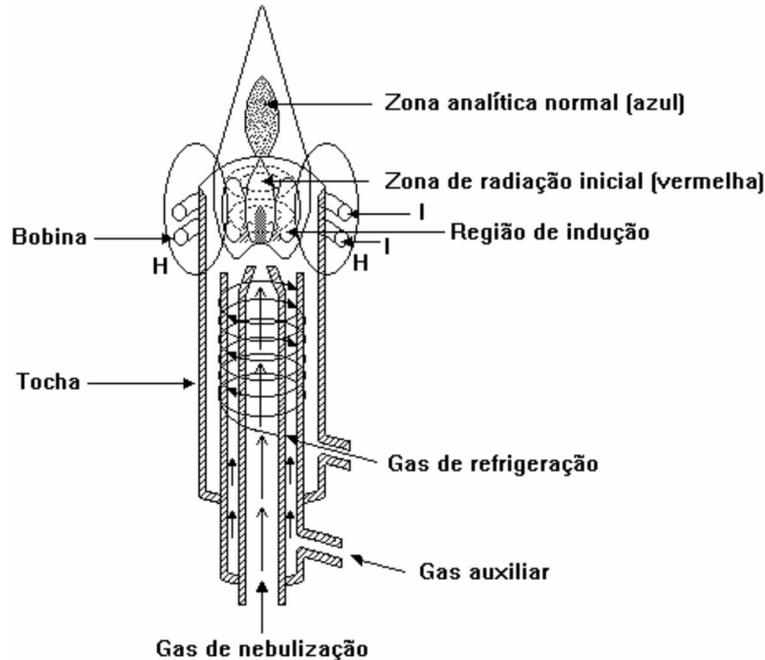


Figura 5. Representação de uma tocha onde o ICP de argônio é gerado e mantido. H representa o campo magnético induzido e I a bobina de indução. Fonte: Jarvis *et al.*³⁶

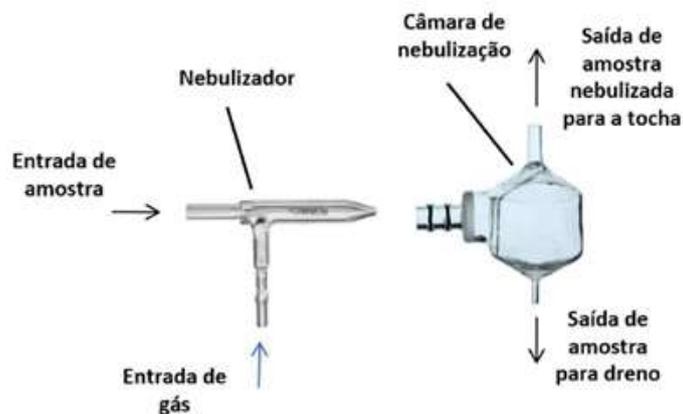


Figura 6. Detalhamento do sistema de introdução de amostra no ICP mediante nebulização pneumática. O transporte da solução que passa pelo nebulizador é feito mediante uma bomba peristáltica.

No desenvolvimento de um método analítico, inclusive aqueles baseados no emprego da ICP OES como técnica de medição, todas as etapas e parâmetros do método devem ser avaliados para se obter resultados confiáveis.³⁴ No caso da ICP OES, variáveis instrumentais como a potência de radiofrequência (RF), vista de observação do plasma (radial e axial), vazão do gás de nebulização e vazão da solução da amostra devem ser avaliadas e as melhores condições estabelecidas.³⁴

Apesar das potencialidades da ICP OES, ela possui certas limitações relacionadas a interferências espectrais e não espectrais causadas por elementos concomitantes com os analitos na amostra analisada.³⁵ Muitas interferências espectrais podem ser corrigidas pelo *software* utilizado na operação do instrumento de ICP OES,³⁵ principalmente se este foi fabricado mais recentemente. Isto porque o policromador tem maior resolução espectral. No entanto, interferências não-espectrais, também chamadas de efeitos de matriz, requerem avaliações específicas.³⁵ Efeitos de matriz estão normalmente presentes, ocasionando determinações imprecisas e inexatas.³⁵ Tais efeitos decorrem da alteração da viscosidade e tensão superficial da solução analisada e da ionização e excitação do analito no plasma, causados pelos constituintes da matriz da amostra.^{34, 35}

2.4. Validação de um método analítico

Existem diversas recomendações³⁸ em relação à validação de um método analítico, porém as principais são: 1) confirmação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para aplicação do método foram cumpridos (ISO 9000³⁹); 2) confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos para um uso específico

pretendido são cumpridos (ABNT NBR ISO/IEC 17025)⁶ e 3) verificação de que os requisitos especificados são adequados para o uso pretendido (VIM).⁸

Na validação do método, os requisitos de confirmação de que o método em avaliação é consistente com o que a aplicação exige devem ser atendidos. Um método deve ser validado quando for necessário demonstrar que suas características de desempenho são adequadas para uma finalidade específica.³⁸ Segundo a ABNT NBR ISO/IEC 17025,⁶ o laboratório deve validar métodos não padronizados, métodos planejados/desenvolvidos no laboratório, métodos padrão usados fora do escopo pretendido, ampliações e modificações de métodos padrão.³⁸ A validação deve ser tão extensa quanto necessária para atender aos requisitos relacionados ao uso pretendido.³⁸

Existem duas abordagens principais para validação de um método analítico: mediante comparação interlaboratorial e análises em laboratório único.³⁸ Há diversas publicações^{38,40-42} a respeito da validação de métodos por comparações interlaboratoriais, frequentemente referidas como “estudos colaborativos” ou “estudos cooperativos”.³⁸ Nas referidas publicações são descritos protocolos relacionados a esse tipo de validação, sendo que as normas da série ISO 5725-x⁴² podem ser consideradas as mais aplicáveis. Um método publicado e validado dessa maneira é classificado como robusto.³⁰ As publicações normalmente relatam a precisão (repetitividade e reprodutibilidade e/ou limites de precisão correspondentes) e, às vezes, estimativas de desvios.^{38,40-42} A abordagem de um único laboratório é muito utilizada quando o método desenvolvido não é de interesse geral ou porque outros laboratórios são concorrentes. Assim, a abordagem de validação por um único laboratório torna-se apropriada.³⁸ O laboratório deve fazer o melhor possível, dentro das suas possibilidades, levando em consideração os requisitos regulamentares, a sua necessidade, a experiência em relação à aplicação do método, as ferramentas disponíveis e a compatibilidade com outros métodos semelhantes já em uso no laboratório ou utilizado por outros laboratórios.³⁸ Contudo, algumas características de desempenho podem ser determinadas durante o estágio de desenvolvimento ou implementação do método.³⁸

Os requisitos de validação do método podem ser especificados nas diretrizes de um setor específico relevante para o método^{38,40,41,43} e onde tais requisitos existem é recomendável que eles sejam seguidos.³⁸ Segundo a maioria dos documentos,^{31,38,40,41,43,44} os parâmetros avaliados na validação de um método analítico são: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, sensibilidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), tendência, exatidão,

incerteza, precisão e robustez.^{38,44,45} Segundo o INMETRO,⁴⁴ a avaliação da robustez é um procedimento opcional e geralmente não é necessária para métodos bem estabelecidos.⁴⁶

2.4.1. Seletividade e sensibilidade

Seletividade é o grau em que o método permite quantificar o analito na presença de outros analitos e concomitantes que constituem a matriz da amostra analisada ou outro potencial interferente.^{38,44,46} A seletividade é um dos primeiros parâmetros a ser avaliado na validação de um método.⁴⁵

Segundo o VIM,⁸ *seletividades é a propriedade de um sistema de medição, o qual fornece valores medidos para um ou vários mensurandos, tais que os valores de cada mensurando sejam independentes uns dos outros ou de outras grandezas associadas ao fenômeno, corpo ou substância de estudo.*^{8,38}

Em geral, pode-se dizer que os métodos analíticos consistem de medições que podem ou não ser precedidas por uma etapa de isolamento do analito.³⁸ Na medição, a concentração de um analito normalmente não é medida diretamente, mas sim uma propriedade específica (por exemplo, intensidade da radiação eletromagnética) é quantificada.³⁸ Portanto, é crucial estabelecer que a propriedade medida seja devida apenas ao analito e não a algo semelhante, que causaria um desvio no resultado da medição.³⁸

Os interferentes podem causar desvios positivos ou negativos em relação ao sinal do analito.³⁸ O tamanho do efeito de uma determinada matriz é geralmente proporcional ao sinal do analito e, portanto, às vezes é chamado de efeito ‘proporcional’.³⁸ Pode, no entanto, alterar o coeficiente angular da função de calibração, mas não o coeficiente linear. Esse efeito também é chamado de ‘rotacional’.³⁸

Um efeito ‘translacional’ ou ‘fixo’ surge de um sinal produzido por interferentes presentes na amostra, o qual é independente da concentração do analito.³⁸ É frequentemente chamado de interferência de “*background*” ou “*baseline*”.³⁸ Afeta o coeficiente linear da função de calibração, mas não o coeficiente angular.³⁸ Não é incomum que os efeitos ‘proporcionais’ e ‘translacionais’ ocorram simultaneamente.³⁸ Uma forma de corrigir os efeitos proporcionais é fazer a calibração por adição de padrão.³⁸

Para avaliar se um método é seletivo ou não, compararam-se duas curvas de calibração, uma preparada a partir de soluções de calibração e na presença da matriz da amostra e a outra curva a partir de soluções de calibração na ausência de tal matriz. Caso as retas sejam paralelas pode-se declarar que não há interferência da matriz na determinação do analito.^{38,44-46} Além disso, pode-se aplicar o teste F Snedecor para avaliar a homogeneidade da variância e a análise

de variância (ANOVA) para avaliação da similaridade das curvas de calibração.^{44,45} Os resultados desses testes estatísticos indicam se existem diferenças significativas entre as curvas de calibração e se o método é seletivo, ou não.^{44,45}

A sensibilidade do método pode ser expressa pelo coeficiente angular da equação de regressão linear³⁵ da curva de calibração, que é a mudança da resposta do instrumento em função de uma mudança da concentração do analito.⁴⁴

2.4.2 Linearidade e faixa de trabalho

Para qualquer método analítico quantitativo, há uma faixa de concentração que pode ser determinada com precisão e exatidão. O limite inferior desta faixa é o LQ do método e o limite superior depende da resposta do instrumento de medição.^{28,45} Neste intervalo, há uma relação linear entre a concentração do analito e a resposta do instrumento.^{44,45} Para a avaliação da linearidade, é recomendado preparar uma curva de calibração com 5 pontos, correspondentes a soluções com concentrações diferentes do analito e cada solução ser analisada 3 vezes.⁴⁴ Por outro lado, a Eurachem³⁸ recomenda que curva de calibração compreenda 6 a 10 pontos.³⁸ Na avaliação da linearidade verifica-se se não há pontos discrepantes (*outliers*) que podem ser detectados por meio de testes estatísticos,^{144,45,47,48} sendo o teste de Grubbs o mais utilizado.⁴⁸ O teste de Dixon pode também ser usado, porém este se limita a um número menor de valores de medidas (3 a 7).⁴⁸ O teste de Grubbs compara um valor suspeito com a média (\bar{x}) de todas as medidas, considerando o desvio padrão (s) entre elas, segundo a equação 2.^{45,47,48} Comparando-se o valor de G encontrado com o tabelado para o número de medidas em questão, pode-se avaliar se o valor suspeito é ou não um *outlier*.^{45,47,48}

$$G = \frac{|\text{valor suspeito} - \bar{x}|}{s} \quad (\text{equação 2})$$

Em seguida, calcula-se o coeficiente de regressão linear (r), que é aceitável quando $r \geq 0,995$,³⁵ mas não é conclusivo. Deve-se ainda dispor os resíduos (diferença entre o valor y observado e o valor y previsto para cada valor x) graficamente e observar se há comportamento aleatório.^{38,44} Caso seja observada alguma tendência no gráfico de resíduos, há indício de que o modelo linear é inadequado.^{38,44} Além disso, este parâmetro terá contribuição significativa no cálculo da incerteza da medição.⁴⁷ Caso todos os requisitos sejam atendidos, considera-se que a faixa linear da curva de calibração obtida é adequada.⁴⁵

2.4.3. Limite de detecção (LD)

É a menor quantidade de analito na amostra que pode ser detectada na análise, mas não necessariamente quantificada com exatidão e precisão.^{8,38,44,46} Também é necessário distinguir o LD do instrumento daquele do método.³⁸ O LD do instrumento pode ser estimado mediante análise de um “branco” preparado a partir de um reagente, omitindo-se qualquer etapa de preparação da amostra. No entanto, para se estimar o LD do método o cálculo deve basear-se na análise da amostra submetida a todas as etapas do método de análise, incluindo a massa ou volume de amostra e as diluições envolvidas.³⁸ É o LD do método que é verdadeiramente útil para validação do método.³⁸

Idealmente, “brancos” das amostras deveriam ser analisados para estimar o LD, isto é, matrizes que não contenham o analito a nível detectável ou em concentração próxima do LD esperado.³⁸ O LD pode ser calculado de diferentes formas, como, por exemplo, através das equações 3, 4 e 5.^{35,38,44}

$$LD = \frac{3,3 s}{b} \quad (\text{equação 3})$$

Onde:

s = desvio padrão dos sinais do analito no “branco” da curva de calibração (para 10 medições consecutivas do branco);³⁸

b = coeficiente angular da equação de regressão linear da curva de calibração.

É importante que o desvio padrão seja representativo da precisão para amostras reais e que sejam feitas medições replicadas o suficiente para fornecer uma estimativa confiável.³⁸ Quando o branco não gera sinal, pode-se adotar o desvio padrão para a solução correspondente ao menor ponto da curva de calibração.^{37,44}

$$LD = y_B + 3s_B \quad (\text{equação 4})$$

Onde:

y_B = sinal do analito no branco da curva de calibração e

s_B = desvio padrão das medidas (10) do analito no branco, obtidas consecutivamente.

O valor do LD encontrado mediante a equação 4 é convertido em concentração através da equação de regressão linear da curva de calibração.

$$LD = \bar{x} + t_{(n-1,1-\alpha)} \cdot s \quad (\text{equação 5})$$

Onde:

\bar{x} = média da concentração do analito no branco;

t = abscissa da distribuição *t-Student*, dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança;

α = nível de confiança desejado;

s = desvio padrão das medidas e

n = número de medidas, o qual depende do documento orientativo; o DOC-CGCRE 008⁴⁴ recomenda o mínimo de 7 medidas, enquanto a Eurachem³⁸ e a IUPAC⁴⁹ recomendam um mínimo de 10 medidas.^{38,49}

Se o LD for uma característica crítica de desempenho do método, recomenda-se que o valor estimado do LD na validação seja confirmado durante o uso rotineiro do método.^{38,46}

O LD pode mudar de acordo com a matriz da amostra e por isso deve ser definido para cada tipo de matriz.⁴⁴ O desvio padrão deve ser representativo e de acordo com o desempenho do método, conforme este é usado no laboratório, ou seja, o desvio padrão deve ser calculado com base nos resultados das análises, onde elas são realizadas exatamente de acordo com todo o procedimento de medição documentado, incluindo todas as etapas de preparação da amostra.³⁸

2.4.4. Limite de quantificação (LQ)

É a menor quantidade do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão na amostra analisada.^{37,38,44,46} O LQ pode ser calculado conforme as equações 6 e 7.^{35,44}

$$LQ = \frac{10s}{b} \quad (\text{equação 6})$$

Onde:

s = desvio padrão dos sinais do analito no branco;

b = inclinação (coeficiente angular) da curva de calibração.

$$LQ = \bar{x} + 10s \quad (\text{equação 7})$$

Onde:

\bar{x} = média da concentração do analito no branco;

s = desvio padrão das medidas, cujo número também depende do documento orientativo; o DOC-CGCRE 008⁴⁴ recomenda o mínimo de 7 medidas, enquanto a Eurachem³⁸ e a IUPAC⁴⁹ recomendam que o número mínimo de medidas seja 10.³⁸

Se o LQ é uma característica crítica de desempenho do método, deve-se confirmar que o LQ estimado por cálculo é próximo do real.^{38,46} Isto pode ser feito no estudo da precisão, mediante análise de uma amostra com concentração próxima ao LQ calculado.^{38,46}

2.4.5. Exatidão

A exatidão é uma expressão do quão próxima a média de um número infinito de resultados está de um valor de referência.^{37,38} Como não é possível realizar um número infinito de medições, a exatidão não pode ser medida.³⁸ No entanto, podemos fazer uma avaliação da veracidade da exatidão, chamada muitas vezes de “viés” ou erro sistemático.³⁸

Para a determinação do “viés” ou erro sistemático recomenda-se a análise de MRCs, participação em programas interlaboratoriais, comparação com métodos de referência e a realização de teste de recuperação do analito.^{38,44} Segundo este teste, que é rotineiramente feito em laboratórios de análise química, a amostra ou matriz da mesma é fortificada com quantidade conhecida do analito, em diferentes concentrações e na faixa linear do método.⁴⁴ A recuperação é calculada segundo a equação 8.^{37,38,44}

$$\text{recuperação (\%)} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \cdot 100 \quad (\text{equação 8})$$

Onde:

C₁: concentração do analito na amostra fortificada;

C₂: concentração do analito na amostra não fortificada e

C₃: concentração esperada do analito.

A aceitação da recuperação depende de cada método ou legislação; os critérios para aceitação da recuperação pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) estão apresentados na Tabela 2.⁴⁴ Contudo, uma recuperação aceitável do analito não garante a exatidão do método, pois o analito na amostra pode estar numa forma diferente da adicionada.³⁸ O analito pode estar também presente em uma variedade de formas na amostra e, às vezes, apenas uma delas interessa.³⁸ O método pode, assim, ser deliberadamente projetado para determinar apenas uma forma particular do analito.³⁸ Uma falha na determinação de parte ou de todo o analito presente pode refletir um problema inerente ao método.³⁸ Portanto, é necessário avaliar a eficiência do método na quantificação do analito.³⁸

Tabela 2. Critérios recomendados pela AOAC para aceitação da recuperação do analito adicionado à amostra.

Analito	Fração Mássica (C)	Unidade	Recuperação média
100 %	1	100%	(98 – 102) %
10 %	10 ⁻¹	10%	(98 – 102) %
1 %	10 ⁻²	1%	(97 – 103) %
0,1 %	10 ⁻³	0,1%	(95 – 105) %
0,01 %	10 ⁻⁴	100 mg kg ⁻¹	(90 – 107) %
0,001 %	10 ⁻⁵	10 mg kg ⁻¹	(80 – 110) %
0,0001 %	10 ⁻⁶	1 mg kg ⁻¹	(80 – 110) %
0,00001 %	10 ⁻⁷	100 µg kg ⁻¹	(80 – 110) %
0,000001 %	10 ⁻⁸	10 µg kg ⁻¹	(60 -115) %
0,0000001 %	10 ⁻⁹	1 µg kg ⁻¹	(40 -120) %

Fonte: DOQ-CGCRE 008,2020⁴⁴

Uma maneira de avaliar a recuperação do analito é aumentar as porções testadas e em várias concentrações.³⁸ O problema inerente a isso é que o analito introduzido dessa maneira, provavelmente, não será ligado tão fortemente à matriz da amostra quanto o que está naturalmente presente e, portanto, a eficiência da recuperação será superestimada.³⁸

Em geral, a análise de um MRC é a abordagem preferida se este estiver disponível.⁴⁶ A comparação dos resultados com um método alternativo fornece uma medida da tendência em relação a esse método.^{38,46} O método alternativo pode ser um método de referência ou, se a intenção é substituir um método por outro e houver necessidade de demonstrar desempenho equivalente, um método de uso rotineiro no laboratório pode ser uma alternativa.^{38,46} Contudo, o método alternativo pode ser tendencioso, no caso em que a sua utilização não forneça uma medida absoluta de veracidade.^{38,46}

O “viés” do método decorre de erros sistemáticos inerentes ao método, independentemente de qual laboratório o utilize.³⁸ O “viés” do laboratório decorre de erros sistemáticos adicionais específicos do laboratório e de sua interpretação do método.³⁸ Isoladamente, um laboratório só pode estimar o “viés” combinado (total) dessas duas fontes,³⁸ como ilustrado na Figura 7.

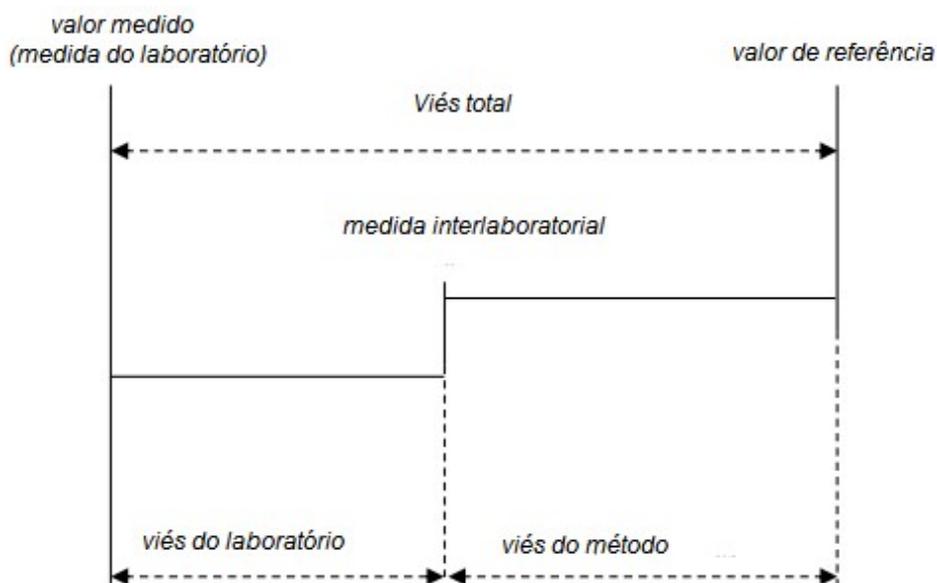


Figura 7. “Viés” total, que consiste em “viés” de método e viés de laboratório. Adaptado do Eurachem *Guide*.³⁸

Na maioria dos casos, no entanto, a aceitabilidade do “viés” deve ser decidida com base no “viés” medido em relação ao MRC apropriado, levando-se em consideração a precisão do método e a incerteza do valor de referência.³⁸

O objetivo da validação é demonstrar que o método em avaliação permite a obtenção de resultados equivalentes aos obtidos mediante um método existente e estabelecer que não há “viés” significativo em relação aos resultados obtidos mediante este (embora ele possa ser tendencioso).^{38,46}

2.4.6. Precisão

A precisão do método, a qual é definida como a concordância entre os resultados dos testes mutuamente independentes, é normalmente avaliada por meio da repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade.^{38,44} A precisão é geralmente expressa por parâmetros estatísticos que descrevem a dispersão dos resultados, tipicamente o desvio padrão ou desvio padrão relativo (DPR), calculados a partir dos resultados obtidos através da realização de medições replicadas para um material adequado sob “condições especificadas”.⁴⁴ Decidir sobre as “condições especificadas” é um aspecto importante da avaliação da precisão da medição, pois tais condições determinam o tipo de estimativa da precisão.⁴⁴

A precisão geralmente depende da concentração do analito e, portanto, deve ser determinada para várias concentrações na faixa de interesse,⁴⁴ podendo-se incluir uma

concentração específica (como um limite regulatório) ou mais concentrações no intervalo de medição.⁴⁴

As amostras onde os analitos são quantificados devem ser representativas dos materiais analisados, em termos de matriz e concentração do analito, homogeneidade e estabilidade, mas não precisam ser necessariamente MRCs.^{38,44,46} As réplicas também devem ser independentes, ou seja, todo o processo de medição, incluindo quaisquer etapas de preparação da amostra, deve ser repetido.^{38,44,46}

Segundo o DOQ CGCRE 008,⁴⁴ a precisão pode ser avaliada pelo coeficiente de variação (CV), também denominado DPR, que é calculado conforme a equação 9.^{35,44}

$$CV(\%) = DPR(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (\text{equação 9})$$

Onde:

s = desvio padrão das medidas;

\bar{x} = valor médio das medidas e

DPR = desvio padrão relativo.

Para avaliar a precisão, um valor de referência não é necessário.⁴⁶ Os estudos de precisão podem, portanto, ser baseados na análise de amostras de teste.⁴⁶ No entanto, para obter estimativas confiáveis das características de desempenho quanto à precisão, é desejável que o número de graus de liberdade (número de medidas) seja 5 a 14.⁴⁶

2.4.6.1 Repetibilidade

Repetibilidade é a concordância das medidas obtidas sob um conjunto de condições,⁸ as quais incluem o mesmo procedimento de medição, os mesmos operadores, o mesmo sistema de medição, as mesmas condições de operação e o mesmo local, assim como medições repetidas do mesmo objeto ou objetos similares durante um curto período de tempo.^{38,44} No caso da concentração de um elemento em solução, para avaliação da precisão o número mínimo de repetições para cada nível de concentração (baixa, média e alta, relativas ao nível de concentração do elemento na solução analisada)⁴⁴ varia de acordo com o documento normativo, mas normalmente é 6 a 15 por estudo.^{38,44,46} A aceitação ou não do valor do CV das medidas depende do método utilizado. Segundo as regras definidas no Conselho Internacional de Harmonização (ICH),³⁵ o CV deve ser $\leq 10\%$.³⁵ A AOAC recomenda o que consta na Tabela 3.

Tabela 3. Critérios para aceitação da repetibilidade recomendados pela AOAC.

Concentração do Analito	Fração Mássica (C)	Unidade	CV
100 %	1	100%	1,3 %
10 %	10 ⁻¹	10%	1,9 %
1 %	10 ⁻²	1%	2,7 %
0,1 %	10 ⁻³	0,1%	3,7 %
0,01 %	10 ⁻⁴	100 mg kg ⁻¹	5,3 %
0,001 %	10 ⁻⁵	10 mg kg ⁻¹	7,3 %
0,0001 %	10 ⁻⁶	1 mg kg ⁻¹	11 %
0,00001 %	10 ⁻⁷	100 µg kg ⁻¹	15 %
0,000001 %	10 ⁻⁸	10 µg kg ⁻¹	21 %
0,0000001 %	10 ⁻⁹	1 µg kg ⁻¹	30 %

Fonte: DOQ-CGCRE 008, 2020⁴⁴

2.4.6.2. Precisão intermediária

A precisão intermediária é a concordância das medidas obtidas sob condições que compreendem o mesmo procedimento de medição, o mesmo local e medições repetidas do mesmo objeto ou objetos similares, durante um longo período.⁸ Além do tempo, podem ser incluídos diferentes analistas e/ou equipamentos.^{38,44}

Abordagens a serem seguidas na determinação simultânea da repetibilidade e precisão intermediária são descritas na ABNT NBR ISO 5725-3.⁵⁰ Além disso, um projeto baseado nas diretrizes harmonizadas para validação de método em laboratório oferece a possibilidade de determinar a repetibilidade e a precisão intermediária a partir de um único estudo.^{38,46,50} Assim, subamostras do material selecionado são analisadas em replicação sob condições de repetibilidade em datas diferentes, com variação máxima das condições entre as execuções (dias diferentes, analistas diferentes, equipamentos diferentes etc.).^{38,46,50} Neste caso, a precisão entre os grupos de resultados pode ser determinada através da ANOVA.

2.4.6.3. Reprodutibilidade

A reprodutibilidade diz respeito ao desempenho do método quando aplicado em diferentes laboratórios num programa ou numa comparação interlaboratorial.^{35,44} O critério de aceitação do CV dos resultados obtidos pelos laboratórios deve obedecer a alguma legislação.¹⁸ A AOAC recomenda o que consta na Tabela 4.⁴⁴

Tabela 4. Critérios para aceitação da reprodutibilidade recomendados pela AOAC.

Concentração do analito	Fração Mássica (C)	Unidade	CV
100 %	1	100%	2 %
10 %	10 ⁻¹	10%	3 %
1 %	10 ⁻²	1%	4 %
0,1 %	10 ⁻³	0,1%	6 %
0,01 %	10 ⁻⁴	100 mg kg ⁻¹	8 %
0,001 %	10 ⁻⁵	10 mg kg ⁻¹	11 %
0,0001 %	10 ⁻⁶	1 mg kg ⁻¹	16 %
0,00001 %	10 ⁻⁷	100 µgkg ⁻¹	22 %
0,000001 %	10 ⁻⁸	10 µgkg ⁻¹	32 %
0,0000001 %	10 ⁻⁹	1 µgkg ⁻¹	45 %

Fonte: DOQ-CGCRE 008,2020⁴⁴

O limite de precisão (r) calculado a partir do desvio padrão relativo (S_r) das medidas permite avaliar diferenças entre os resultados das análises replicadas de uma amostra. Para um limite de confiança de 95,45%, o r é calculado por meio da equação 10.^{38,44}

$$r = 2,8. S_r \quad (\text{equação 10})$$

Através da equação 10 pode-se também calcular o limite da precisão intermediária e o limite de reprodutibilidade, a partir do S_r para cada caso.

2.4.6.4. Comparação interlaboratorial

A norma ABNT NBR ISO/IEC 17043⁵¹ define comparação interlaboratorial como “*organização, realização e avaliação de medições ou ensaios no mesmo item ou em itens similares por dois ou mais laboratórios, de acordo com as condições predeterminadas*”. A mesma norma define ensaio de proficiência como “*avaliação do desempenho do participante contra critérios preestabelecidos por meio de comparações interlaboratoriais*”.⁵¹

Estudos interlaboratoriais comparativos avaliam a eficácia e o desempenho de novos métodos e reavaliam métodos já estabelecidos.^{44,51} Caso os resultados não sejam satisfatórios, deve ser efetuado um plano de ações corretivas para verificar as causas e reavaliar a comparação interlaboratorial realizada.^{44,51} As ferramentas estatísticas usadas para a avaliação dos resultados dependem da natureza dos dados, do número de resultados e de laboratórios

participantes.⁴⁴ São diversas as ferramentas para a avaliação estatística como, por exemplo: diferença (D), diferença percentual (% D), erro normalizado (En), escore Z e escore zeta (ζ).⁵¹

2.5. Avaliação da homogeneidade

Na produção de um material candidato à material de referência, a homogeneidade é um parâmetro crítico, pois caso o material não seja homogêneo a repetitividade e a reprodutibilidade dos resultados obtidos na análise do mesmo estarão em desacordo com o que é exigido para este tipo de material.^{7,10,47} O material é dito homogêneo em relação a uma determinada propriedade caso o valor desta, determinado mediante análise de uma amostra de tamanho específico, esteja dentro dos limites da incerteza atribuída.^{10,52} Deve ser demonstrado que uma alíquota do candidato a material de referência represente todo o lote do produto.^{7,47,52,53}

A falta de homogeneidade de um material pode resultar de uma característica inerente a ele (composição ou segregação das partículas), amostragem inadequada, preparação inadequada (moagem e peneiramento) e contaminações durante a preparação.⁵³ Uma homogeneidade aceitável pode ser alcançada pela trituração, peneiramento e mistura do material.^{52,53}

O teste de homogeneidade visa avaliar a variabilidade de uma dada propriedade para cada frasco ou embalagem e entre os frascos do material candidato a MRC, pois a influência destes componentes da incerteza pode ser muito relevante.¹⁰ As análises para avaliar a homogeneidade baseiam-se na repetitividade, ou seja, são realizadas no mesmo laboratório, pelo mesmo analista e na mesma data.¹⁰ É conveniente que a incerteza associada a um único frasco (s_r/\sqrt{n}) seja consideravelmente menor que a incerteza-padrão combinada (esperada) calculada na atribuição do valor de propriedade.

Segunda a norma ISO GUIA 35,⁵² a homogeneidade de um material pode ser avaliada analisando-se porções deste, coletadas aleatoriamente e proporcionalmente ao tamanho do lote, estabelecendo-se um número mínimo de 10 unidades por lote.^{7,10,52,54} Contudo, em alguns estudos^{14,25} foram utilizadas menos que 10 unidades para avaliação do lote. Cada unidade selecionada deve ser analisada duas vezes, sob condições de repetitividade.⁷ O subconjunto do lote pode ser selecionado de modo aleatório, estratificado ou não, ou de modo sistemático.⁵²

Teoricamente, um material é totalmente homogêneo em relação a uma dada propriedade se não houver diferenças entre os valores desta, de uma porção para a outra. Porém, na prática, um material é considerado homogêneo se a diferença entre os valores da propriedade de uma porção para a outra for desprezível em relação à incerteza provinda da sua caracterização (u_{car}).

A avaliação da homogeneidade pode ser feita mediante a equação 11, considerando-se $i = 1, \dots$ (frascos) e $j = 1 \dots n_i$ (medições):⁵²

$$x_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij} \quad (\text{equação 11})$$

Onde:

x_{ij} é o resultado de uma medição individual na avaliação da homogeneidade;

μ é o resultado esperado para x_{ij} ;

A_i e ε_{ij} são os termos correspondentes ao erro para a homogeneidade entre os frascos e ao erro aleatório da medição, respectivamente.

A homogeneidade deve ser avaliada para o material dentro do frasco (DF) e entre frascos (EF). A primeira refere-se aos procedimentos de homogeneização no processo de produção do material.^{52,53} Na prática, uma estimativa exata da homogeneidade DF é impossível, no entanto indica a quantidade mínima de amostra do material para a qual um valor certificado será válido.⁵³ A homogeneidade EF garante que as amostras do material disponíveis para todos os usuários sejam idênticas.⁵³ Convém que as medições sejam feitas de tal forma que uma tendência (*drift*) nas medições possa ser distinguida daquela inerente ao lote das amostras.⁵² A variância “entre frascos” inclui apenas a heterogeneidade entre os frascos, enquanto que a variância “dentro de frascos” inclui a incerteza devido à medição.⁵²

O esquema da Figura 8 mostra o arranjo das amostras onde a subamostragem é possível.⁵² De acordo com o arranjo da Figura 8, múltiplas porções de cada amostra do lote são analisadas individualmente. Após a eliminação de possíveis resultados dispersos, pelo teste de Grubbs, por exemplo, a incerteza é calculada pela ANOVA,^{7,10,14,25,34,54} segundo a equação 12. Neste caso, a variância entre frascos (s_{bb}^2) é idêntica à incerteza padrão quadrática (u_{bb}^2).^{14,25,34,52}

$$s_{bb}^2 = s_A^2 = u_{bb}^2 = \frac{MQ_{entre} - M_{dentro}}{n_0} \quad (\text{equação 12})$$

Onde:

s_{bb}^2 : variância entre frascos;

u_{bb}^2 : incerteza padrão quadrática;

n_0 : número de medidas;

MQ_{entre} : quadrados médios dos resultados entre os grupos (frascos) e

MQ_{dentro} : quadrados médios dos resultados dentro do grupo.

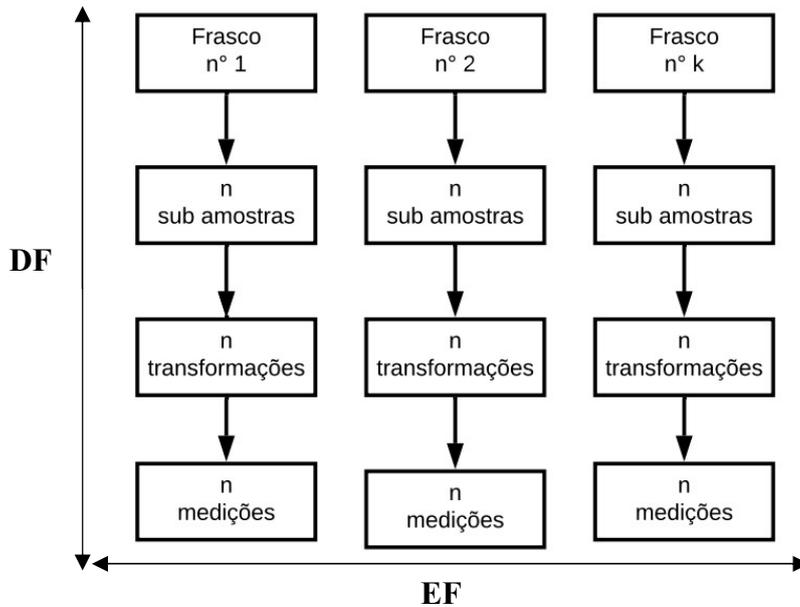


Figura 8. Arranjo dos frascos com amostras do material para avaliação da homogeneidade.

DF: dentro do frasco e EF: entre os frascos.

Quando o valor de $MQ_{entre} > MQ_{dentro}$, a incerteza padrão devido à falta de homogeneidade é equivalente ao desvio padrão entre os grupos (s_{bb}), que pode ser estimado através da equação 12.^{37,55} Quando o desvio padrão entre os frascos (s_{bb}) > incerteza máxima (u_{bb}) detectável no estudo,³⁷ o desvio padrão (s_{bb}) pode ser usado como uma estimativa da incerteza de homogeneidade de todos os frascos.³⁷

Quando $MQ_{entre} < MQ_{dentro}$, é recomendável calcular a contribuição da variação dentro do grupo (frasco) mediante a equação 13.^{37,55}

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MQ_{entre}}{n_0}} \quad 4 \sqrt{\frac{2}{v_{MQ_{dentro}}}} \quad (\text{equação 13})$$

Onde:

u_{bb} : incerteza padrão e

$v_{MQ_{dentro}}$: número de graus de liberdade dentro do grupo (frasco).

A avaliação da homogeneidade DF só é possível quando as unidades de amostras do material candidato podem ser subamostradas, como esquematizado na Figura 9.⁵² Na estimativa da homogeneidade DF sempre estará embutida a repetitividade do método de análise.⁵²

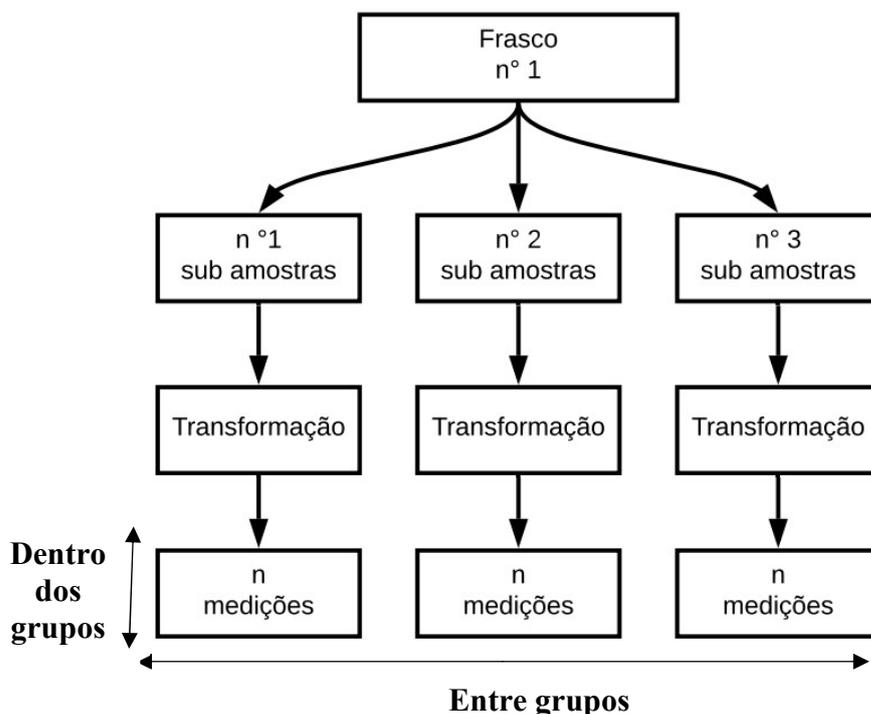


Figura 9. Avaliação da homogeneidade do material candidato num frasco.

Conforme a ABNT NBR ISO 17034,¹ é importante que seja estabelecida a massa mínima de amostra na análise de um MRC. Para avaliar a quantidade mínima que deve ser utilizada para determinado método de análise, na produção do MRC podem ser testadas diversas alíquotas coletadas de um mesmo frasco e como o desvio padrão relacionado com a homogeneidade DF depende do número de partículas que possuem a propriedade avaliada, é possível determinar o número mínimo de partículas ou a massa mínima de material que deve ser utilizado.^{10,52,54,55} A massa mínima que deverá ser utilizada pelo usuário, para que os dados de certificação sejam válidos, será aquela para a qual o CV é igual ao desvio padrão da repetitividade do método de análise (s_r).^{10,52}

2.6. Avaliação da estabilidade

A norma ABNT ISO GUIA 30⁵⁶ define estabilidade como “*capacidade do material de referência manter o valor de uma determinada propriedade dentro de limites especificados por um período de tempo pré estabelecido, quando estocado em condições especificadas*”.^{10,37,55}

É esperado que o MRC seja estável e que resista à degradação provocada pela luz, temperatura, oxidação ou/e ação de micro-organismos. Caso ocorra alguma alteração devido a um destes fatores, isto deverá ser levado em consideração.¹⁰ Sedo assim, na produção do MRC a estabilidade do material candidato a curto e longo prazos é avaliada.^{10,37,55} A curto prazo são avaliadas possíveis alterações que o material possa sofrer em decorrência do seu transporte,

umidade e temperatura.^{10,52} Para avaliar a ação da temperatura, diversos frascos com material candidato são dispostos a temperaturas diferentes e ao longo do período são avaliadas possíveis alterações do material.¹⁰ A longo prazo é avaliado o tempo em que o MRC poderá ser armazenado em condições específicas sem sofrer alteração, denominado “tempo de prateleira”.^{10,52}

A estabilidade do material é avaliada não apenas para reduzir a contribuição da instabilidade para a incerteza da medida, mas também para poder especificar as condições apropriadas de armazenamento e transporte.⁵² A primeira etapa na avaliação dos dados de um estudo de estabilidade consiste em verificar se eles revelam alguma tendência.^{52,55} Alguns autores,⁵⁵ para avaliação da estabilidade a curto prazo, dispuseram os dados de estabilidade graficamente, mostrando as concentrações dos analitos sob diferentes condições em diferentes tempos de armazenamento.⁵⁵ No entanto, os dados podem também ser avaliados estatisticamente através do teste F , que testa não somente a tendência, mas também a significância,⁵² além da ANOVA,^{14,25,34,55}

Para avaliação da estabilidade a longo prazo, a ABNT NBR ISO GUIA 35⁵² indica que não há um modelo físico/químico que descreva realisticamente o mecanismo de degradação de um material de referência. Geralmente é seguido um modelo linear,^{52,55} conforme a equação 14. Segundo este modelo, espera-se que o valor do coeficiente linear (intercepção do eixo das ordenadas), considerando-se a incerteza, seja igual ao valor obtido na caracterização, enquanto a inclinação da reta (coeficiente angular) não deve ser significativamente diferente de zero.^{37,52,55}

$$Y = b_0 + b_1X + \varepsilon \quad (\text{equação 14})$$

Onde:

Y : é o valor na abcissa;

X : é o mensurando;

ε : indica a componente do erro aleatório;

b_1 : coeficiente angular;

b_0 : coeficiente linear;

b_0 e b_1 podem ser obtidos através das equações 15 e 16, respectivamente.

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \quad (\text{equação 15})$$

Onde:

X_i : é a medida do mensurando i ;

\bar{X} : é a média das medidas do mensurando;

Y_i : valor observado na abscissa para o ponto i e

\bar{Y} : é a média dos valores de Y na abscissa.

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 \bar{X} \quad (\text{equação 16})$$

O desvio padrão (s) estimado de b_1 é dado pela equação 17⁵² e o quadrado do desvio padrão (s^2) pela equação 18. O desvio padrão da inclinação (sb_1) fornece uma estimativa da incerteza associada à estabilidade do material produzido.⁵⁵ Para que a propriedade seja considerada estável (concentração de elementos alvo no presente estudo), o intervalo de confiança (IC) da inclinação da curva deve conter o 0 (zero).^{37,55} Além disso, o valor de p deve ser maior que 0,05 (nível de confiança de 95%).⁵⁵

$$s(b_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}} \quad (\text{equação 17})$$

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - b_0 - b_1 X_i)^2}{n - 2} \quad (\text{equação 18})$$

Onde n é o número de medidas. A variância (V) estimada de b_0 é dada pela equação 19.⁵²

$$V(b_0) = V(\bar{Y} - b_1 \bar{X}) = s^2 \left[\frac{1}{n} + \frac{\bar{X}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \right] = \frac{s^2 \sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (\text{equação 19})$$

Se uma tendência for observada, significa que o material não pode ser certificado. Convém que um critério para tal decisão seja baseado na incerteza associada ao valor de propriedade do material de referência, no tempo de prateleira (estabilidade a longo prazo) e na tendência para este período. Se a tendência for significativa para o tempo de prateleira, com

relação à incerteza associada ao valor da propriedade, então o material não pode ser certificado devido à ausência de estabilidade, ou o tempo de prateleira deve ser diminuído.^{37,52,55}

Para estimar a incerteza relativa à estabilidade ao longo do tempo, a equação 20 pode ser utilizada.^{34,55}

$$u_{lts} = t \times s(b_1) \quad (\text{equação 20})$$

Onde:

u_{lts} : estimativa da incerteza a longo prazo;

$s(b_1)$: desvio padrão da inclinação da reta (tempo *versus* valor da propriedade) e

t : prazo de validade estimado.

As incertezas da homogeneidade e estabilidade serão combinadas com a incerteza na etapa de caracterização, para fornecer o valor final da incerteza associada ao material produzido.⁵⁵

Na avaliação da estabilidade a longo prazo, há autores^{14,25} que fizeram avaliações em três períodos de tempo (t_0, t_1, t_2), com uma diferença de dois meses entre eles (segundo o *design* clássico), enquanto outros^{34,54} avaliaram a estabilidade por períodos de 2 a 3 anos.

2.6.1. Avaliação da incerteza da estabilidade na ausência de tendência

A incerteza da estabilidade pode ser avaliada pelo método isócrono ou pelo método clássico.⁵² A diferença entre esses dois métodos é que no clássico há uma fonte adicional de incerteza, que é a variância devida à ausência de repetitividade (s_{lor}^2); este termo indica a estabilidade do sistema de medição.⁵² Por causa desta fonte adicional, a incerteza da instabilidade sempre será maior para o método clássico do que para o isócrono.⁵² Outras fontes de incerteza tais como o desvio padrão das medidas na avaliação da estabilidade (s_{stab}), desvio padrão entre frascos (s_{bb}) e desvio padrão das medidas nas condições de repetitividade (s_r) são computadas nos dois métodos.⁵² A incerteza da estabilidade segundo os métodos isócrono e clássico pode ser calculada através das equações 21 e 22, respectivamente:⁵²

$$\mu^2(y_{ijk}) = s_{stab}^2 + s_{bb}^2 + s_r^2 \quad (\text{equação 21})$$

$$\mu^2(y_{ijk}) = s_{stab}^2 + s_{lor}^2 + s_{bb}^2 + s_r^2 \quad (\text{equação 22})$$

Onde:

$\mu^2(y_{ijk})$: incerteza da estabilidade;

s_{stab}^2 : variância das medidas na avaliação da estabilidade;

s_{bb}^2 : variância entre frascos;

s_r^2 : variância das medidas nas condições de repetitividade e

s_{lor}^2 : variância devida à ausência de repetitividade (método clássico).

O índice i se refere ao tempo, j aos frascos e k às medições repetidas.⁵²

2.7. Atribuição de valores de propriedade

O candidato a MRC é caracterizado com base na exatidão, ou seja, um valor certificado representa a melhor estimativa possível do “valor verdadeiro”.⁵² O modelo para a caracterização pode ser expresso pela equação 23.⁵²

$$X_{MRC} = x_{car} + \delta x_{bb} + \delta x_{lts} + \delta x_{sts} \quad (\text{equação 23})$$

Onde:

X_{MRC} indica o valor da propriedade;

x_{car} indica o valor da propriedade obtido na caracterização do lote ou, no caso de uma caracterização de artefato individual, o valor da propriedade obtido para este artefato;

δx_{bb} indica um componente do erro devido à variação entre frascos e

δx_{lts} e δx_{sts} são componentes do erro devido à instabilidade a longo e curto prazos.

Os valores de propriedade devem ser certificados de modo que a documentação inclua um certificado, elaborado de acordo com o ABNT ISO GUIA 31.¹³ Dependendo do tipo de matriz do material candidato, estabelecer a rastreabilidade do mesmo é um trabalho complexo.⁵² Por mais que a calibração do equipamento para a análise tenha sido por meio de um padrão certificado, etapas de transformação do material de um estado físico para outro não possuem rastreabilidade.⁵² E a transformação de um estado físico, químico ou biológico de uma amostra é, com frequência, uma parte importante do método de análise.⁵² Para avaliar o impacto da transformação, podem ser comparados os resultados das análises da mesma amostra realizadas em diferentes laboratórios. Neste caso, a certificação ocorre com base na concordância entre resultados de medições independentes.⁵² É importante ressaltar que todo o processo de análise, inclusive a medição, exige rastreabilidade, como pesagem da amostra, calibração dos instrumentos, pureza dos reagentes, entre outros.⁵² Na prática, são quatro as abordagens básicas para a caracterização do material candidato:^{10,52}

- 1) Medição segundo um único método primário em um laboratório;^{10,52}
- 2) Medição segundo dois ou mais métodos de referência independentes em um mesmo laboratório;^{10,52}
- 3) Medição segundo um ou mais métodos com exatidão demonstrável por uma rede de laboratórios^{10,52} e
- 4) Medição segundo método específico em uma comparação interlaboratorial.^{10,52}

A abordagem 1) está associada ao risco de os efeitos de matriz e/ou dos interferentes passarem despercebidos, além de ser somente aplicável para métodos primários de medição.⁵² Sendo assim, é recomendado obter ao menos dois resultados independentes mediante métodos independentes, conforme a abordagem 2).⁵² A escolha da melhor abordagem para a caracterização de um material candidato depende, portanto, tanto dos métodos disponíveis como da matriz do material.⁵² Com respeito às abordagens 3) e 4), é pressuposto que a média final de todos os resultados, obtidos a partir da média dos valores de propriedade obtidos em cada laboratório, seja a melhor estimativa do valor de propriedade.⁵² Além disso, sempre que possível, deve ser buscada independência de resultado para cada método, caso contrário o valor certificado seria definido operacionalmente.¹² Os resultados individuais obtidos pelos laboratórios irão contribuir para a incerteza resultante do valor atribuído.¹² A vantagem dessas abordagens reside no fato de que os dados a serem computados não dependem exclusivamente de um laboratório específico (uma fonte potencial de viés sistemático), mas se baseiam em laboratórios diferentes (fontes diferentes), tornando-os mais robustos.¹² O número mínimo de laboratórios participantes do programa varia de acordo com a complexidade das análises. Normalmente, o número mínimo de laboratórios é seis a oito, porém, na prática, dependendo do grau de complexidade, o número é, às vezes, menor.³⁰

No mínimo, duas unidades do material candidato são distribuídas a cada laboratório participante.⁵² Os métodos de análise empregados devem ter sido validados para que possam ser avaliados em relação a critérios de desempenho⁵² e todo o programa interlaboratorial deve seguir um cronograma previamente estabelecido.⁵² Além do mais, informações como transporte, armazenamento e tratamento das amostras deve ser especificado.⁵² Se os laboratórios participantes declararem a incerteza de medição expandida e o fator de abrangência, estes são suficientes para avaliação da contribuição dos dados fornecidos para a incerteza.⁵² Caso não declarem, é recomendado que relatem os dados individuais ao invés da média deles.⁵² O conjunto de dados fornecidos deve ser inspecionado antes de serem aceitos

para inclusão e tratamento a fim de ser definido o valor de propriedade.^{25,52} Nesta avaliação prévia podem ser detectados *outliers* relacionados a possíveis erros e/ou falhas.²⁵

Em alguns estudos,^{14,25} para a atribuição dos valores de propriedade, foram utilizados os resultados obtidos para tempo zero no estudo de estabilidade a longo prazo, de duplicatas de dois ou três frascos do lote.^{14,25} Já em outros trabalhos foi utilizado como valor de propriedade o valor médio obtido em ocasiões diferentes no estudo de estabilidade a longo prazo do material.⁵⁴

Uma vez estabelecidos os valores de propriedade, eles são válidos para o MRC durante o período de validade deste.¹³ Na medida em que um valor de propriedade de um MRC é determinado com uma incerteza bem definida, tal valor de propriedade pode ser utilizado como referência para fins de comparação ou transferência.^{12,13} Assim, o MRC auxilia na transferência da medição, no tempo e no espaço, de modo similar aos instrumentos de medição e medidas materializadas.¹³ O MRC e os valores de propriedade a ele atribuídos devem ser estáveis por um período de tempo aceitável, sob condições realistas de armazenamento do MRC, transporte e utilização.¹³ Ele deve ser homogêneo, para que os valores de propriedade medidos em uma porção do lote se apliquem a qualquer outra porção dele, dentro dos limites aceitáveis de incerteza.¹³

O valor de propriedade deve ser declarado juntamente com a incerteza expandida U e o fator de abrangência k .⁵² A atribuição do valor estimado de propriedade somente é útil quando há concordância entre métodos e/ou laboratórios.⁵² Pequenas discrepâncias podem ser resolvidas introduzindo-se um componente adicional de incerteza, considerando-se este efeito. Se houver concordância entre os laboratórios que aplicam um método particular, então uma certificação dependente do método pode ser considerada, resultando em valores de propriedade dependentes do método.⁵²

A evidência da rastreabilidade metrológica do valor de propriedade certificado a uma referência declarada (idealmente para o SI) deve ser documentada.¹²

2.7.1. Incerteza de medição

Segundo o VIM,⁸ a incerteza é “*um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão de valores que poderiam ser razoavelmente atribuídos ao mensurando*”.⁵⁷ A incerteza de medição compreende, em geral, muitos componentes.⁵⁷ Alguns destes componentes podem ser estimados com base na distribuição estatística dos resultados das medições e podem ser caracterizados pelos desvios padrão experimentais.⁵⁷ Os outros

componentes podem ser caracterizados também por estes desvios ou por meio de distribuição de probabilidades assumidas, baseadas na experiência ou em outras informações.⁵⁷

A referência base para qualquer avaliação de incerteza de medição é o ISO GUM.^{52,67} Na prática, a incerteza pode provir de muitas fontes possíveis como, por exemplo: amostragem, interferências, incerteza da quantidade de massa pesada e frascos volumétricos, variação aleatória, entre outros.^{52,57,67}

Na avaliação da incerteza total, pode-se tratar cada fonte de incerteza separadamente para se obter a contribuição de cada fonte. Cada uma das distintas contribuições de incerteza é chamada de incerteza padronizada e, se existir qualquer correlação entre quaisquer componentes, isto deve ser levado em consideração.^{52,57}

A combinação de todas as incertezas padronizadas, obtida pela combinação de todos os componentes da incerteza, independentemente de como foram avaliados, usando a propagação da incerteza, é chamada de incerteza padrão combinada (μ_c).^{52,57} Para a maioria das aplicações em Química Analítica é utilizada a incerteza expandida (U).^{52,57} Esta compreende um intervalo de valores dentro do qual se acredita, com alto nível de confiança, que esteja o valor do mensurando.^{52,57} U é obtido pela multiplicação de μ_c por um fator de abrangência k .^{52,57} A escolha do fator k é baseada no nível de confiança desejado.^{52,57} O fator k deve ser sempre declarado, de forma que μ_c da grandeza medida possa ser usada no cálculo da incerteza de outros resultados de medição que possam depender desta grandeza.^{52,57} A Figura 10 ilustra as etapas envolvidas na estimativa da incerteza de medição.

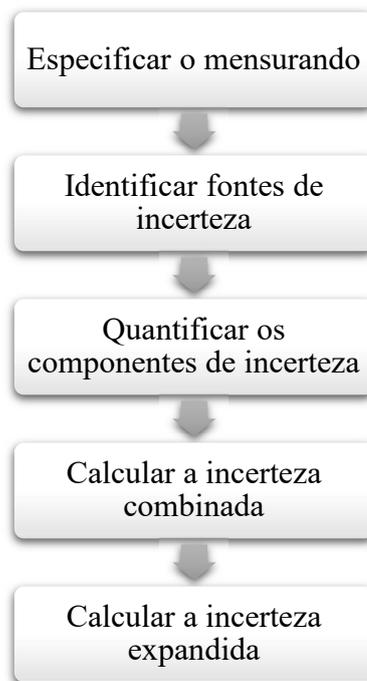


Figura 10. Etapas envolvidas na avaliação da incerteza de medição.

Na avaliação da incerteza para um candidato a MRC, deve-se estimar a incerteza expandida (U),^{10,52} para a qual três modelos podem ser considerados.⁵²

- 1) Modelo teórico: descreve as relações entre as variáveis que influenciam num procedimento de medição e o valor de propriedade;
- 2) Modelo empírico: descreve as relações pressupostas entre as variáveis aleatórias e certos parâmetros da distribuição;
- 3) Modelo semi-empírico ou misto, que engloba os modelos 1) e 2).

O modelo empírico baseia-se no uso da ANOVA e os modelos teóricos e/ou semi-empíricos baseiam-se no ISO GUM.^{52,67}

Considerando-se o modelo semiempírico, a incerteza expandida U é obtida pela multiplicação da incerteza padrão combinada μ_c por um fator de abrangência (k), conforme equação 24. A escolha do fator k é baseada no grau de confiança desejado.^{10,57}

$$U = k \cdot \mu_c \quad (\text{equação 24})$$

A incerteza para um MRC leva em consideração as incertezas associadas aos testes de homogeneidade, estabilidade e caracterização do material.¹⁰ A incerteza expandida U associada ao valor de propriedade de um MRC pode ser expressa pela equação 25.^{10,14,25}

$$U_{MRC} = k \cdot \sqrt{\mu_{car}^2 + \mu_{bb}^2 + \mu_{sts}^2 + \mu_{lts}^2} \quad (\text{equação 25})$$

Onde:

k é o fator de abrangência para obter a incerteza expandida U , assumindo-se que o intervalo $[x-U, x+U]$ contém grande fração de valores que podem ser atribuídos à propriedade a ser certificada;

μ_{car} : incerteza da caracterização;

μ_{bb} : incerteza da homogeneidade;

μ_{sts} : incerteza da estabilidade a curto prazo e

μ_{lts} : incerteza da estabilidade a longo prazo.

O valor numérico encontrado para a propriedade e a incerteza expandida não podem ser dados com um número excessivo de dígitos. Segundo a Eurachem⁵⁷ e o ISO GUM,⁶⁷ o número recomendado de algarismos significativos para a incerteza é dois dígitos; os resultados devem ser arredondados para serem coerentes com a incerteza obtida.

Componentes de incerteza agregados podem ser definidos para que possam ser aproveitados dados relacionados com os resultados obtidos na etapa de validação.⁵² A ANOVA pode ser particularmente útil na avaliação da homogeneidade e estabilidade do material.⁵² A escolha de um fator de abrangência baseia-se no nível de confiança requerido (frequentemente 95%), na função de densidade de probabilidade do resultado e no número de graus de liberdade.^{10,14,25,52} Quando o número efetivo de graus de liberdade é considerado baixo, a distribuição *t-Student* pode ser utilizada ao invés de se atribuir um fator de abrangência.⁵²

Além das fontes de incerteza já mencionadas, é recomendado que outras fontes encontradas no procedimento de medição também sejam incluídas no modelo (equação 25).^{52,57} Algumas incertezas associadas aos métodos de medição contêm componentes de incerteza agregados, ou seja, componentes que dependem de outras componentes.⁵² Estas componentes podem levar a covariâncias e a avaliação destas juntamente com correlações existentes é fundamental para uma estimativa correta da incerteza padrão combinada (μ_c).⁵²

2.7.2. Certificado do MRC

Após a caracterização do material, atribuição dos valores de propriedade e cálculo da incerteza associada, um certificado do MRC é elaborado.¹⁰ A ABNT ISO GUIA 31^{13,70} recomenda todos os itens que um certificado de análise deve conter, que inclui: título do certificado, identificação unívoca do produto, data da emissão do certificado, lote, descrição do

produto (tais como características físicas, forma do material, origem do material, indicação se o material é natural ou sintético, indicação da presença ou ausência de contaminantes ou interferentes), valores atribuídos e incertezas associadas, rastreabilidade, métodos/procedimentos empregados para a obtenção dos valores de propriedade, declaração do uso pretendido, instruções para uso e armazenamento, instruções para situações de emergência ou risco, nível de homogeneidade e quantidade mínima do material que deve ser utilizado e identificação do produtor (nome, localização, telefone, endereço eletrônico etc.).

3. Objetivos

O objetivo geral desta tese foi a preparação, produção e certificação de MRC de pilha alcalina, segundo a ABNT NBR ISO 17034, com a finalidade de atender as necessidades de rastreabilidade metrológica dos laboratórios acreditados no Brasil e outros. Pretende-se seguir todas as etapas envolvidas no processo de acreditação junto ao INMETRO, signatário do reconhecimento mútuo do ILAC.

Os objetivos específicos foram:

- 1) Avaliar os principais materiais utilizados na produção de pilhas alcalinas com vistas à produção de MRC.
- 2) Estudar a homogeneidade e estabilidade de materiais candidatos.
- 3) Validar o método de análise dos materiais, para determinação de Pb, Cd e Hg por ICP OES.
- 3) Analisar amostras dos materiais candidatos por ICP OES para atribuição das concentrações de Pb, Cd e Hg.
- 4) Estimar a incerteza total.
- 5) Determinar os valores de propriedade - concentrações de Pb, Cd e Hg.
- 6) Atender a todos os requisitos da ANBT NBR ISO 17034 para futura acreditação do material, no Brasil.

4. Parte Experimental

4.1 Preparação dos materiais candidatos a MRC

A produção dos materiais até a certificação dos mesmos seguiu as etapas apresentadas na Figura 11. Com exceção da última etapa, as demais já foram concluídas.

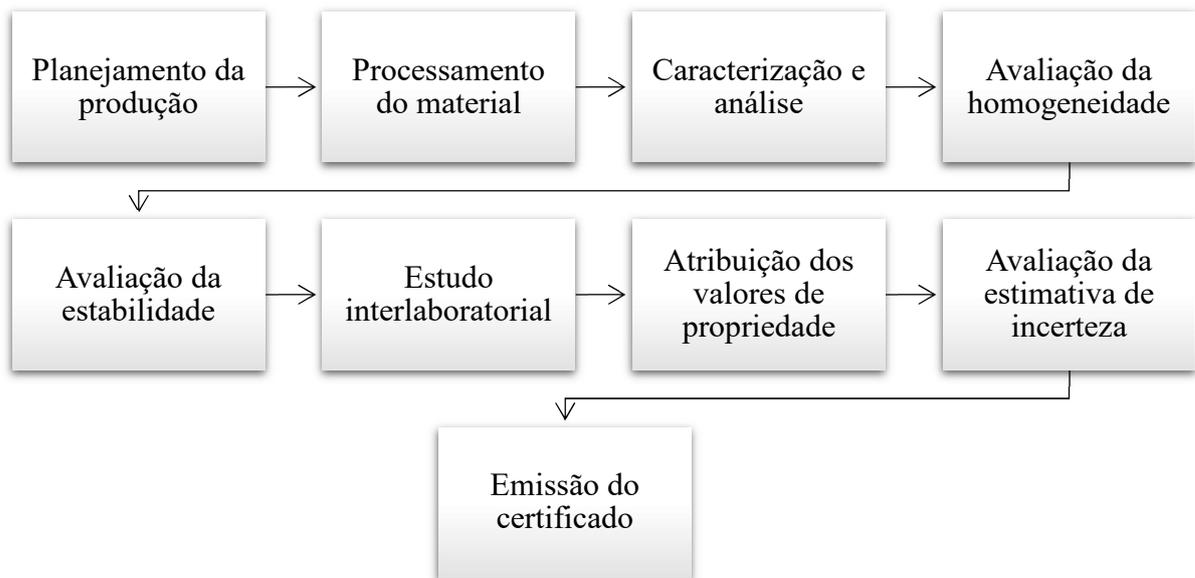


Figura 11. Etapas de produção dos MRCs, tendo como referencias as normas ABNT NBR ISO 17034,¹ ISO GUIA 30⁵⁸ e ISO GUIA 35.⁵²

4.1.1. Seleção do material

No intuito de produzir MRCs com as mesmas características das matrizes do cátodo e ânodo de pilha alcalina, foi realizada a segregação/separação mecânica dos componentes da pilha. Os elementos tóxicos estão preponderantemente no ânodo (formado de zinco em pó) e no cátodo (formado de dióxido de manganês) da pilha.³¹ Sendo assim, somente estas partes da pilha foram consideradas. Para simular o cátodo foram ainda avaliados zinco em pó de grau p.a (Synth, Brasil) e para simular o ânodo foi avaliado MnO_2 também de grau p.a. (Merck, Alemanha), denominados de matriz comercial, como esquematizado na Figura 12.

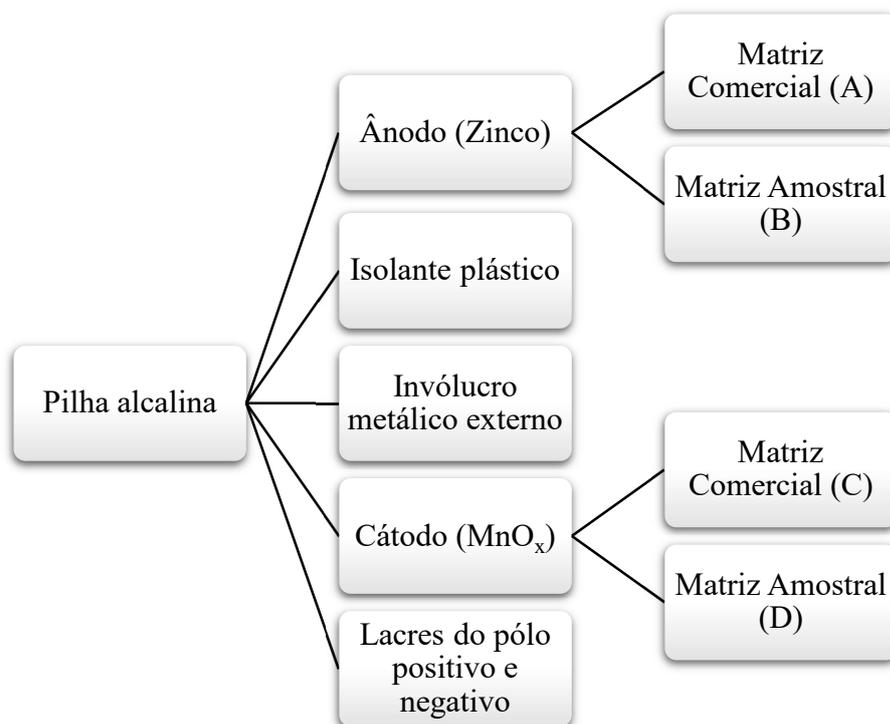


Figura 12. Detalhamento das amostras representativas do cátodo e ânodo de pilhas alcalinas.

Para a matriz amostral, diversas pilhas alcalinas do tipo AA foram descarregadas, desmontadas manualmente e as partes segregadas. Os filmes plásticos, partes metálicas e de papel foram descartados. Foram amostrados o ânodo e o cátodo de cada pilha, os quais representavam em média 30% e 55% da massa da pilha, respectivamente. Após, as amostras foram aquecidas durante 24 h a 105 °C em forno mufla (modelo S36SD, Biopar, Brasil).

4.1.2. Preparação dos materiais

As amostras B e D foram trituradas separadamente mediante um triturador de facas (Cutting Mill SM 200, Retsch, Alemanha). Após a trituração, o material foi passado através de peneira com malha de 1 mm (Retsch, Alemanha). O material retido na peneira foi novamente triturado, até que todo ele passasse através da peneira e o tamanho das partículas fosse ≤ 1 mm. Subsequentemente, o material foi triturado em um moinho de bolas (modelo Cryomill, Retsch) para redução do tamanho das partículas. Ao final da trituração, o material foi peneirado manualmente em peneira metálica com malha de 0,25 mm (ASTM 60, Bertel, Brasil). As etapas envolvidas no preparo dos materiais correspondentes às amostras B e D são resumidas no fluxograma esquematizado na Figura 13. Os materiais correspondentes às amostras A e C (Zn metálico em pó e MnO₂) não passaram pelo processo de moagem.

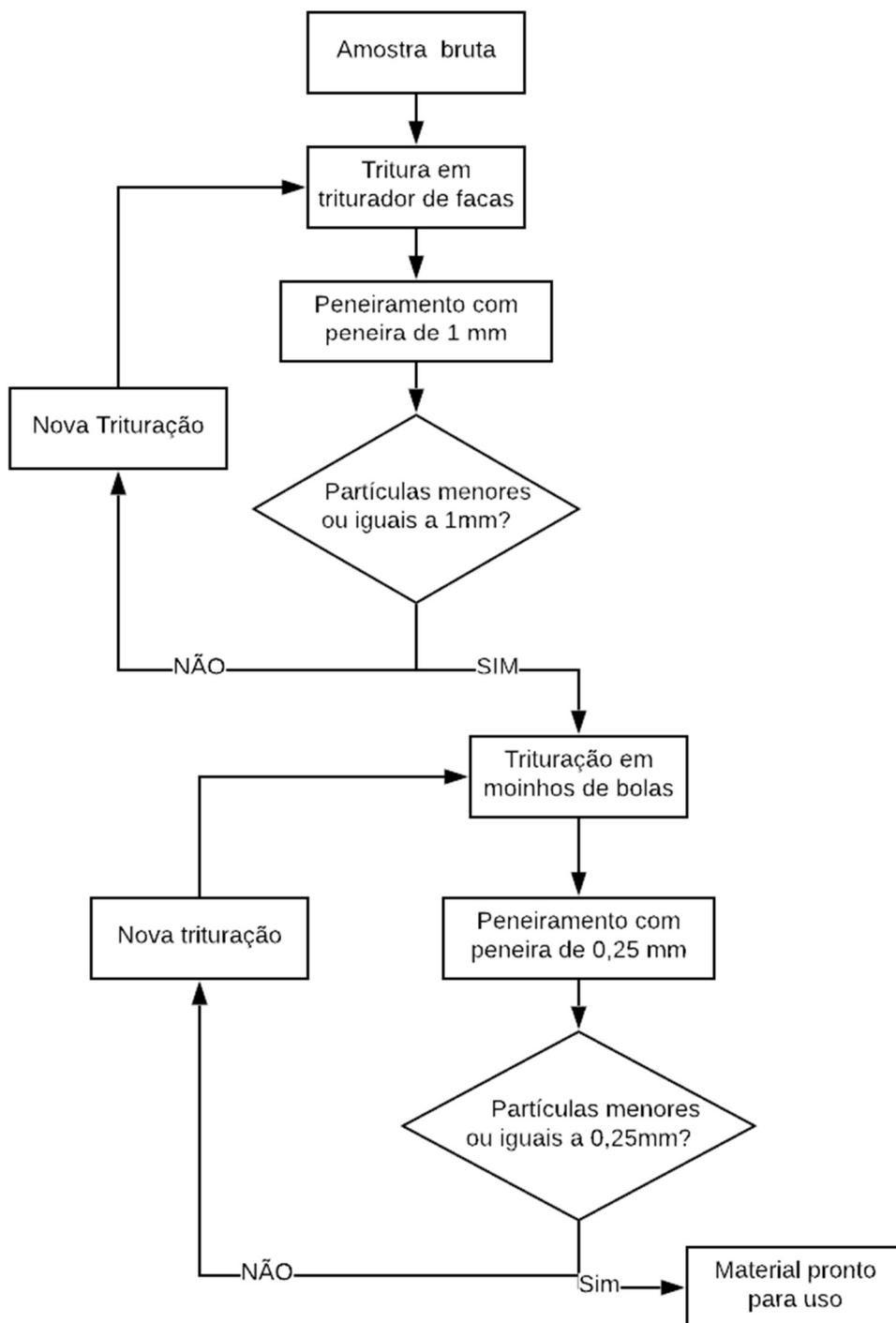


Figura 13. Fluxograma das etapas da preparação do material correspondente ao cátodo e ânodo de pilhas alcalinas (amostras B e D).

4.1.3. Caracterização dos materiais

Após a preparação dos materiais correspondentes ao cátodo e ânodo de pilhas alcalinas (amostras B e D), o tamanho das partículas constituintes dos quatro materiais (amostras A, B, C e D) foi determinado em um analisador de partículas (Cilas, modelo Particle Size Analyzer

1180). Para avaliar a estabilidade dos materiais quanto a reações potencialmente perigosas e para estimar a temperatura em que estas reações poderiam ocorrer, foi realizada análise dos materiais por calorimetria diferencial exploratória (DSC).⁵⁹ Esta análise é recomendada como teste inicial para detectar potenciais riscos de uma substância química ou mistura não caracterizada.⁵⁹ Além disso, pode-se verificar uma mudança de entalpia e a temperatura aproximada em que esta ocorre, estimar a entalpia da substância e a observância de efeitos devidos ao ambiente atmosférico.⁵⁹ A DSC foi realizada mediante um equipamento TA Instruments Q2000, a uma taxa de aquecimento de 10 °C minuto⁻¹ e taxa de resfriamento também de 10 °C minuto⁻¹, sob vazão de 50 mL minuto⁻¹ de N₂. Para a avaliação da garantia dos resultados, foi analisado um MRC de zinco (LGC 2611), em cujo certificado a temperatura de fusão informada é (419,53 ± 0,02) °C.

Após avaliação do comportamento térmico, cada material foi pesado em balança semi-analítica (resolução de 0,001g, modelo BK 500, Gehaka, Brasil) e em seguida enriquecido com Pb, Cd e Hg, por meio da adição de Pb(NO₃)₂ (Emsure®, Merck, Alemanha), Cd(NO₃)₂.4H₂O (Sigma-Aldrich, USA) e Hg(NO₃)₂H₂O (Química moderna, Brasil). Estes sais foram pesados em balança analítica (resolução de 0,0001 g, modelo AUX320, Shimadzu, Japão). A quantidade de material preparado para cada matriz foi 1 kg e a quantidade adicionada de cada sal é informada na Tabela 5.

Tabela 5. Quantidade de cada sal adicionado às amostras dos materiais candidatos (vide a Figura 12).

	(Pb(NO ₃) ₂ , g	Cd(NO ₃) ₂ .4H ₂ O, g	Hg(NO ₃) ₂ H ₂ O, g
Amostra A	1,7645	1,9587	0,6885
Amostra B	1,8834	2,0132	0,6850
Amostra C	9,2514	0,9713	0,5273
Amostra D	9,4271	1,1130	0,5543

Após a adição dos sais, as misturas foram homogeneizadas em um misturador do tipo Y (modelo MA 201/5MO, Marconi, Piracicaba, Brasil) durante três ciclos de 60 minutos.

4.1.4. Verificação das condições ambientais

Os materiais foram armazenados em ambiente com temperatura (20 ± 5) °C e umidade relativa do ar (50 ± 10) % controladas, através de um termo-higrômetro (Cotronic, Brasil) com

calibração junto a Rede Brasileira de Calibração (RBC) (Cal 0024). Conforme recomendação da norma ABNT NBR ISO 17034,¹ toda a preparação do material (abertura, peneiramento, adição dos elementos alvo, homogeneização e envase) foi conduzida em capela de fluxo laminar classe 100 (Marconi, Brasil).

4.1.5. Envasilhamento

Após a etapa de homogeneização, os materiais foram envasilhados em frascos de vidro borossilicato com capacidade para conter 40 mL, os quais foram fechados com tampa rosca feita de plástico. Os frascos haviam sido previamente descontaminados por contato com HNO₃ 10% (v/v) durante 4 horas e depois deixados secar em capela de fluxo laminar. Foram pesados em balança analítica (resolução 0,00001g, modelo AUD 220DW, Shimadzu, Japão) 10 gramas de cada material e transferidos para frascos independentes. Foram preparadas 50 unidades (frascos) de cada um dos materiais. Nas Figuras 14 e 15 são mostradas fotografias dos frascos, detalhando a numeração no rótulo.

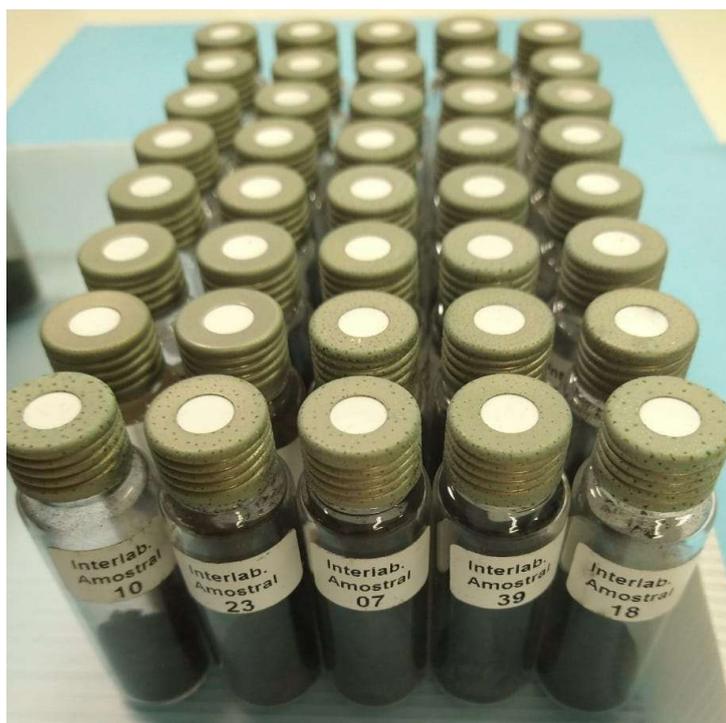


Figura 14. Lote de frascos com a amostra D (cátodo de pilha alcalina).



Figura 15. Frasco contendo a amostra C (MnO_2 comercial).

4.1.6. Determinação da umidade residual

Para a determinação da umidade residual dos materiais candidatos a material de referência, selecionou-se aleatoriamente 2 frascos de cada um deles. A umidade residual foi avaliada por análise termogravimétrica (TGA), cujo princípio é a variação da massa da amostra em função da variação controlada da temperatura e/ou tempo. A TGA foi realizada mediante uma termobalança TGA Q50 (TA Instrument), onde cerca de 10 mg de cada material foram submetidos às condições que seguem; temperatura final para MnO_2 e cátodo de pilha alcalina: 570 °C, temperatura final para Zn e ânodo de pilha alcalina: 500 °C; taxa de aquecimento: 10 °C min^{-1} ; vazão de N_2 sobre a amostra: 60 mL min^{-1} e vazão de N_2 na balança: 40 mL min^{-1} . Um padrão de zinco (NIST SRM 682) foi usado para calibrar a termobalança.

4.2. Determinação dos elementos alvo por ICP OES

4.2.1. Padrões e reagentes

Foram utilizados os padrões certificados NIST 3128 contendo (9.995 ± 14) mg kg^{-1} de Pb, NIST 3108 contendo (10.007 ± 27) mg kg^{-1} de Cd e NIST 3133 contendo (10.000 ± 40) mg kg^{-1} de Hg. Para avaliar a exatidão foram usados os MRCs Accustandard ICP-08N-1, Accustandard ICP-29N-1 e Accustandard ICP-34N-1, para Cd, Pb e Hg, respectivamente. Para a digestão das amostras foi utilizado HNO_3 65% em massa (grau analítico, Merck, Alemanha) e para a preparação de soluções de limpeza foi utilizado HCl 37% em massa (grau analítico, Merck, Alemanha). Todas as soluções e amostras foram preparadas com água tipo 1, conforme

a ISO 3696,⁶⁰ que no presente trabalho foi água ultrapura com resistividade mínima de 18.2 MΩcm (purificada em sistema Ultrapure Direct-Q da Millipore, Estados Unidos)

Para a preparação das soluções foram utilizados balões volumétricos (Brand, Alemanha), micropipetas digitais (Transpette e Brand, Alemanha) e balança analítica (resolução de 0,00001 g, modelo AUX320, Shimadzu). Os equipamentos, balões volumétricos e micropipetas eram todos calibrados à RBC, para garantir a rastreabilidade das medições.

Para a determinação de Hg por geração de vapor frio, foi utilizada solução de borohidreto de sódio (NaBH₄) 0,5% m/v (grau analítico, Sigma-Aldrich, Estados Unidos) em hidróxido de sódio (NaOH) 0,2% m/v (grau analítico, Emsure, Merck) e HCl 5% v/v (grau analítico, Merck).

4.2.2. Decomposição das amostras dos materiais preparados

Aproximadamente 500 mg de amostra foram exatamente pesados em balança analítica (resolução de 0,00001 g, modelo AUD 200DW, Shimadzu) calibrada à RBC (Cal 0013). À massa de amostra pesada foram adicionados 8 mL de HNO₃ e 2 mL de água em frasco reacional que acompanha o forno micro-ondas (Speedwave 4, Berghof, Alemanha). As amostras foram decompostas em triplicata, de acordo com o programa detalhado na Tabela 6.

Tabela 6. Programa do forno micro-ondas utilizado para decomposição das amostras dos materiais.

Etapa	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Tempo (min.)	Potência (%)
1	160	40	15	90
2	225	40	25	90
3	200	40	10	90
4	100	40	10	90
5	50	40	1	0

As soluções obtidas na decomposição das amostras foram filtradas através de filtro de membrana de nitrocelulose com porosidade de 0,45 μm em um sistema de filtração à vácuo (Sartorius, Alemanha), composto por *holder* de vidro adaptado a frasco Erlenmeyer com capacidade para 250 mL. Os filtrados foram recolhidos em balões volumétricos de 100 mL (Brand, Alemanha), cujo volume foi completado com água ultrapura, para posterior determinação de Pb, Cd e Hg. As soluções obtidas das amostras de MnO₂ comercial e cátodo

de pilha alcalina foram ainda diluídas 10 vezes para a determinação de chumbo por ICP OES. As etapas de preparação das amostras, desde a pesagem até obtenção da solução final, são resumidas na Figura 16.

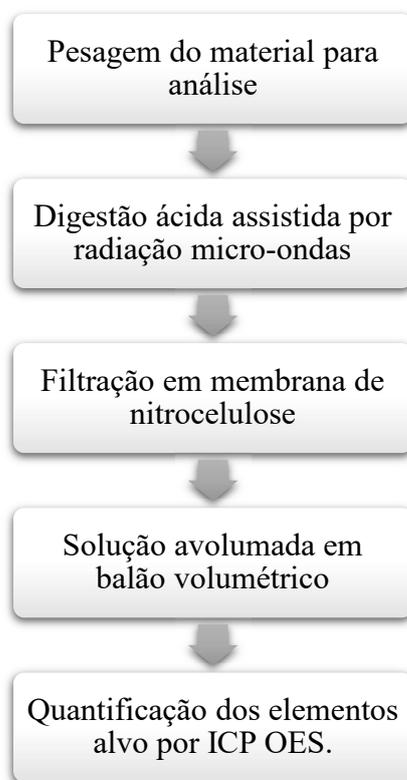


Figura 16. Sequência das etapas de preparação das amostras para obtenção das respectivas soluções.

4.2.3. Calibração

Foram preparadas três curvas de calibração a partir dos padrões citados no item 4.2.1. Para uma das curvas de calibração as soluções foram preparadas em HNO₃ 5% v/v, enquanto para as demais curvas as soluções de calibração foram preparadas em meio contendo também Zn e Mn em concentrações correspondentes àquelas dos dois elementos nas soluções das amostras, a fim de avaliar os efeitos da matriz e interferência espectral.^{3,45,61,62} Cada curva de calibração foi composta por 5 pontos, correspondendo a 5 soluções com concentrações diferentes do analito. As faixas de concentração das soluções de calibração preparadas foram 0,025 - 0,140 mg L⁻¹ de Cd; 1,0 - 11,0 mg L⁻¹ de Pb e 0,010 - 0,100 mg L⁻¹ de Hg.

4.2.4. Análise por ICP OES

Para a análise elementar foi utilizado um espectrômetro de ICP OES da marca Thermo Scientific (modelo ICAP 6200, *dual view*). Como gás do plasma, de nebulização, purga e

auxiliar foi utilizado o argônio com pureza de 99,9992% (White Martins/Praxair, Brasil). Os parâmetros instrumentais e as condições de operação do instrumento de ICP OES utilizadas neste trabalho estão resumidos na Tabela 7.

Para a geração de vapor frio de Hg e introdução do vapor no ICP, um sistema de geração de hidretos (HGX-200, Cetac Technologies, USA) foi acoplado ao instrumento de ICP OES. O HGX-200 é um sistema específico para a geração de hidretos voláteis e/ou a redução de mercúrio para Hg⁰ (vapor frio). Se comparado com a nebulização pneumática, o HGX-200 quando utilizado para introduzir a amostra no ICP pode reduzir em até 10 vezes o LD do Hg.

Tabela 7. Parâmetros instrumentais e condições de operação do instrumento de ICP OES.

Parâmetro	Condição
Potência da radiofrequência	1150 W
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15,0
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	0,5
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,5
Vazão da amostra (mL min ⁻¹)	1,5
Vista de observação do plasma	Axial
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Ciclônica
Replicatas	5
Comprimento de onda (nm)	Pb 220,353 (II) ; Cd 214,440 (II); Hg 184,950 (I)

As concentrações dos elementos alvo (Pb, Cd e Hg) nos materiais candidatos foram calculadas conforme a equação 26.

$$\text{Concentração}(x) = \frac{C_a \times V_d \times F_d}{m_a} \quad (\text{equação 26})$$

Onde:

Concentração (x): concentração (mg g⁻¹) do elemento determinado na amostra;

x: elemento sob determinação;

C_a: Concentração do elemento alvo na solução da amostra digerida (mg L⁻¹);

V_d: Volume de solução da amostra digerida (L);

F_d: Fator de diluição da solução da amostra, caso utilizado (adimensional) e

m_a: massa da amostra (g).

Amostras dos materiais foram analisadas antes e após a adição dos sais indicados na Tabela 5. Porém, os elementos alvo não foram detectados nos materiais antes da adição dos sais. A preparação das amostras e a análise dos materiais foram realizadas em laboratório acreditado à norma ABNT NBR ISO/IEC 17025, na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

4.3. Avaliação/estimativa da homogeneidade do material

Para a avaliação da homogeneidade foram selecionadas aleatoriamente (através da ferramenta de números aleatórios do programa Microsoft Office Excel^{10,25,52,55}) 10 unidades (os frascos de número 4, 7, 10, 18, 19, 23, 27, 38, 46 e 50) de cada lote de material. Alíquotas do material contido em cada frasco foram analisadas em triplicata, conforme descrito nos itens 4.2.2, 4.2.3 e 4.2.4. Os resultados obtidos foram estatisticamente tratados por meio da ANOVA para determinar a homogeneidade EF e DF^{10,14,26,55,54}.

4.3.1. Estimativa da massa mínima do material a ser utilizado na análise

Para a avaliação da massa mínima necessária, selecionou-se aleatoriamente três frascos de cada lote preparado. Foram analisadas alíquotas de 100, 250, 500 e 1000 mg, todas elas em triplicata, conforme descrito no item 4.2. Os resultados obtidos foram estatisticamente tratados por meio da ANOVA de fator único, sendo que a precisão foi avaliada através do CV.

4.4. Avaliação da estabilidade do lote

Para a avaliação da estabilidade em curto prazo foram escolhidos aleatoriamente três frascos do lote, mediante programa de números aleatórios do Microsoft Office Excel^{27,67,68}. Um dos frascos foi submetido a 40 °C e 80% de umidade relativa do ar (u.r.) em uma câmara climática (WK1, série 1000, Weis, Alemanha) com temperatura controlada durante 30 dias; outro frasco à temperatura de 25 °C e u.r. de 80% e o outro frasco à temperatura ambiente e u.r. de 50%, ambos por um período de 30 dias. Estudos anteriores^{14,25,37,54} apontam que testes de estabilidade são normalmente realizados para dois frascos de material à temperatura ambiente e a 40 °C, sendo relatado que o Pb, Cd e Hg em sucos²⁵, cosméticos¹⁴ e cogumelos⁵⁴ mantiveram-se estáveis.

Após 30 dias, o material em cada um dos frascos foi analisado em duplicata, conforme descrito no item 4.2. Salienta-se que, segundo estudo prévio,⁵² o prazo de 2 semanas já se mostrou viável para as temperaturas testadas. Em todo o caso, convém que a avaliação da

estabilidade em curto prazo sejam incluídas temperaturas que possam existir durante o transporte.⁵²

Para a avaliação da estabilidade em longo prazo, três frascos do lote foram selecionados aleatoriamente através do programa do Microsoft Office Excel.¹⁰ Estes frascos foram armazenados à temperatura ambiente e, bimestralmente, durante um período de 12 meses, os elementos alvo foram determinados como descrito no item 4.2.

4.5. Atribuição do valor de propriedade

A norma ABNT ISO GUIA 35⁵² indica quatro abordagens de caracterização do material, apresentadas no item 2.7. Considerando-se os objetivos propostos, a caracterização ideal seria por meio de medições feitas por uma rede de laboratórios, mediante um ou mais métodos com exatidão demonstrável, segundo a abordagem 3. Porém, segundo este mesmo documento, o número mínimo de laboratórios participantes é seis a oito. No presente trabalho somente três laboratórios quiseram participar e, portanto, a abordagem 1 foi seguida.

4.6. Ensaio de proficiência

Resultados de estudo interlaboratorial colaborativo ou comparação com outros métodos nem sempre são relatados no desenvolvimento de um MRC^{67,68} e isto pode ser devido à dificuldade de encontrar laboratórios parceiros para participar. Um estudo publicado⁷¹ relata o emprego de diferentes técnicas de quantificação e os resultados encontrados sendo comparados com a mediana dos resultados obtidos por um laboratório de referência. No presente estudo, os laboratórios inicialmente receberam um convite para participar do programa interlaboratorial. Este programa foi denominado “Programa de Comparação Interlaboratorial para Pilhas e Baterias”, detalhando os objetivos do programa, campo de aplicação, documentos complementares, siglas, definições, confidencialidade, responsabilidades, dados dos materiais a serem analisados, envio e recebimento dos materiais, detalhamento das medições, serviço de medição, valores de referência, relatório, cronograma de participação, apresentação dos resultados e método estatístico a ser aplicado.

A cada participante foi enviada uma ficha de inscrição para preenchimento. Foram enviados convites a 6 laboratórios acreditados e somente 3 deles aceitaram participar, aos quais foram enviadas amostras dos materiais. A Comparação interlaboratorial foi realizada com a participação de três laboratórios acreditados que atuam na determinação de metais em pilhas e baterias. Os laboratórios foram identificados pelas letras A, B e C e os resultados informados por eles foram comparados com os obtidos no laboratório onde o presente trabalho foi realizado

(laboratório de referência). Nos laboratórios A e C as amostras dos materiais foram analisadas por ICP OES, enquanto no laboratório B elas foram analisadas por espectrometria de absorção atômica (AAS).

Os testes de distribuição normal e de Grubbs foram aplicados para detecção de resultados discrepantes (*outliers*) apresentados pelos participantes. O desempenho dos laboratórios foi avaliado através do erro normalizado (E_n), de acordo com a norma ISO 13528:2005.⁶³ Foi solicitado aos laboratórios para declararem a incerteza de medição, para que fosse possível avaliar o desempenho deles.

4.6.1. Avaliação do desempenho dos laboratórios

A avaliação do desempenho dos laboratórios participantes foi feita através do E_n calculado conforme a equação 27.⁵¹ O resultado foi relatado como “satisfatório” se $|E_n| \leq 1$ e “insatisfatório” se $|E_n| > 1$.

$$E_n = \frac{x-X}{\sqrt{U_{lab}^2 + U_{ref}^2}} \quad (\text{equação 27})$$

Onde:

x : resultado fornecido pelo laboratório participante;

X : resultado obtido pelo laboratório de referência, que no presente trabalho será o valor de propriedade;

U_{lab} : incerteza expandida do resultado fornecido pelo participante;

U_{ref} : incerteza expandida do valor de propriedade.

4.7. Cálculo da incerteza

O cálculo da incerteza foi realizado segundo o modelo clássico, uma vez que as amostras foram produzidas em um único lote. Porém, as análises foram realizadas em laboratório sob condições de reprodutibilidade, o que eleva a incerteza, pois a instabilidade do sistema de medição também é incluída.⁵²

As fontes de incerteza foram identificadas separadamente, conforme esquematizado na Figura 17, as quais contribuíram para a incerteza expandida, estimada conforme a equação 25. No diagrama de causa e efeito apresentado na Figura 18 estão identificadas todas as fontes de incerteza do método sob estudo.

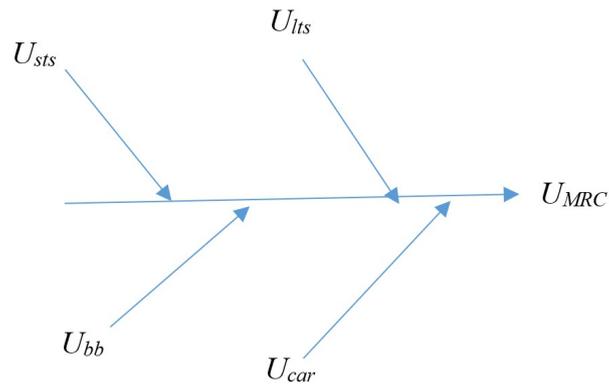


Figura 17. Diagrama de causa e efeito da incerteza para o MRC (U_{MRC}) produzido.^{14,25,52,57}
 U_{car} : incerteza expandida da caracterização; U_{sts} : incerteza expandida provinda da estabilidade a curto prazo; U_{bb} : incerteza expandida provinda da homogeneidade e U_{lts} : incerteza expandida provinda da estabilidade a longo prazo.

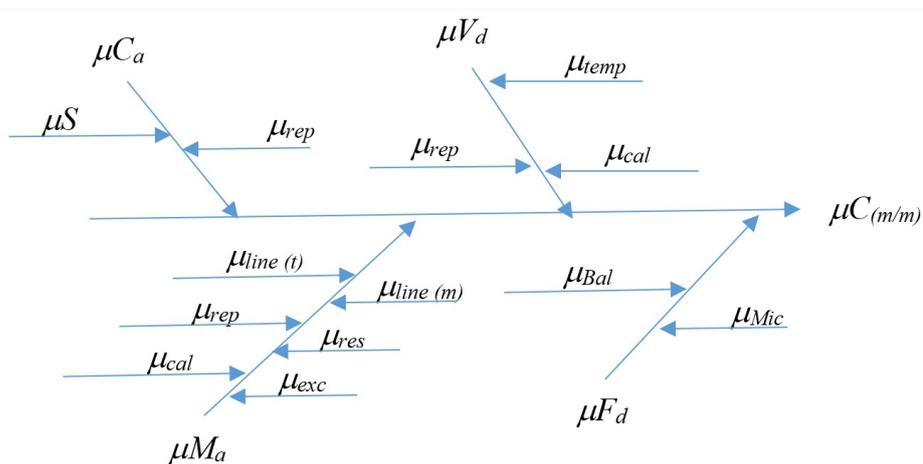


Figura 18. Diagrama de causa e efeito na incerteza de medição segundo o método utilizado no presente trabalho. As incertezas individuais estão definidas nas equações 28, 31, 33 e 35.

Para estimar a incerteza de medição a partir da determinação de chumbo, cádmio e mercúrio nos materiais candidatos, as incertezas de cada componente indicados nas Figuras 17 e 18 e quaisquer fatores adicionais que contribuíssem para um viés dos resultados foram combinados, de acordo com a abordagem do Guia ISO GUM,^{14,25,67} com respeito à expressão da incerteza de medição. A incerteza combinada foi expandida para um intervalo de confiança de 95,45% e fator $k = 2,00$.^{14,25}

4.7.1. Quantificação das fontes de incerteza

4.7.1.1 Incerteza da concentração dos elementos alvo (μC_a)

Esta incerteza foi calculada mediante ajuste linear dos mínimos quadrados, assumindo-se que as incertezas dos valores na abscissa eram consideravelmente menores do que a incerteza dos valores na ordenada.^{52,57} No caso da determinação por ICP OES, o cálculo da incerteza para C_a reflete apenas a incerteza da intensidade medida; não reflete a incerteza dos padrões de calibração e correlações induzidas pelas sucessivas diluições da mesma solução estoque (concentrada) do padrão.^{52,57} No presente trabalho, a incerteza dos padrões de calibração foi considerada desprezível e a μC_a foi calculada mediante a equação 28, sendo o desvio padrão residual s calculado mediante as equações 29 e 30.

$$\mu C_a = \frac{s}{b_1} \sqrt{\frac{1}{n_a} + \frac{1}{n} + \frac{(C_a - \bar{C})^2}{S_{xx}}} \quad (\text{equação 28})$$

$$S = \frac{\sum_{j=1}^n [Y_j - (b_0 + b_1 \cdot C_j)]^2}{n-2} \quad (\text{equação 29})$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2 \quad (\text{equação 30})$$

Onde:

b_1 : coeficiente angular da curva de calibração (inclinação);

b_0 : ponto de intercepção no eixo das ordenadas (coeficiente linear);

Y_j : é a j -ésima medição da intensidade do i -ésimo padrão de calibração;

S : desvio padrão residual;

S_{xx} = desvio padrão residual da faixa de concentração;

n : número de medições para a calibração;

n_a : número de medições realizadas na amostra sob teste;

C_a : concentração do elemento alvo na solução da amostra digerida;

\bar{C} : valor médio da concentração dos diferentes padrões de calibração (para um número n de medições);

i = índice para o número de padrões de calibração e

j = índice para o número de medições para obter a curva de calibração.

4.7.1.2 Incerteza padrão combinada da medida da massa de amostra (μm_a)

A incerteza não foi estimada através de observações repetidas, mas por julgamento científico, baseado em todas as informações disponíveis sobre a possível variável da medida, considerando-se a resolução da balança, incerteza da calibração, linearidade, excentricidade na calibração da balança e desvio padrão da repetitividade da medição, provindos de uma variável aleatória para n observações independentes. A incerteza da medida da massa de amostra foi calculada através da equação 31.

$$\mu m_a = \sqrt{(CS_{res} \cdot \mu_{res})^2 + (CS_{cal} \cdot \mu_{cal})^2 + 2(CS_{lin} \cdot \mu_{lin})^2 + (CS_{exc} \cdot \mu_{exc})^2 + (CS_{rep} \cdot \mu_{pet})^2}$$

(equação 31)

Onde:

μm_a : incerteza padrão combinada da medida da massa;

μ_{res} : incerteza padrão atribuída à resolução do instrumento;

CS_{res} : coeficiente de sensibilidade da resolução do instrumento;

μ_{cal} : incerteza padrão na calibração do instrumento;

CS_{cal} : coeficiente de sensibilidade da calibração do instrumento;

μ_{lin} : incerteza padrão da linearidade na calibração da balança;

CS_{lin} : coeficiente de sensibilidade da linearidade na calibração do instrumento;

μ_{exc} : incerteza padrão da excentricidade na pesagem da amostra e

CS_{exc} : coeficiente de sensibilidade da excentricidade na pesagem da amostra.

A contribuição da incerteza da linearidade na calibração da balança deve ser avaliada duas vezes, uma vez que a tara da balança e o peso bruto são observações independentes e os efeitos da linearidade não são correlacionados. A correção do empuxo não é considerada porque todas as medidas de pesagem são expressas em bases convencionais para pesagem no ar.⁵⁷

Quanto aos coeficientes de sensibilidades (CS) na equação 31, como todas as incertezas padrão para a obtenção da massa estão na mesma unidade de medida, considera-se $CS = 1$.

A incerteza da resolução da balança (μ_{res}) foi calculada a partir da resolução informada pelo fabricante (x_{res}) para a medição de massa da amostra, ou seja, resolução de 0,00001 g. Este valor foi dividido pela distribuição retangular ($\sqrt{3}$); esta distribuição foi admitida porque não é informado pelo fabricante o grau de confiança utilizado para especificar tal resolução da balança.^{57, 67}

A incerteza padrão da calibração do instrumento (μ_{cal}) foi avaliada considerando-se a incerteza padrão (μ_{cert}) informada no certificado de calibração realizada por laboratório acreditado, sendo a faixa de calibração 0,00100 g a 200,00000 g. Considerando que para as medidas realizadas na calibração não havia correção de erro sistemático inerente à balança, foi, então, utilizado o valor da incerteza informado no certificado. Este valor foi dividido pelo grau de abrangência informado no certificado de calibração, que era de $k = 2,00$ (distribuição normal). A incerteza padrão da excentricidade (μ_{exc}) e da linearidade (μ_{lin}) foram também obtidas a partir do certificado de calibração da balança, onde estas duas fontes foram apresentadas como x_{exc} e x_{lin} , respectivamente. Seus respectivos valores foram divididos por 2,00 (distribuição normal), sendo este valor indicada no certificado.

No entanto, a incerteza padrão da repetitividade de medida, foi obtida a partir de 10 medições consecutivas de 1 g de um padrão (F1, modelo YCS31-613-00, Sartorius), padrão de menor massa que o laboratório dispunha. O desvio padrão (s_{mas}) das medidas foi dividido por \sqrt{n} , onde n é o número de medidas.

Após a avaliação das contribuições para a incerteza padrão combinada da medida da massa de amostra, a equação 31 foi transformada na equação 32, considerando-se $CS = 1$ na equação 31.

$$\mu m_a = \sqrt{\left(\frac{x_{res}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{cert}}{2}\right)^2 + 2\left(\frac{x_{lin}}{2}\right)^2 + \left(\frac{x_{exc}}{2}\right)^2 + \left(\frac{s_{mas}}{\sqrt{n}}\right)^2} \quad (\text{equação 32})$$

4.7.1.3 Incerteza padrão combinada do volume na diluição (μV_d)

A calibração do frasco ou aparelho volumétrico, temperatura e repetitividade podem contribuir para a incerteza do volume na diluição de uma solução. A incerteza do volume na diluição foi calculada através da equação 33.

$$\mu V_d = \sqrt{(CS_{temp} \cdot \mu_{temp})^2 + (CS_{cal} \cdot \mu_{cal})^2 + (CS_{rep} \cdot \mu_{rep})^2} \quad (\text{equação 33})$$

Onde:

μV_d : incerteza padrão do volume na diluição;

μ_{temp} : incerteza padrão gerada pela influência da temperatura no volume da solução;

CS_{temp} : coeficiente de sensibilidade da temperatura da solução;

μ_{cal} : incerteza padrão da calibração do instrumento;

CS_{cal} : coeficiente de sensibilidade da calibração do instrumento;

μ_{rep} : incerteza padrão da repetitividade de medição (dada pelo desvio padrão) e

CS_{rep} : coeficiente de sensibilidade da repetitividade (obtida pelo desvio padrão das medições).

Na avaliação da incerteza padrão combinada da medida da massa (μm_d) todos os coeficientes de sensibilidade (CS) incluídos na equação 32 foram considerados iguais a 1 e, assim, a incerteza padrão devida à influência da temperatura (μ_{temp}) dependeu apenas da faixa de temperatura no laboratório e da faixa de temperatura onde a calibração foi realizada. Os balões volumétricos utilizados foram calibrados a 20 °C, porém a faixa de temperatura controlada no laboratório é (20 ± 5) °C. A incerteza decorrente da variação de temperatura pode ser calculada a partir da estimativa da variação de temperatura e do coeficiente da expansão do volume.^{57,67} Considerando-se que as soluções eram aquosas, o coeficiente de expansão estimado do volume é 2,1 x 10⁻⁴ mL °C⁻¹.⁵⁷ Assim sendo, a variação do volume foi calculada multiplicando-se o volume do balão volumétrico pela variação da temperatura no laboratório (neste caso 5 °C) e pelo coeficiente de expansão ($C_{expansão}$).

A incerteza padrão da calibração da micropipeta (μ_{cal}) foi calculada a partir da incerteza padrão (μ_{cert}) informada no certificado de calibração, cujo valor foi dividido pelo grau de abrangência atribuído e informado no mesmo certificado de calibração, que era de $k = 2,00$ (distribuição normal).

A incerteza padrão da repetitividade de medição (μ_{rep}) decorrente de variações no enchimento do volume do balão foi estimada a partir do desvio das medidas do volume (s_{vol}) em 10 enchimentos e pesagens repetidos. Para tal, foi utilizada água purificada, considerando-se a sua densidade como 1,00 g mL⁻¹. O desvio das medidas foi dividido por \sqrt{n} , onde n é o número de repetições. Desta forma, considerando-se $CS = 1$, a incerteza padrão combinada da diluição (μV_d) foi calculada através da equação 34.

$$\mu V_d = \sqrt{\left((Vol_{bal\tilde{a}o} \times \Delta Temp_{lab} \times C_{expans\tilde{a}o})^2 + \left(\frac{\mu_{cal.}}{2} \right)^2 + \left(\frac{s_{vol.}}{\sqrt{n}} \right)^2 \right)}$$

(equação 34)

4.7.1.4 Incerteza padrão combinada do fator de diluição (μF_d)

Para duas amostras (MnO_2 comercial e ânodo de pilha alcalina), as respectivas soluções foram diluídas a fim de enquadrar a concentração de chumbo na faixa de concentração da curva de calibração avaliada, o que gerou mais um erro aleatório. Sendo assim, a incerteza do fator de diluição foi calculada a partir da contribuição de um balão volumétrico (μV_b) e uma micropipeta (μV_m), conforme a equação 35.

$$\mu F_d = \sqrt{(CS_{\text{balão}} \cdot \mu V_b)^2 + (CS_{\text{micropipeta}} \cdot \mu V_m)^2} \quad (\text{equação 35})$$

Onde:

μF_d : incerteza padrão combinada do fator de diluição;

μV_b : incerteza padrão combinada do balão volumétrico;

$CS_{\text{balão}}$: coeficiente de sensibilidade do balão volumétrico;

μV_m : incerteza padrão combinada da micropipeta e

$CS_{\text{micropipeta}}$: coeficiente de sensibilidade da micropipeta.

Neste caso, o $CS_{\text{balão}}$ e o $CS_{\text{micropipeta}}$ serão as derivadas parciais das respectivas fontes pelo fator de diluição e a incerteza padrão combinada será calculada através da equação 36.

$$\mu F_d = \sqrt{\left(\frac{\partial V_b}{\partial F_d} \cdot \mu V_b\right)^2 + \left(\frac{\partial V_m}{\partial F_d} \cdot \mu V_m\right)^2} \quad (\text{equação 36})$$

4.7.1.5 Incerteza padrão combinada da concentração ($\mu_{\text{car}}(\frac{m}{m})$)

A incerteza padrão combinada é a combinação de todas as fontes de incerteza identificadas no processo de medição, conforme a equação 37.

$$\mu_{\text{car}}(\frac{m}{m}) = \sqrt{(CS_{Ca} \cdot \mu Ca)^2 + (CS_{ma} \cdot \mu m_a)^2 + (CS_{Vd} \cdot \mu V_d)^2 + (CS_{Fd} \cdot \mu F_d)^2} \quad (\text{equação 37})$$

Onde:

$\mu_{\text{char}}(\frac{m}{m})$: incerteza padrão combinada da concentração do analito em massa/massa;

CS_{Ca} : coeficiente de sensibilidade da concentração do analito;

CS_{ma} : coeficiente de sensibilidade da medida da massa do analito;

CS_{Vd} : coeficiente de sensibilidade da diluição da solução e

CS_{Fd} : coeficiente de sensibilidade do fator de diluição.

Conforme a equação 37, cada contribuição da incerteza é o quadrado da incerteza associada, calculada multiplicando-se a mesma pelo quadrado do coeficiente de sensibilidade (CS) relevante. O CS indica como o valor do mensurando varia com a mudança de cada fonte de incerteza. Por exemplo, como a variação do volume do balão volumétrico altera a concentração da amostra. Quando a incerteza de um parâmetro é expressa diretamente em termos do seu efeito sobre y (intensidade do sinal no caso da determinação por ICP OES), CS é igual a 1,0. No entanto, o CS_{ma} , CS_{Vd} e CS_{Fd} são diferentes de 1,0, ou seja, neste caso o CS_{ma} é a derivada parcial da massa pela derivada parcial da concentração ($\frac{\partial ma}{\partial Conc}$), o CS_{Vd} é a derivada parcial do volume de diluição pela derivada parcial da concentração ($\frac{\partial Vd}{\partial Conc}$) e o CS_{Fd} é a derivada parcial do fator de diluição pela derivada parcial da concentração ($\frac{\partial Fd}{\partial Conc}$) quando há diluição da solução da amostra. Conseqüentemente, a equação 37 transforma-se na equação 38.

$$\mu_{char}\left(\frac{m}{m}\right) = \sqrt{(1 \cdot \mu Ca.)^2 + \left(\frac{\partial ma}{\partial Conc} \cdot \mu m_a\right)^2 + \left(\frac{\partial Vd}{\partial Conc} \cdot \mu V_d\right)^2 + \left(\frac{\partial Fd}{\partial Conc} \cdot \mu F_d\right)^2}$$

(equação 38)

4.7.1.6 Incerteza da homogeneidade

Para a avaliação da incerteza da homogeneidade, foi considerada a incerteza provinda da variabilidade EF, pois a incerteza provinda da homogeneidade DF é igual ao desvio padrão da repetitividade do método, já computada na incerteza padrão combinada $\mu_{car}\left(\frac{m}{m}\right)$. A incerteza devido à homogeneidade EF foi calculada de acordo com as equações 12 ou 13, dependendo do valor de MQ (quadrados médios) entre os frascos na aplicação da ANOVA.

4.7.1.7 Incerteza da estabilidade em curto e longo prazos

A incerteza devida à estabilidade a curto prazo é a correspondente à estabilidade do material em condições de transporte. Caso as condições de transporte forem escolhidas de modo que nenhuma incerteza adicional com relação à instabilidade/estabilidade devido ao transporte

precise ser levada em consideração, tem-se $u_{sts} = 0$. A incerteza devida à estabilidade em longo prazo é a relacionada com tempo de prateleira, a qual foi calculada através da equação 20.^{14,25,26}

5. Resultados e Discussões

5.1. Caracterização do material

A partir dos resultados obtidos na análise de distribuição do tamanho de partículas (Figuras 19, 20, 21 e 22) foi possível concluir que a distribuição das mesmas era uniforme nos materiais correspondente às amostras A e C. Para estes materiais, o diâmetro médio das partículas era 11,52 μm na amostra A (Zn em pó comercial) e 25,64 μm na amostra C (MnO_2 comercial). No entanto, nos materiais correspondentes às matrizes amostrais (amostras B e D) a distribuição era heterogênea, mas todas as partículas tinham menos de 500 μm , limite máximo estipulado. Nas amostras B (material correspondente ao ânodo de pilhas alcalinas) e D (material correspondente ao cátodo de pilhas alcalinas) o diâmetro médio das partículas era 168,99 μm e 49,01 μm , respectivamente.

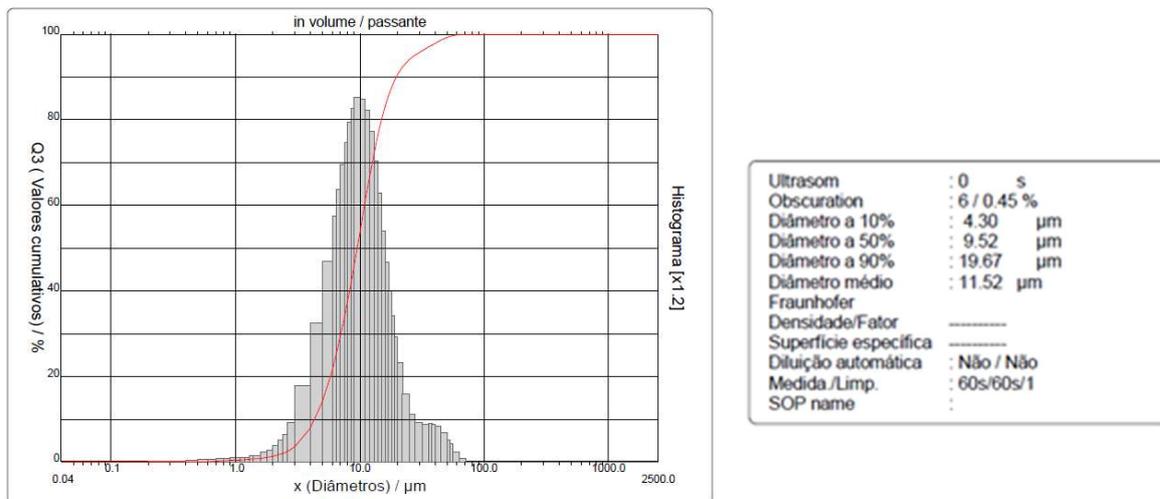
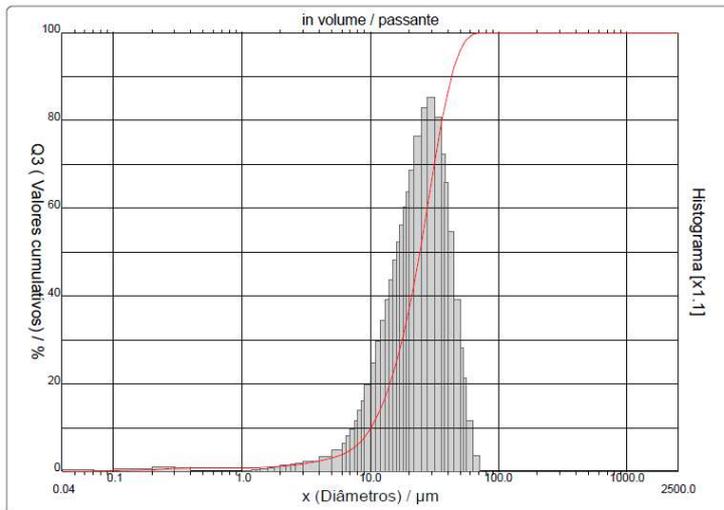
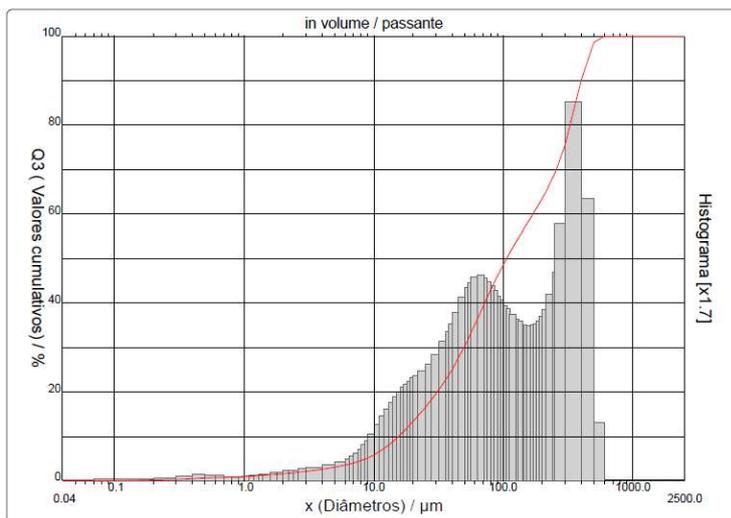


Figura 19. Distribuição do tamanho das partículas na amostra A (Zn em pó comercial).



Ultrasom	: 0	s
Obscuration	: 11 / 1.35	%
Diâmetro a 10%	: 10.13	μm
Diâmetro a 50%	: 24.38	μm
Diâmetro a 90%	: 43.20	μm
Diâmetro médio	: 25.64	μm
Fraunhofer		
Densidade/Fator	-----	
Superfície específica	-----	
Diluição automática	: Não / Não	
Medida./Limp.	: 60s/60s/1	
SOP name	: Oxido de Manganês	

Figura 20. Distribuição do tamanho das partículas na amostra C (MnO₂ comercial).



Ultrasom	: 0	s
Obscuration	: 5 / 0.87	%
Diâmetro a 10%	: 15.49	μm
Diâmetro a 50%	: 106.41	μm
Diâmetro a 90%	: 399.14	μm
Diâmetro médio	: 168.99	μm
Fraunhofer		
Densidade/Fator	-----	
Superfície específica	-----	
Diluição automática	: Não / Não	
Medida./Limp.	: 60s/60s/1	
SOP name	: Zinco em pó	

Figura 21. Distribuição do tamanho das partículas na amostra B (ânodo de pilhas alcalinas).

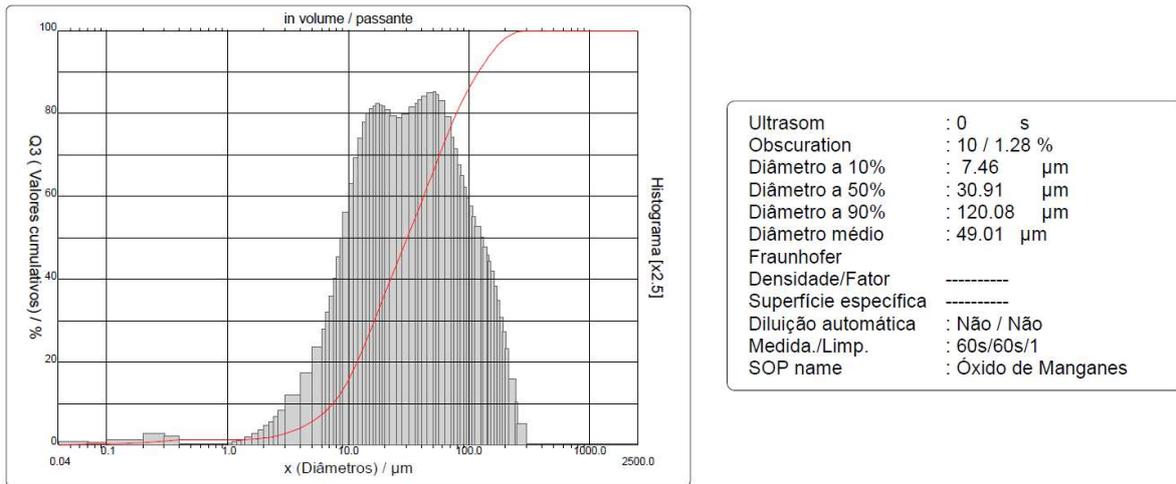


Figura 22. Distribuição do tamanho das partículas na amostra D (cátodo de pilhas alcalinas).

Para a avaliação da estabilidade do produto quanto a possíveis reações e a que temperatura elas poderiam ocorrer, os materiais preparados foram analisados por DSC, cujos resultados são mostrados nas Figuras 23 a 28. A DSC é recomendada como teste inicial para detectar potenciais riscos de uma substância química ou mistura não caracterizada.³¹ A ocorrência de reação endotérmica para os materiais correspondentes às amostras A e B em 417,5 °C pode ser observada nas Figuras 23 e 24 e na sobreposição dos gráficos (Figura 25) o que é devido à fusão do material, que ocorre em temperatura próxima a 419 °C.

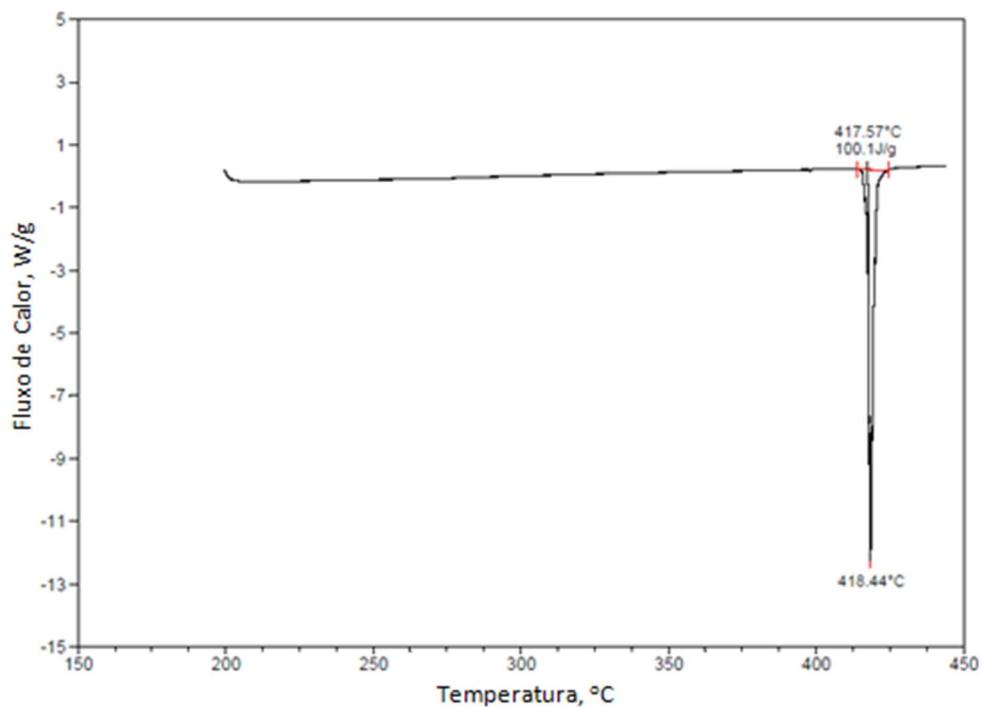


Figura 23. Termograma da mostra A (Zn em pó, comercial) obtido por DSC.

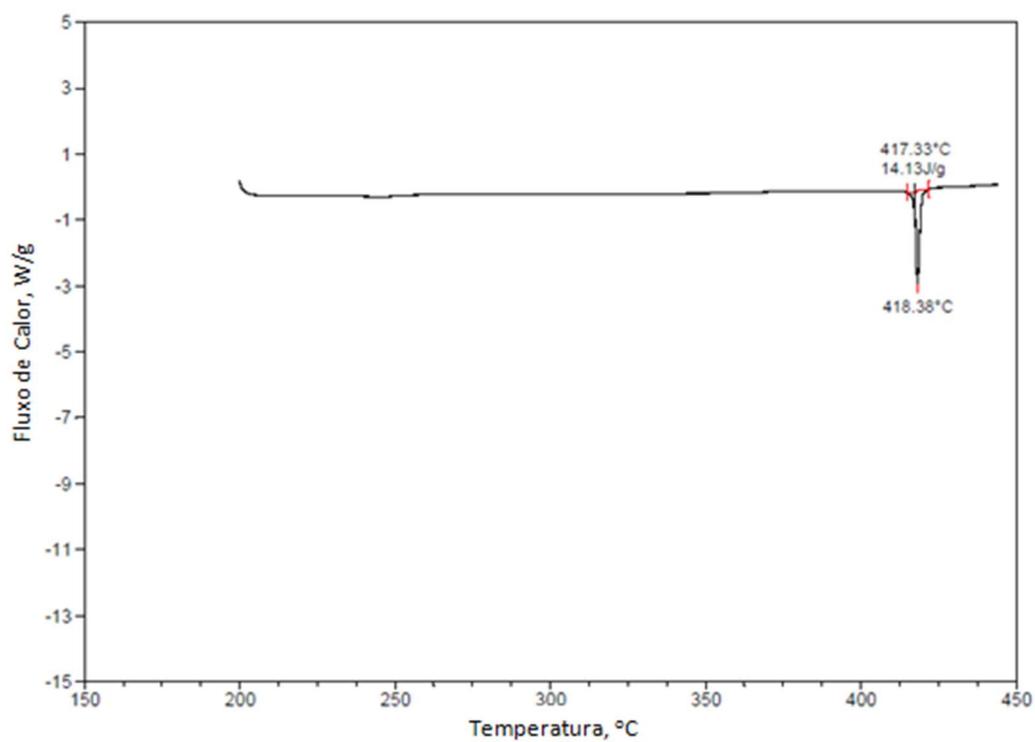


Figura 24. Termograma da mostra B (ânodo de pilhas alcalinas) obtido por DSC.

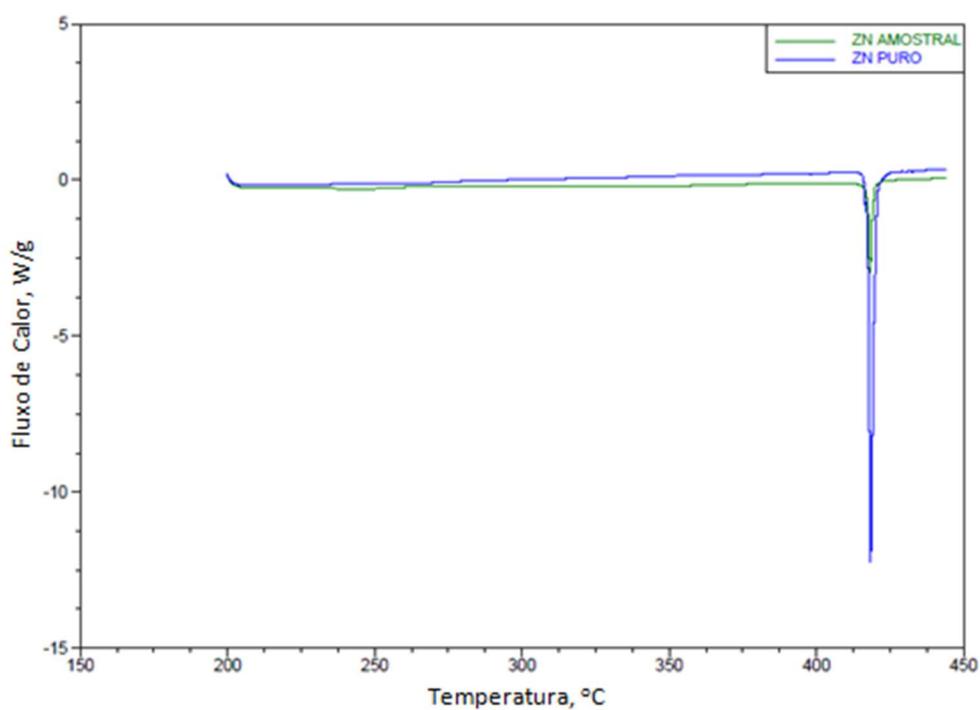


Figura 25. Sobreposição dos termogramas referentes às amostras A e B obtidos por DSC.

As amostras C e D foram analisadas por DSC da mesma forma que as amostras A e B. Como se pode observar na Figura 26, há um pico característico em torno de 508 °C para a amostra C (MnO_2 comercial) e uma banda larga que sugere a fusão endotérmica do material - a temperatura de fusão do MnO_2 é 535 °C. Nas Figuras 26 a 28 pode-se observar que o termograma da amostra D (cátodo de pilha alcalina) é diferente daquele da amostra C (MnO_2 comercial), o que pode indicar que o material correspondente à amostra D é um monóxido de manganês ao invés do MnO_2 .

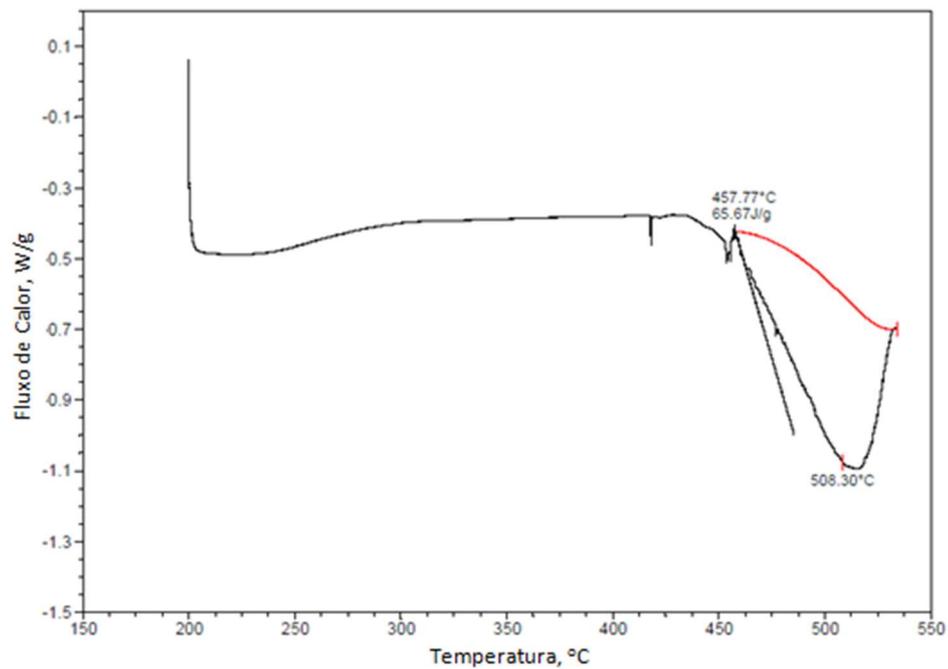


Figura 26. Termograma da amostra C (MnO_2 , comercial) obtido por DSC.

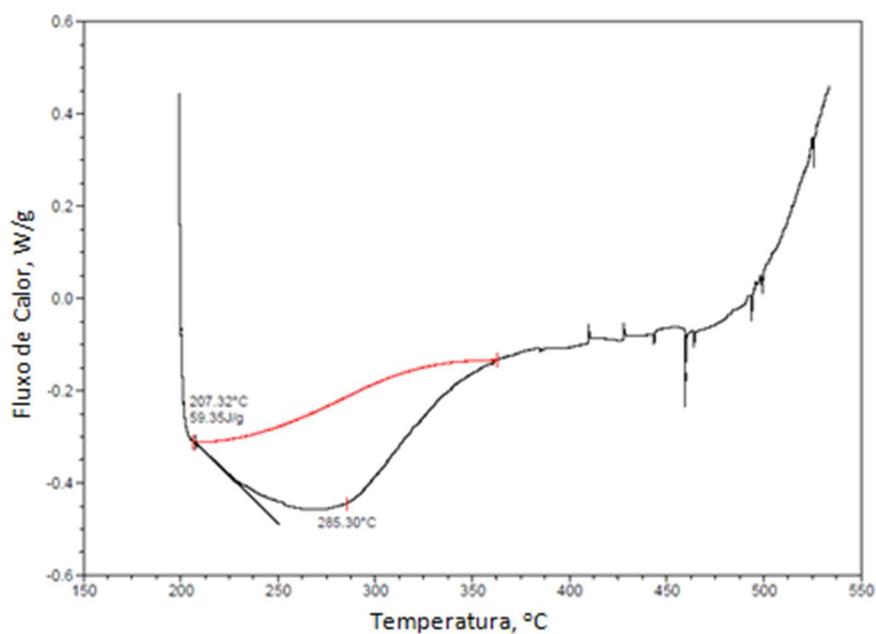


Figura 27. Termograma da amostra D (cátodo de pilhas alcalinas) obtido por DSC.

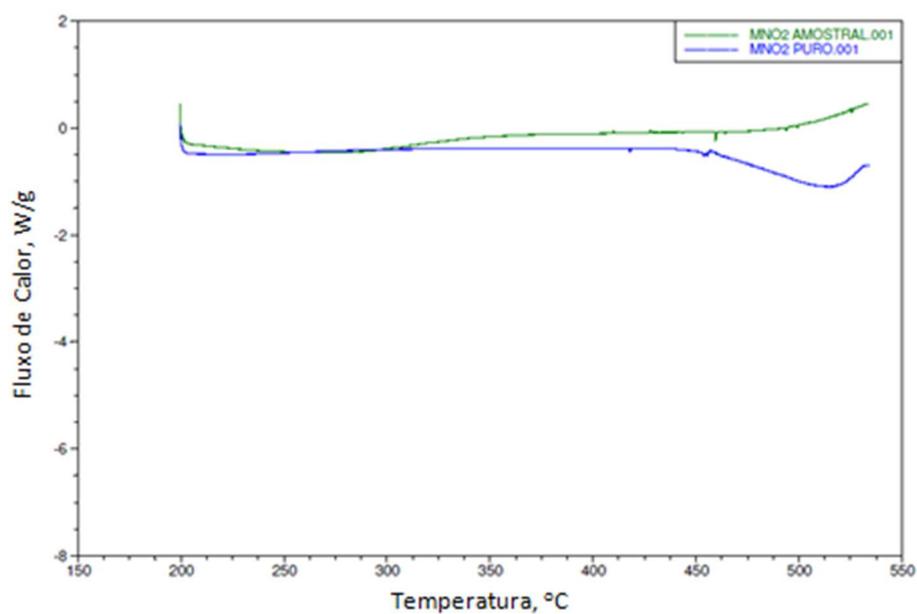


Figura 28. Sobreposição dos termogramas referentes às amostras C e D obtidos por DSC.

5.1.1. Umidade residual

A análise termogravimétrica (TGA) permite determinar a decomposição térmica e a mudança de massa de um material em decorrência de reações químicas que ocorrem, havendo a produção de espécies gasosas e perda de massa, ou ganho de massa na atmosfera reativa.

Além de detectar a mudança de massa, é possível medir a sua extensão, a temperatura aproximada em que o evento ocorre e efeitos devidos ao ar. Quando a amostra sofre uma reação ou decomposição térmica envolvendo mudança de massa, essa mudança é indicada por um desvio da linha base no termograma correspondente. Assim, a TGA não é recomendada para materiais que sublimam ou evaporam na faixa de temperatura de interesse.⁶⁴ Isto porque a perda de massa devido à perda de impureza não deve interferir na determinação da temperatura de reação ou decomposição.⁶⁴

Nas Figuras 29 e 30 são mostrados os termogramas dos materiais correspondentes às amostras A (Zn em pó, comercial) e B (ânodo de pilhas alcalinas). Percebe-se que no material da amostra A não houve perda significativa de umidade em torno de 100 °C e a perda de massa total até o fim da análise foi 0,29%. Para a amostra B, que corresponde ao cátodo de pilha alcalina, a perda de massa foi em torno de 1,204% em 96,90 °C, que indica a existência de água no produto. Esta umidade identificada na amostra B pode ser derivada do eletrólito que pode estar presente na amostra - normalmente o eletrólito é uma solução de KOH.

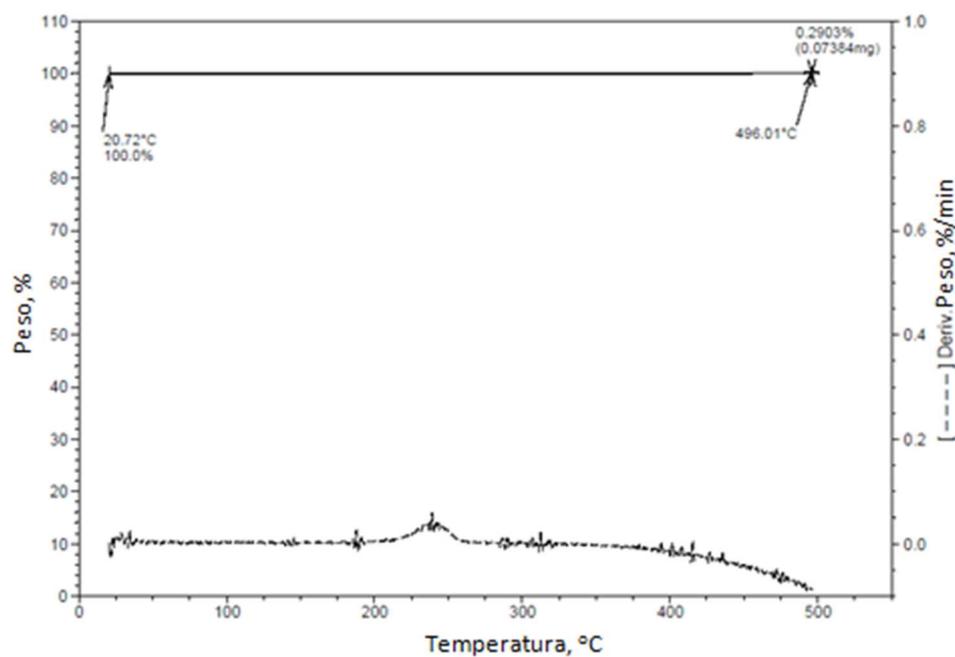


Figura 29. Termograma do material correspondente à amostra A (Zn em pó, comercial) obtido por TGA.

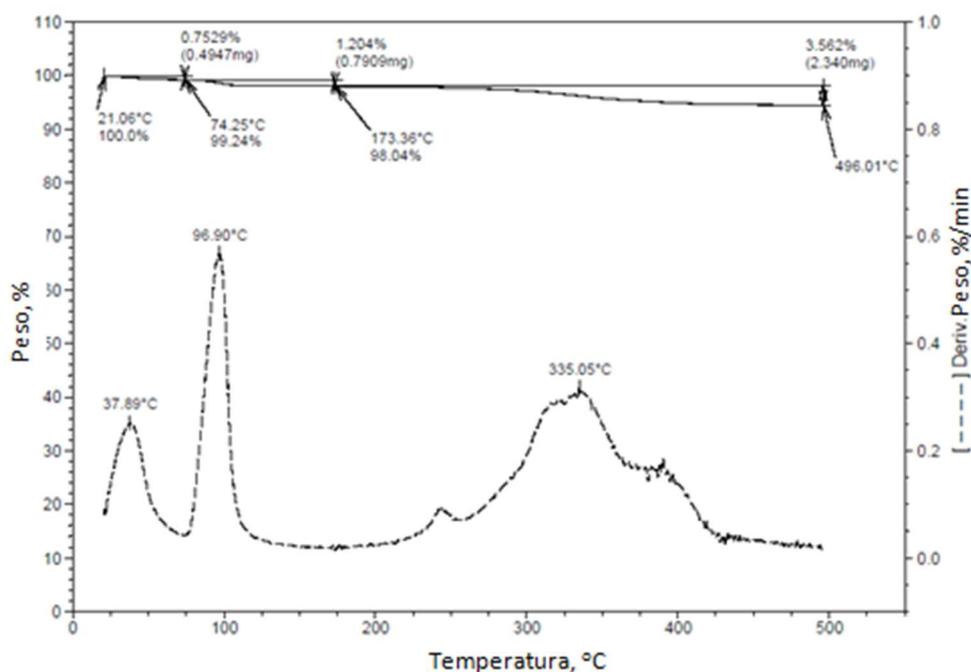


Figura 30. Termograma do material correspondente à amostra B (ânodo de pilhas alcalinas) obtido por TGA.

Com respeito à amostra C, houve uma pequena e gradativa perda de massa até cerca de 570 °C (Figura 31) e em torno de 510 °C ocorreu um evento significativo, que pode ser a fusão do MnO_2 , cuja temperatura de fusão é em torno de 535 °C. A perda total de massa durante todo o aquecimento foi próxima a 11,95%. Porém, nenhuma perda significativa foi observada em 100 °C. O mesmo comportamento de perda contínua de massa foi observado para a amostra D (cátodo de pilha alcalina) (Figura 32), mas também nenhum evento significativo ocorreu em torno de 100 °C, o que corrobora os resultados obtidos por DSC anteriormente apresentados.

Ao sobrepor os termogramas referentes às amostras C e D (Figura 33), percebe-se que não há uma perda significativa de massa em torno de 100 °C. Além disso, há um evento significativo em aproximadamente 510 °C, identificando a fusão do MnO_2 , diferentemente da amostra D (cátodo de pilhas alcalinas) o que sugere, novamente, que o ânodo seja de MnO ao invés de MnO_2 .

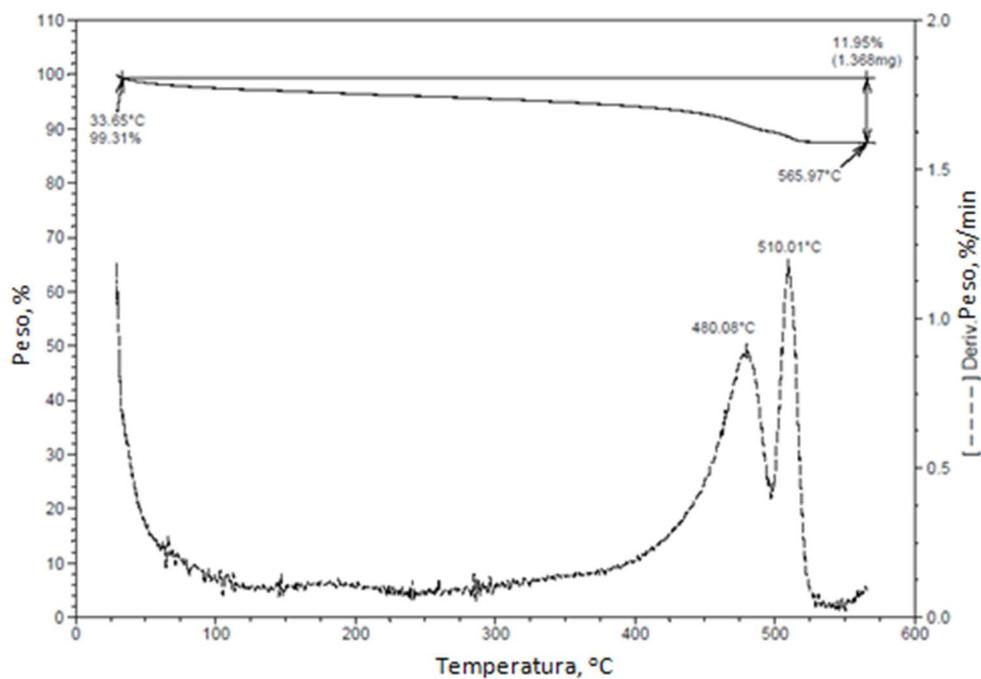


Figura 31. Termograma do material correspondente à amostra C (MnO₂ comercial) obtido por TGA

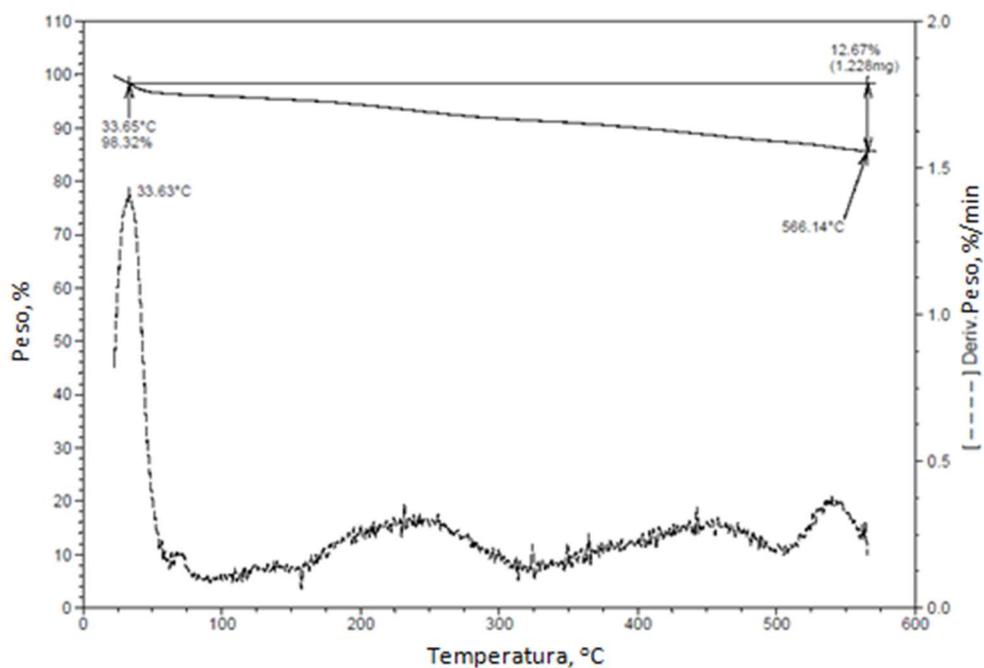


Figura 32. Termograma do material correspondente à amostra D (cátodo de MnO₂ em pilhas alcalinas) obtido por TGA.

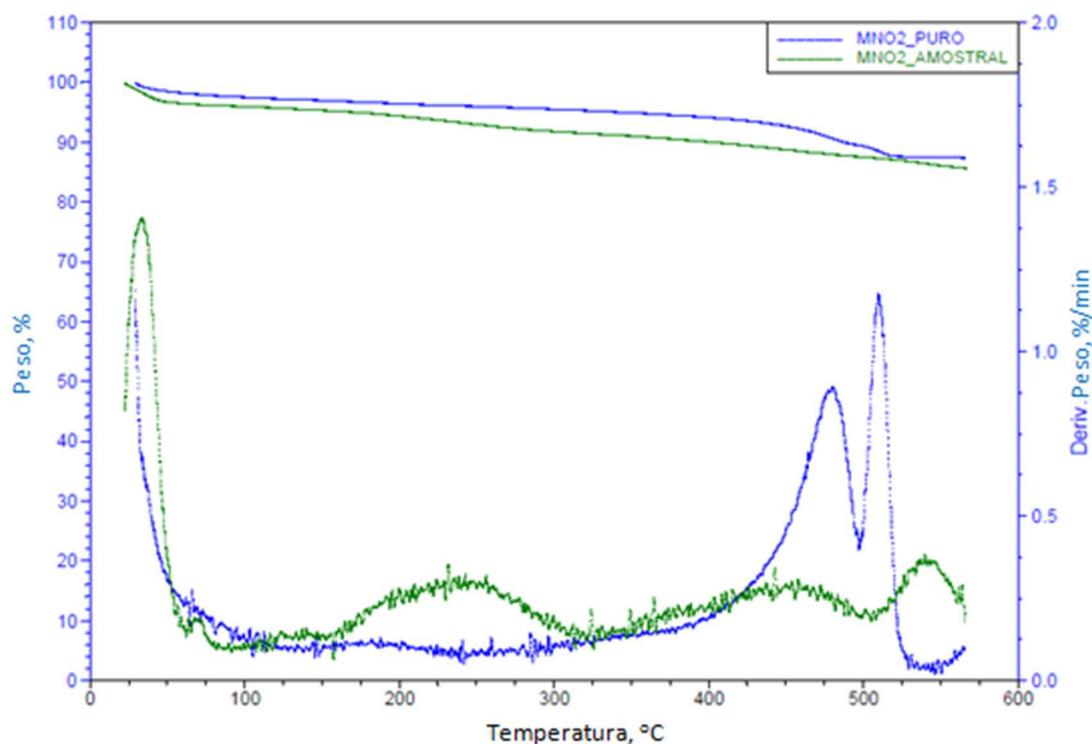


Figura 33. Sobreposição dos termogramas referentes às amostras C e D obtidos por TGA.

Os valores de umidade residual encontrados por TGA e que foram considerados para os materiais produzidos são resumidos na Tabela 8.

Tabela 8. Umidade residual nos materiais produzidos.

Material	Umidade relativa
Zn em Pó Comercial (Amostra A)	Insignificativo (< 0,1%)
Ânodo de Pilha Alcalina (Amostra B)	1,20 %
MnO ₂ Comercial (Amostra C)	Insignificativo (< 0,1%)
Cátodo de Pilha Alcalina (Amostra D)	Insignificativo (< 0,1%)

5.2. Validação do método

A validação do método de determinação dos elementos alvo (Pb, Cd e Hg) por ICP OES foi baseada em outros trabalhos já realizados^{10,17,19,30,35,65} e de acordo com o que foi discutido no item 2.4 e respectivos subitens. Considerando-se que o método utilizado no presente trabalho já é bem estabelecido, a robustez não foi avaliada.

5.2.1. Seletividade e sensibilidade

Para avaliar a seletividade e o quanto a matriz da amostra pode interferir, foram preparadas três curvas de calibração, sendo as soluções de calibração preparadas na presença e ausência da matriz. Nas Figuras 34, 35 e 36 são apresentadas as curvas de calibração obtidas. Os coeficientes angulares (inclinação) das equações de regressão linear não diferiram significativamente para os três elementos (Tabela 9). Portanto, não há efeito de matriz, o que pode ser observado graficamente pelo paralelismo das retas. Assim sendo, o método pode ser considerado seletivo^{19,65} e as soluções de calibração podem ser preparadas sem necessidade de ajuste de matriz. Para comprovar numericamente a similaridade das curvas de calibração, os dados foram submetidos à ANOVA e os resultados foram satisfatórios ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$, $p > 0,05$), como detalhado na Tabela 9.

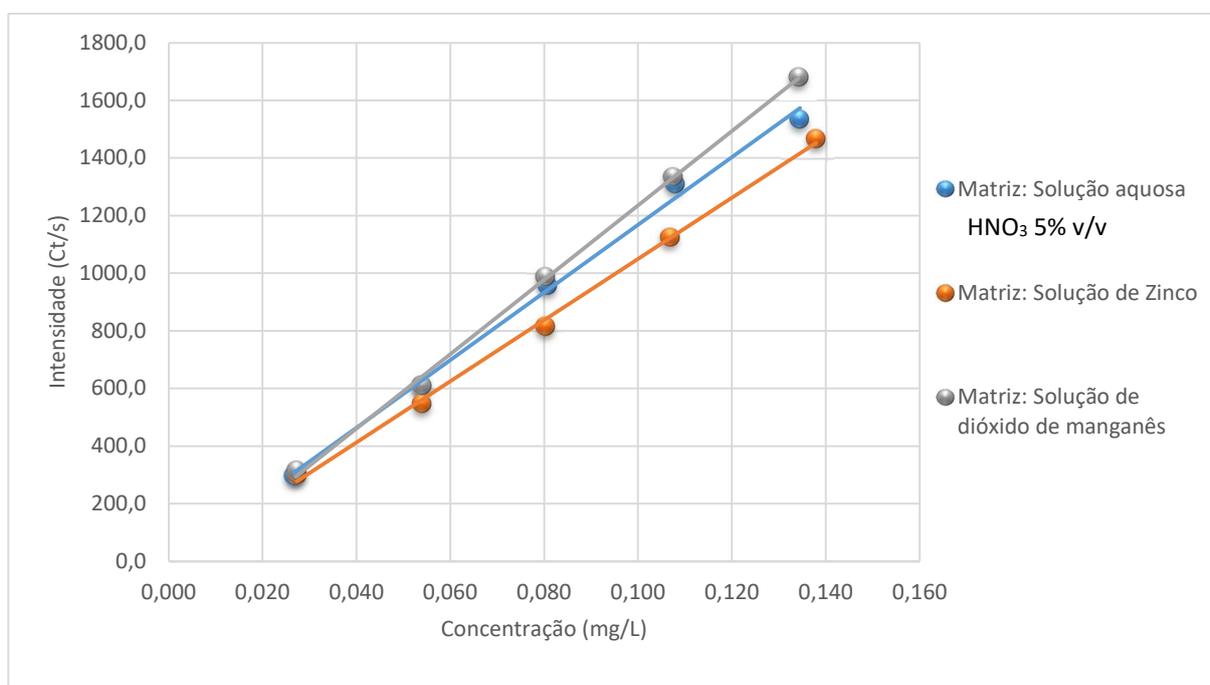


Figura 34. Curvas de calibração de cádmio.

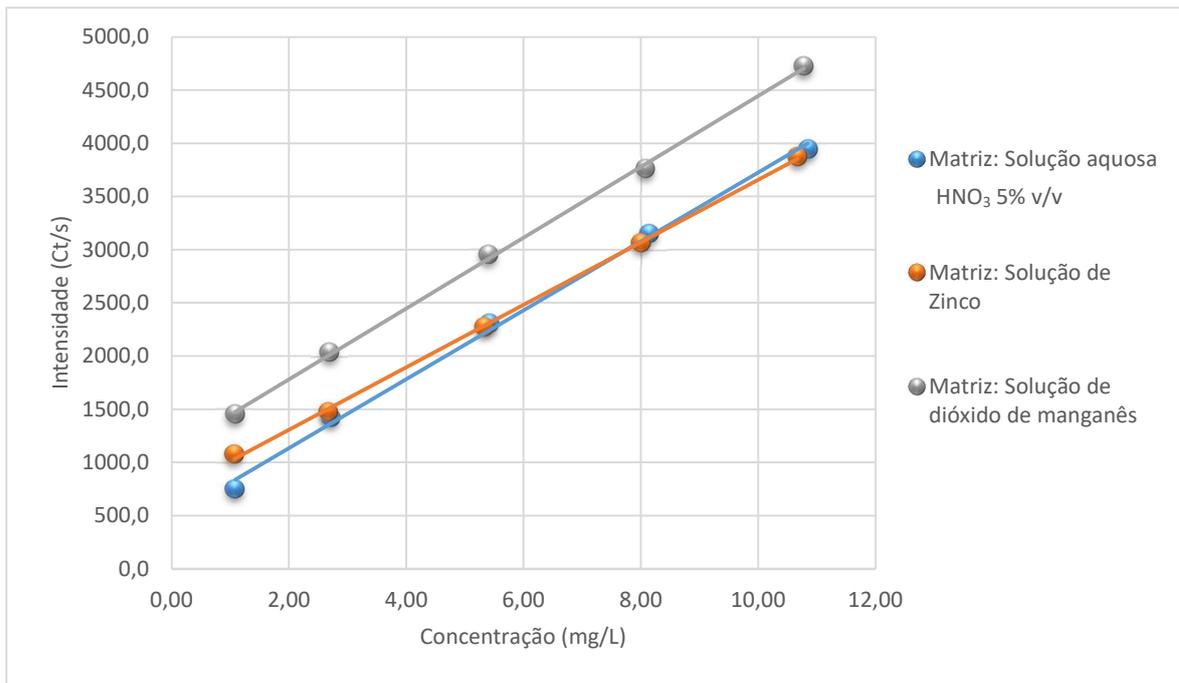


Figura 35. Curvas de calibração de chumbo.

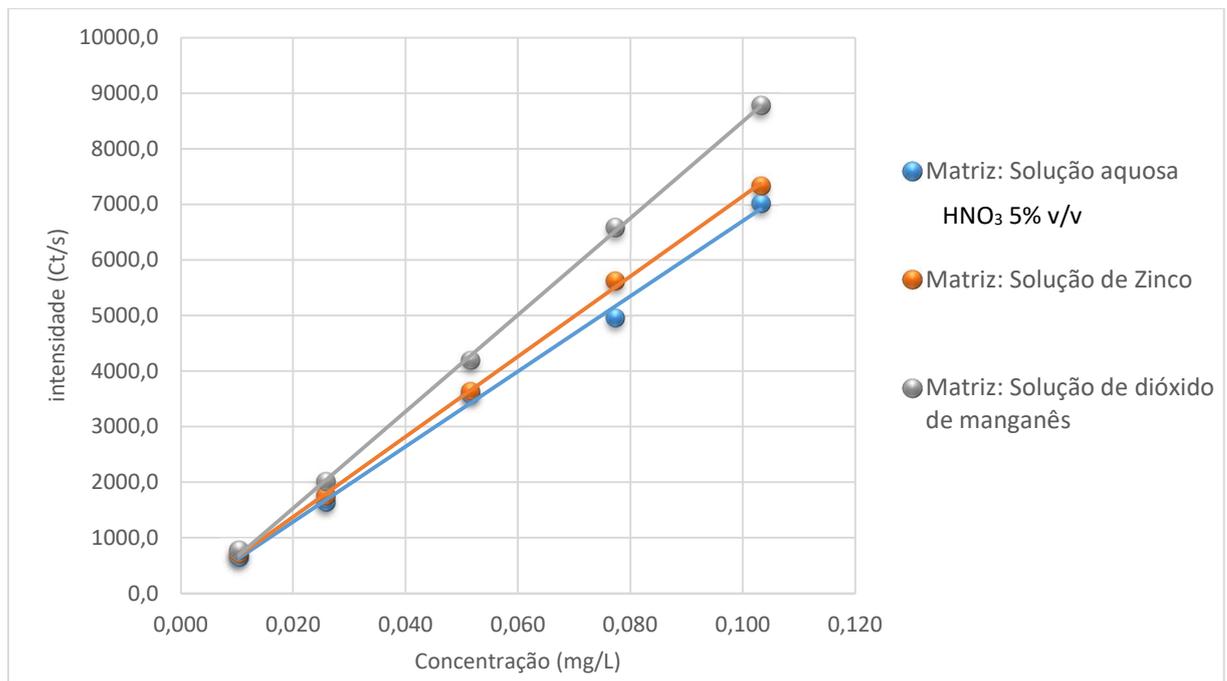


Figura 36. Curvas de calibração de mercúrio.

Tabela 9. Coeficiente angular das curvas de calibração e resultados da ANOVA.

Matriz	Cd	Pb	Hg
HNO ₃ 5% (v/v)	11739	323,97	67660
Solução de zinco	10618	293,66	72084
Solução de dióxido de manganês	12910	332,9	86907
F_{calculado}	0,035	0,367	0,097
F_{crítico}	3,682	3,329	3,682
p	0,966	0,698	0,908

Foi avaliada a homogeneidade de variância por nível de concentração, mediante a ANOVA. Como se pode observar na Tabela 10, $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$, demonstrando que a matriz não interfere, por nível de concentração. Portanto, as soluções de calibração podem ser preparadas em HNO₃ 5% v/v.

Tabela 10. Valores de $F_{\text{calculado}}$ na comparação da variância por nível de concentração; 8 graus de liberdade (n-2) e nível de confiança de 95,45%; $F_{\text{crítico}} = 6,76$

	Cd		Pb		Hg	
	Com Zn	Com Mn	Com Zn	Com Mn	Com Zn	Com Mn
Branco	0,011	0,070	0,73	0,64	0,44	0,96
Padrão 1	0,622	0,890	0,05	0,67	0,01	0,47
Padrão 2	0,000	0,645	0,13	0,00	0,47	0,17
Padrão 3	0,218	0,271	0,60	0,05	0,31	0,61
Padrão 4	0,609	0,486	0,46	0,52	0,00	0,45
Padrão 5	0,073	0,519	0,98	0,45	0,34	0,84

5.2.2. Linearidade e faixa de trabalho

As curvas de calibração foram construídas com 5 pontos equidistantes para não haver efeito de alavanca e para cada ponto foram preparadas 5 soluções, sendo plotado o valor médio do sinal do analito para cada solução. Para cada ponto da curva de calibração considerou-se que os erros sistemáticos decorrentes dos equipamentos utilizados na calibração do instrumento eram corrigidos. Os parâmetros das curvas de calibração obtidas são citados na Tabela 11. Os valores do coeficiente de correlação evidenciam a linearidade do método na faixa de

concentração estabelecida para Cd, Pb e Hg. Foi verificada ausência de *outliers* para cada nível de concentração através do teste de Grubbs,^{19,65,66} sendo G calculado < G tabelado. Os resultados deste teste são mostrados graficamente nas Figuras 37, 38 e 39.

Tabela 11. Parâmetros das curvas de calibração obtidas a partir de soluções de calibração preparadas em HNO₃ 5% v/v.

Elemento	Concentração das Soluções	Equação de Regressão Linear	Coefficiente de Determinação (R ²)
Cd	(27; 54; 81; 108; 134) µg L ⁻¹	$y = 11739x - 4,62$	0,9956
Pb	(1,0; 2,7; 5,4; 8,1; 10,8) mg L ⁻¹	$y = 323,97x + 489,4$	0,9973
Hg	(10; 26; 52; 77; 103) µg L ⁻¹	$y = 67660x - 60,24$	0,9968

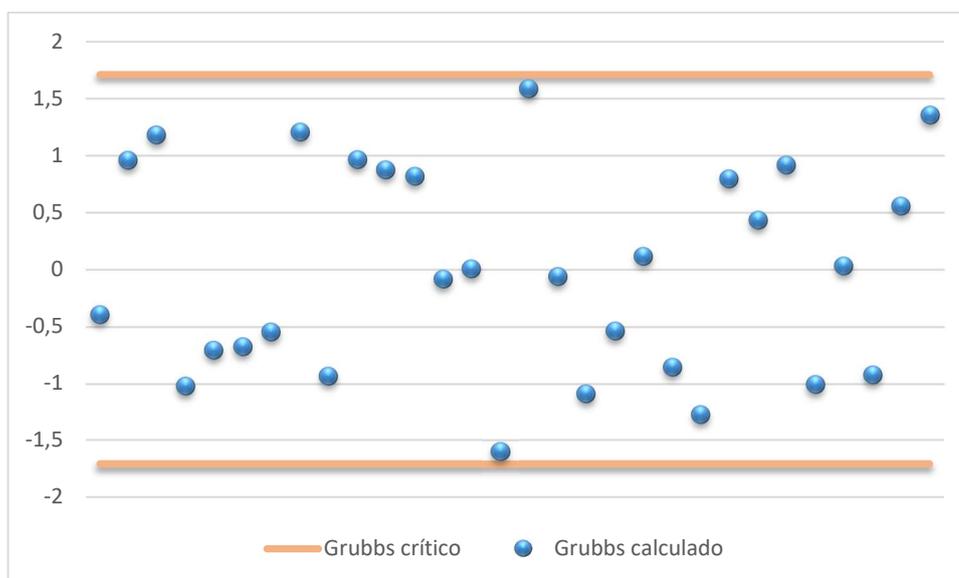


Figura 37. Resultado do teste de Grubbs na avaliação da presença de *outliers* entre os valores das medidas para cada nível de concentração da curva de calibração de cádmio.

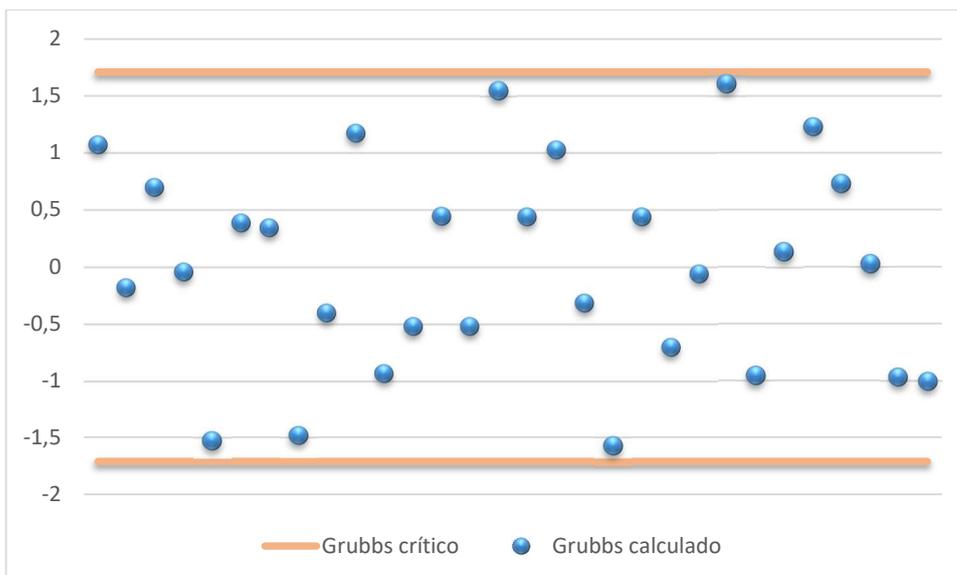


Figura 38. Resultado do teste de Grubbs na avaliação da presença de *outliers* entre os valores das medidas para cada nível de concentração da curva de calibração de chumbo.

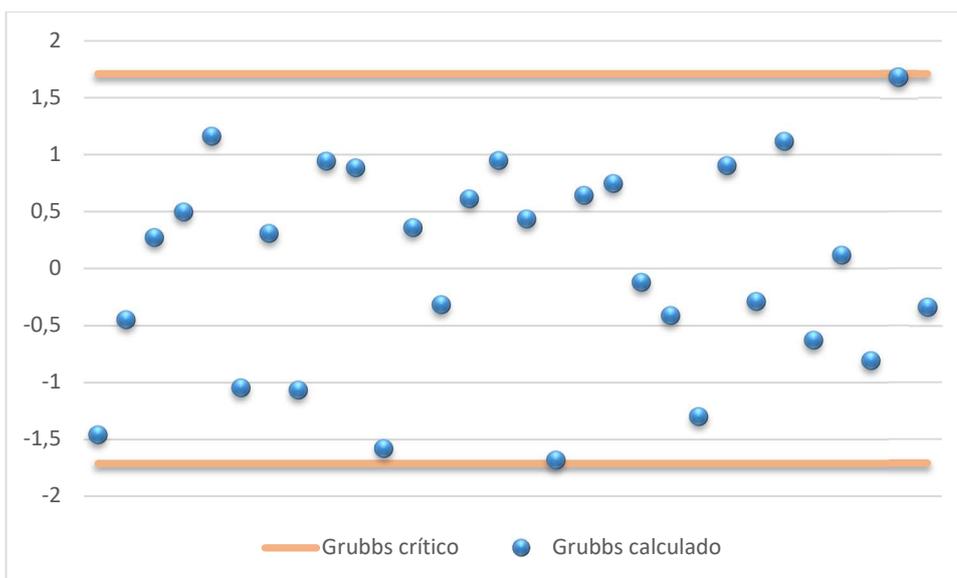


Figura 39. Resultado do teste de Grubs na avaliação da presença de *outliers* entre os valores das medidas para cada nível de concentração da curva de calibração de mercúrio.

Avaliou-se ainda a distribuição dos resíduos, que se mostrou randômica e com valores próximos a zero, como pode ser observado nas Figuras 40, 41 e 42. Isto também evidencia a linearidade da faixa de trabalho estabelecida.^{19,65,66}

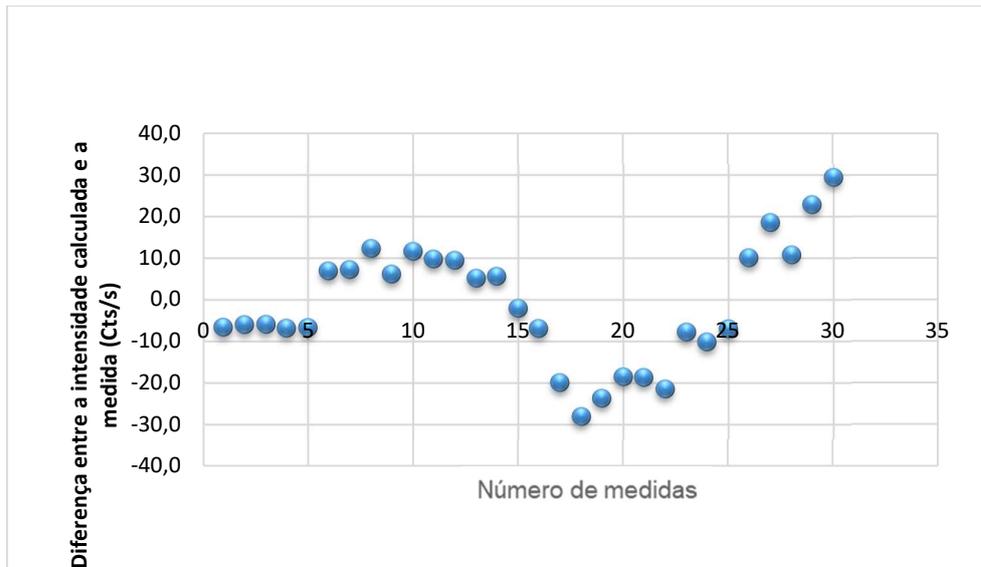


Figura 40. Perfil dos resíduos para a curva de calibração de cádmio.

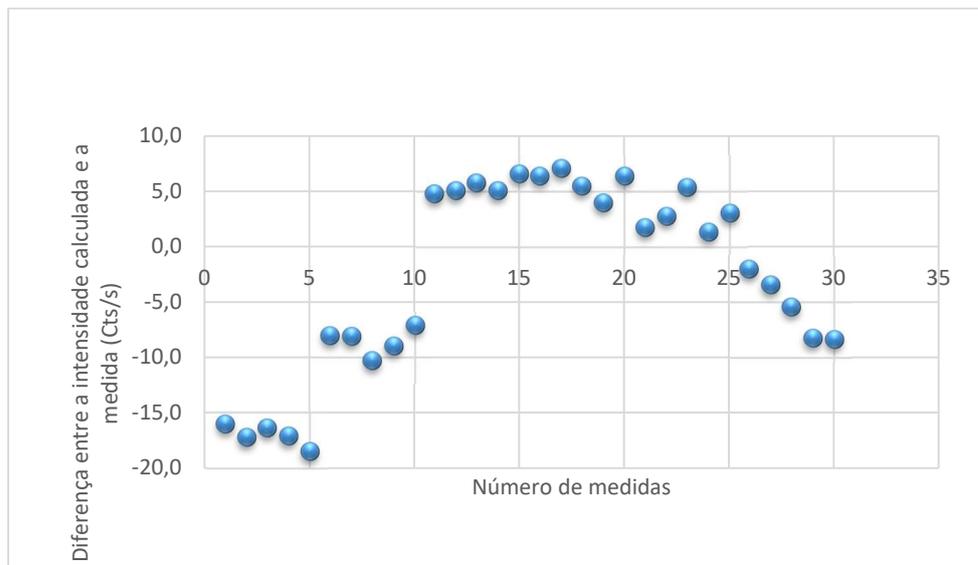


Figura 41. Perfil dos resíduos para a curva de calibração de chumbo.

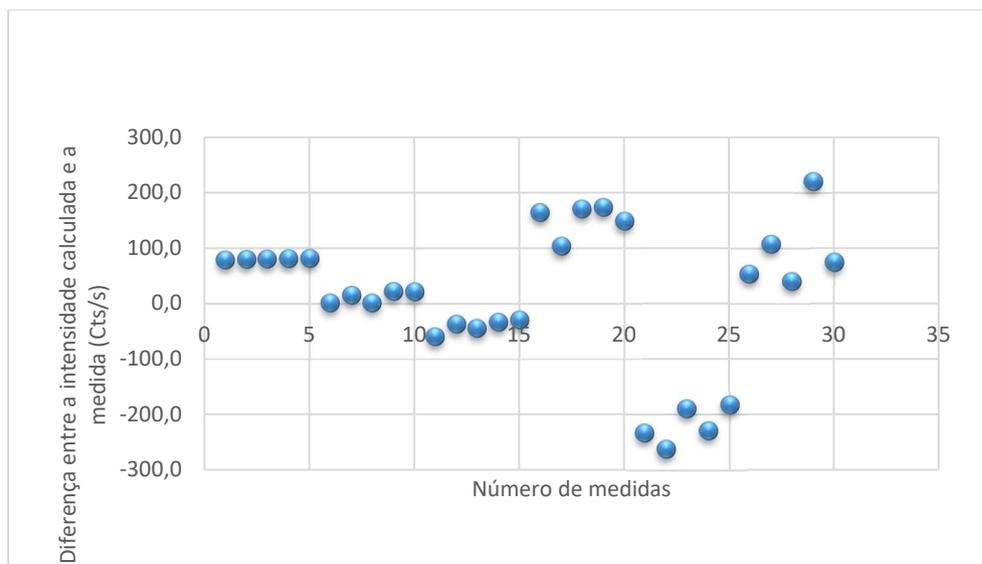


Figura 42. Perfil dos resíduos para a curva de calibração de mercúrio.

5.2.3. Limites de detecção e quantificação

O LD e LQ do método foram estimados mediante as equações 4 e 7, computando-se também a diluição e a massa de amostra (0,5 g de amostra em 100 mL).^{68,69} Como pode ser observado na Tabela 12, os LQs atendem à Resolução 401 do CONAMA,²⁸ que estabelece como limites máximos 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Hg, 20 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Cd e 100 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Pb em pilhas.

Tabela 12. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método.

	Cd	Pb	Hg
LD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,04	0,54	0,04
LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,36	2,58	1,42

5.2.4. Exatidão

Para esta avaliação foram preparadas soluções fortificadas das amostras. Como garantia adicional de qualidade, as fortificações foram realizadas com padrões diferentes dos utilizados na preparação das curvas de calibração. Antes da fortificação as soluções das amostras foram avaliadas e os elementos alvo (Cd, Hg e Pb) não foram detectados. A exatidão foi avaliada a partir da recuperação do analito e do erro normalizado (En), cujos resultados são citados na Tabela 13. Conforme podemos verificar nesta tabela, as recuperações para os três elementos atendem aos requisitos do erro normalizado que deve ser menor ≤ 1 e da recuperação do analito

que, para os limites de concentração envolvidos, deve ser 80-110%,^{10,19,65} Portanto, pode-se considerar que o método é exato.

Tabela 13. Erro normalizado (En) e recuperação do analito, os quais foram calculados a partir das equações 27 e 8, respectivamente.

Analito	En	Recuperação do Analito, %
Cd	0,06	98,9
	0,35	97,7
Pb	0,05	99,3
	0,17	101
Hg	0,12	96,6
	0,19	102

5.2.5. Precisão

A precisão foi avaliada através da repetitividade e precisão intermediária, expressas pelo CV, que mede a dispersão dos resultados.^{19,65} Assim, foi avaliada a repetitividade para cada ponto das curvas de calibração dos três analitos, sendo os valores do CV apresentados na Tabela 14. Além disso, foram preparadas duas amostras “cegas” (as concentrações dos analitos nestas amostras eram desconhecidas) onde as concentrações dos analitos eram intermediárias àquelas nas soluções de calibração correspondentes aos pontos intermediários das curvas de calibração. Pode-se verificar na Tabela 14 que o critério de aceitação da repetitividade para os níveis de concentração avaliados (vide Tabela 11) é atendido.

Tabela 14. Coeficiente de variação (CV) das medidas para cada ponto das curvas de calibração e amostras “cegas”.

Parâmetro	Cd	Pb	Hg
		CV, %	
Amostras “cegas”	0,02	0,9	1,2
	0,3	2,1	0,5
Pontos da curva de calibração	1,1	3,0	1,6
	0,9	1,6	0,7
	1,1	0,5	0,8

	0,7	0,5	0,7
	0,6	0,7	1,0
Critério de aceitação da repetitividade	$CV \leq 15\%$		

Para avaliar a precisão intermediária (que representa a variabilidade dos resultados em um laboratório) dois analistas prepararam curvas de calibração e conduziram as medições em datas distintas. As concentrações em soluções correspondentes a dois pontos intermediários das curvas de calibração para cada elemento, chamadas de solução 1 e solução 2, foram determinadas e as medidas submetidas à ANOVA, cujos resultados são apresentados na Tabela 15. Como mostrado nesta tabela, os resultados obtidos pelos dois analistas foram concordantes, confirmando a precisão do método. A troca do analista não influenciou significativamente os resultados, pois segundo a ANOVA, $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$ para $p > 0,05$.

Tabela 15. Concentrações (em mg L^{-1}) encontradas por analistas distintos e ANOVA dos resultados. $F_{\text{crítico}}: 7,708$

Condição		Cd	Pb	Hg
Analista 1	Solução 1	0,0572	2,083	0,0256
	Solução 2	0,1351	8,147	0,0845
Analista 2	Solução 1	0,0541	2,163	0,0277
	Solução 2	0,1372	8,023	0,0898
Solução 1	F_{calculado}	1,05	3,44	1,94
	p	0,36	0,14	0,24
Solução 2	F_{calculado}	0,34	3,28	0,12
	p	0,59	0,14	0,75

Salienta-se que reprodutibilidade do método foi avaliada quando foram atribuídos os valores de propriedade, como discutido no item 5.5, adiante.

5.3. Homogeneidade dos materiais

Na avaliação da homogeneidade EF, 10 frascos foram selecionados aleatoriamente para cada amostra e o material em cada frasco foi analisado em triplicata. Os resultados foram submetidos ao teste de Grubbs ($n = 30$, $G_{\text{crítico}} = 2,91$)^{36, 60, 67} e foram encontrados *outliers* com respeito ao Pb nas amostras A, C e D, um *outlier* para cada amostra. Com respeito ao Cd, foram encontrados *outliers* para as amostras C e D, dois *outliers* para cada uma delas. Por fim, foram

encontrados *outliers* com respeito ao Hg, sendo 2 para a amostra A e 1 para a amostra C. Todos os *outliers* foram excluídos no cálculo das médias e desvios padrão, os quais são apresentados nas Tabelas 16, 18, 20 e 22. Posteriormente, os dados foram submetidos à ANOVA, cujos resultados são apresentados nas Tabelas 17, 19, 21 e 23.

Tabela 16. Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (em mg kg⁻¹) encontradas no material correspondente à amostra A (Zn em pó, comercial) na avaliação da homogeneidade; n = 3

Frasco	Cádmio		Chumbo		Mercúrio	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
4	635	28	998	11	356	19
7	652	20	998	22	346	30
10	689	11	998	17	362	6,2
18	683	17	1008	25	370	20
19	676	28	986	26	325	34
23	650	30	1004	29	352	28
27	601	15	999	8,8	329	33
38	610	5,8	1024	16	303	6,9
46	632	11	1046	16	376	89
50	624	12	1043	25	312	11

Tabela 17. Resultados da ANOVA de fator único na avaliação da homogeneidade do material correspondente à amostra A (Zn em pó, comercial).

	Fonte da variação	SQ	GI*	MQ	F _{calculado}	p	F _{crítico}
Cádmio	Entre frascos	24756	9	2751	7,25	0,00012	2,39
	Dentro dos frascos	7586	20	379			
	Total	32342	29	-			
Chumbo	Entre frascos	9870	9	1097	2,59	0,038	2,42
	Dentro dos frascos	8034	19	423			
	Total	17904	28	-			
Mercúrio	Entre frascos	13724	9	1525	1,57	0,20	2,46

Dentro dos frascos	17521	18	973
Total	31245	27	-

*Gl: graus de liberdade

Tabela 18. Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (em mg kg⁻¹) encontradas no material correspondente à amostra B (ânodo de pilha alcalina) na avaliação da homogeneidade.

Frasco	Cádmio		Chumbo		Mercúrio	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
4	658	30	1096	8,8	359	13
7	753	35	1063	40	335	34
10	763	16	1061	26	383	35
18	713	66	1101	43	439	21
19	713	74	1024	69	379	19
23	688	26	1055	85	353	18
27	690	62	10,6.10 ²	1,3.10 ²	350	42
38	634	26	971	36	410	14
46	665	22	975	12	394	26
50	684	29	962	32	421	23

Tabela 19. Resultados da ANOVA de fator único na avaliação da homogeneidade do material correspondente à amostra B (ânodo de pilha alcalina).

	Fonte da variação	SQ	Gl*	MQ	F _{calculado}	p	F _{crítico}
Cádmio	Entre frascos	44057	9	4895	2,59	0,04	2,39
	Dentro dos frascos	37883	20	1892			
	Total	81890	29	-			
Chumbo	Entre frascos	67384	9	7487	2,08	0,08	2,39
	Dentro dos frascos	72115	20	3606			
	Total	139499	29	-			

Mercurio	Entre frascos	30774	9	3419			
	Dentro dos frascos	13669	20	684	5,00	0,0013	2,39
	Total	44443	29	-			

*GI: graus de liberdade

Tabela 20. Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (em mg kg⁻¹) encontradas no material correspondente à amostra C (MnO₂, comercial) na avaliação da homogeneidade.

Frasco	Cádmio		Chumbo		Mercúrio	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
4	331,5	4,5	58,4.10 ²	4,1.10 ²	278	15
7	332,4	-----*	54,6.10 ²	3,2.10 ²	267	5,8
10	344,8	3,5	5944,7	80	272	11
18	345,7	2,4	54,0.10 ²	1,9.10 ²	272	4,8
19	342,9	1,4	55,8.10 ²	8,3.10 ²	274	14
23	340,6	0,9	5503	62	273	12
27	338,7	1,2	57,1.10 ²	2,9.10 ²	280	10
38	342,9	3,1	6103	35	282	5,6
46	342,2	1,7	56,6.10 ²	3,7.10 ²	281	7,8
50	338,8	1,7	57,6.10 ²	1,6.10 ²	271	3,4

*Não apresentou desvio, pois as outras medidas foram eliminadas no teste de outliers.

Tabela 21. Resultados da ANOVA de fator único na avaliação da homogeneidade do material correspondente à amostra C (MnO₂, comercial).

	Fonte da variação	SQ	GI*	MQ	F _{calculado}	p	F _{crítico}
Cádmio	Entre Frascos	506,3	9	56,3		0,0000 5,0	2,46
	Dentro dos fracos	116,4	18	6,50	8,70		
	Total	622,7	27	-			
Chumbo	Entre Frascos	1321260	9	146807		0,21	2,42
	Dentro dos fracos	1820187	19	95799	1,53		
	Total	3141448	28	-			
Mercurio	Entre Frascos	682,4	9	75,8	0,74	0,67	2,42

Dentro dos fracos	1947,5	19	102,5
Total	2629,9	28	-

*Gl: graus de liberdade

Tabela 22. Concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio (em mg kg⁻¹) encontradas no material correspondente à amostra D (cátodo de pilha alcalina) na avaliação da homogeneidade.

Frasco	Cádmio		Chumbo		Mercúrio	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
4	373	9,0	60,2.10 ²	2,0.10 ²	324	8,2
7	356	17	60,0.10 ²	4,2.10 ²	261	15
10	374	29	57,6.10 ²	5,4.10 ²	293	23
18	369	24	6380	11	231	12
19	363	19	57,8.10 ²	3,5.10 ²	248	25
23	386	10	5442	76	302	8,3
27	385	13	5791	81	297	14
38	387	1,1	60,1.10 ²	1,5.10 ²	323	30
46	367	14	56,3.10 ²	2,0.10 ²	320	31
50	363	20	54,8.10 ²	2,3.10 ²	284	64

Tabela 23. Resultados da ANOVA de fator único na avaliação da homogeneidade do material correspondente à amostra D (cátodo de pilha alcalina).

	Fonte da variação	SQ	Gl*	MQ	F _{calculado}	p	F _{crítico}
Cádmio	Entre Frascos	2704	9	300,4			
	Dentro dos fracos	5816	18	323,1	0,93	0,52	2,46
	Total	8520	27	-			
Chumbo	Entre Frascos	1803210	9	200357			
	Dentro dos fracos	1526054	19	80319	2,50	0,044	2,42
	Total	3329264	28	-			
Mercúrio	Entre Frascos	28349	9	3150			
	Dentro dos fracos	15766	20	788	4,00	0,005	2,39
	Total	44116	29	-			

*Gl: graus de liberdade

A média e o desvio padrão da concentração de cada elemento alvo em cada frasco estão apresentados graficamente nas Figuras 43 a 54. Nestas figuras, os resultados correspondem à média e ao desvio padrão para uma análise em triplicata do material em cada frasco.

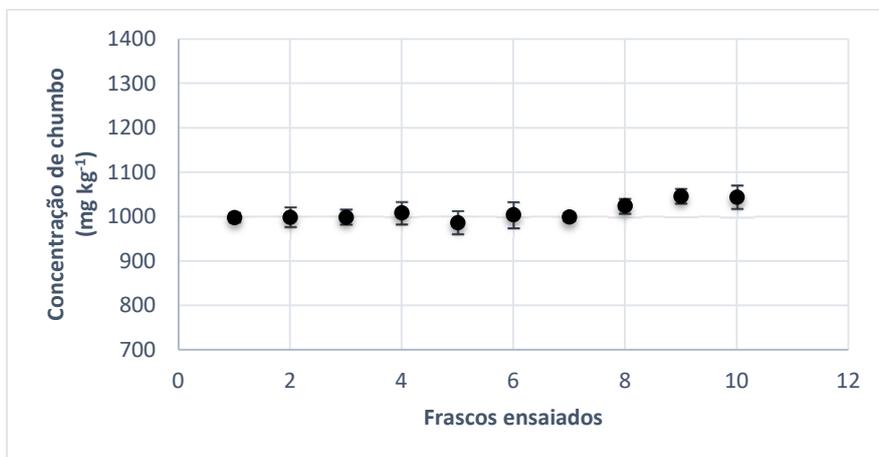


Figura 43. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para chumbo na amostra A (Zn em pó).

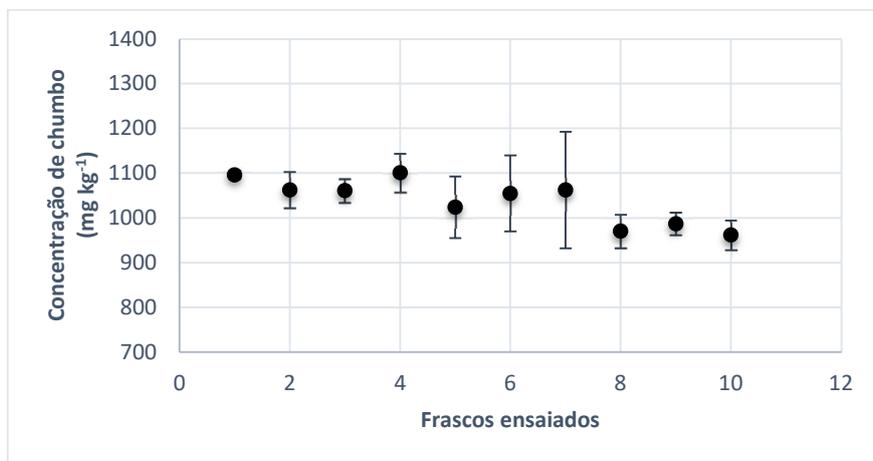


Figura 44. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Pb na amostra B (ânodo de pilha alcalina).

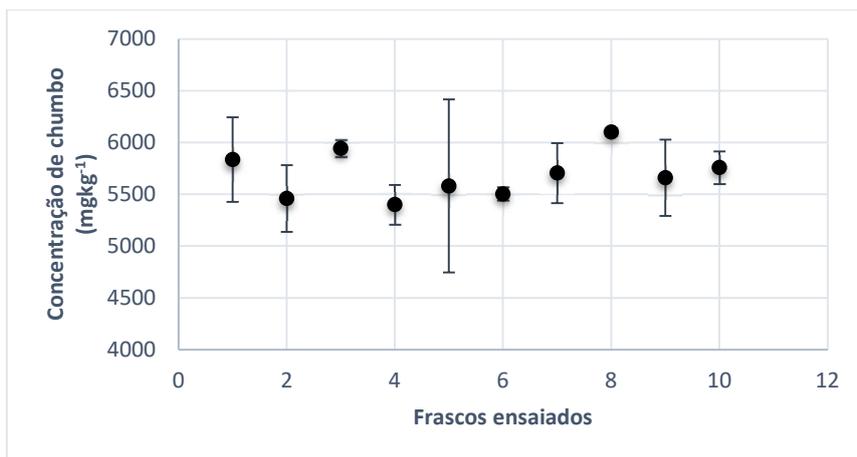


Figura 45. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Pb na amostra C (MnO₂ comercial).

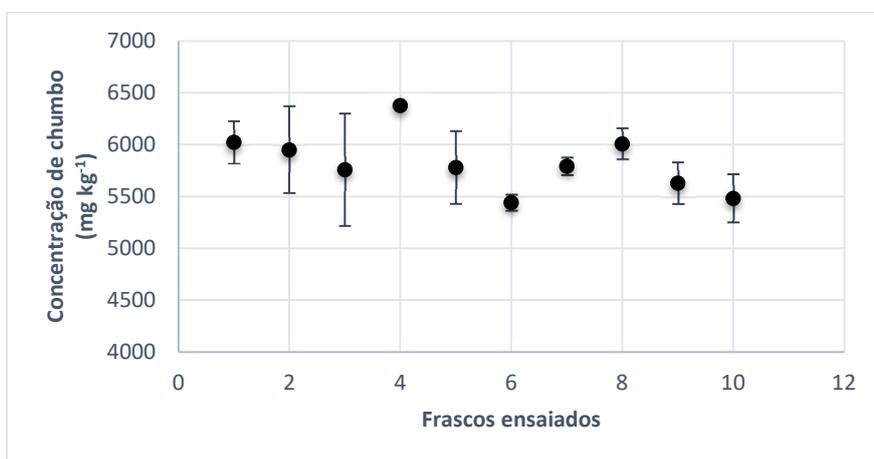


Figura 46. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Pb na amostra D (cátodo de pilha alcalina).

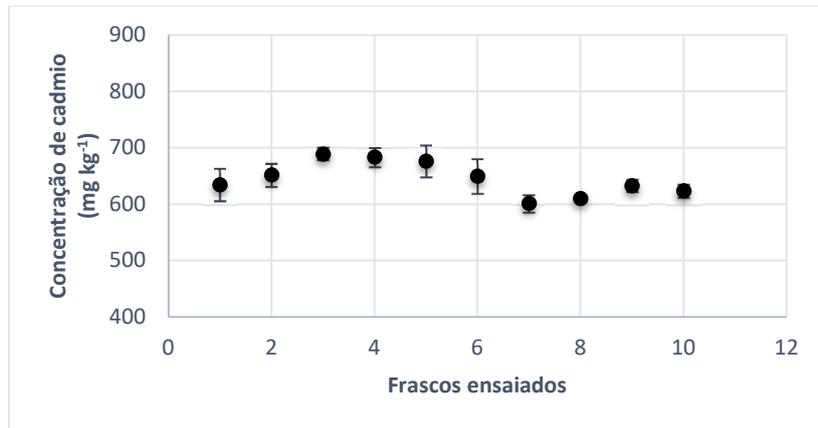


Figura 47. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Cd na amostra A (Zn em pó).

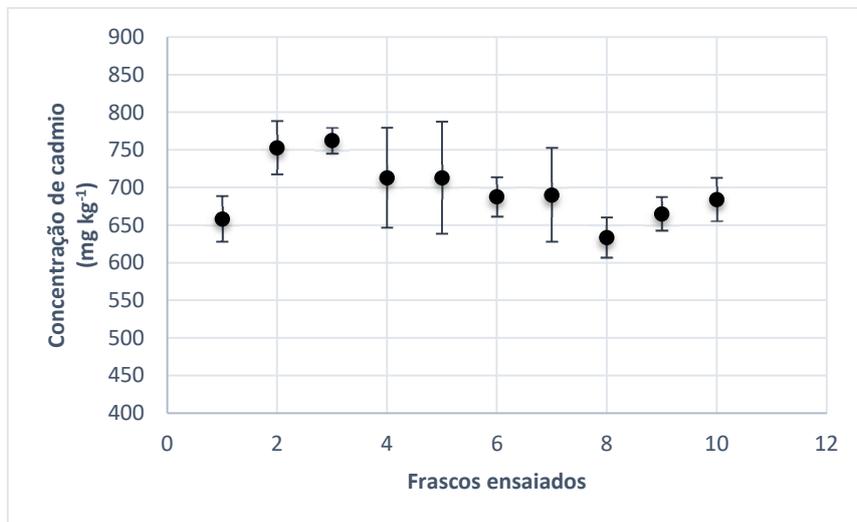


Figura 48. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Cd na amostra B (ânodo de pilha alcalina).

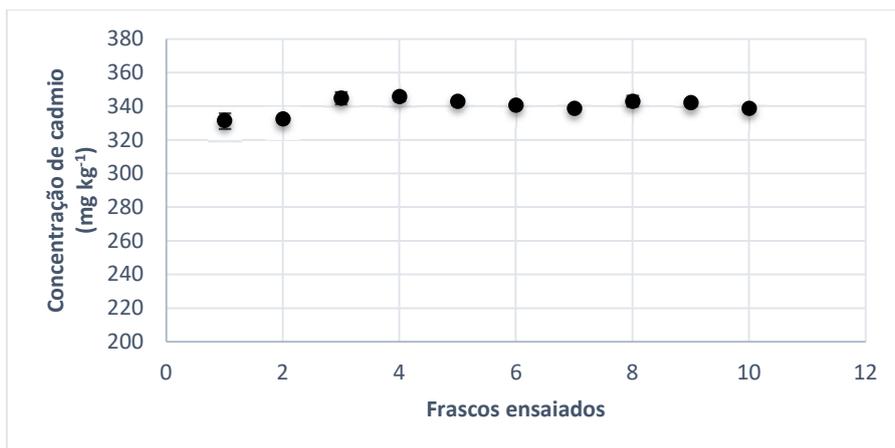


Figura 49. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Cd na amostra C (MnO_2 comercial).

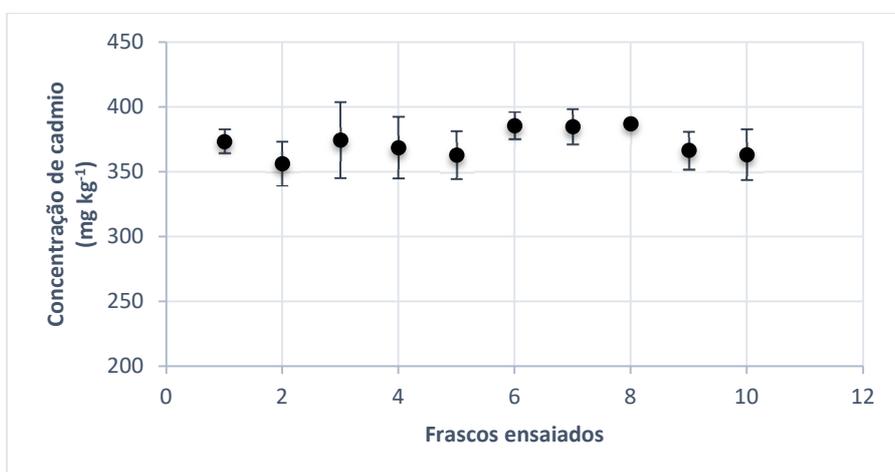


Figura 50. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Cd na amostra D (cátodo de pilha alcalina).

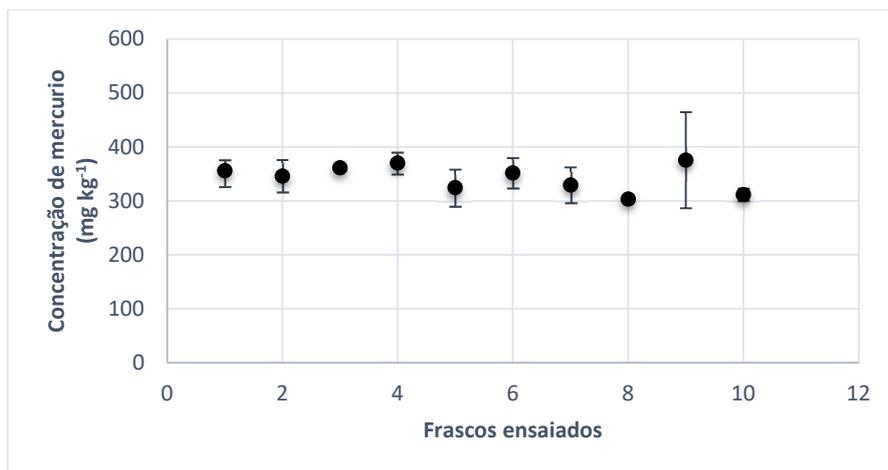


Figura 51. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Hg na amostra A (Zn em pó).

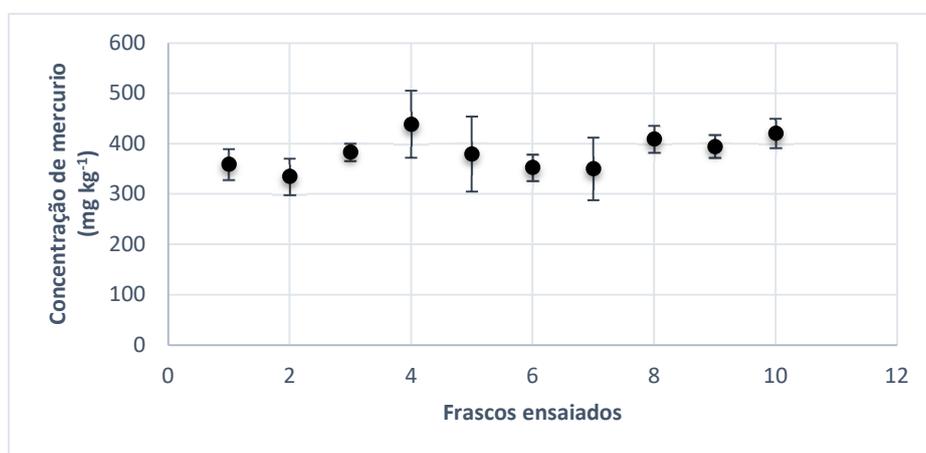


Figura 52. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Hg na amostra B (ânodo de pilha alcalina).

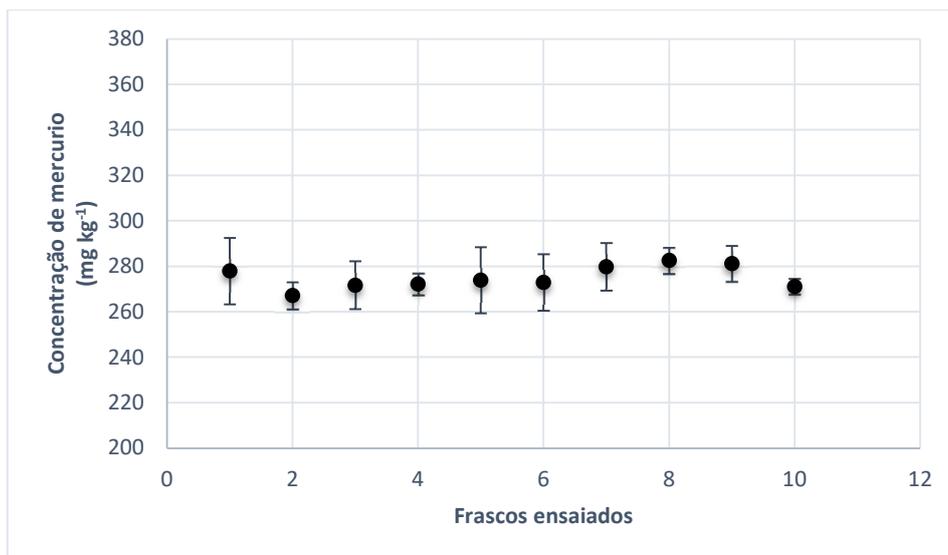


Figura 53. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Hg na amostra C (MnO_2 comercial).

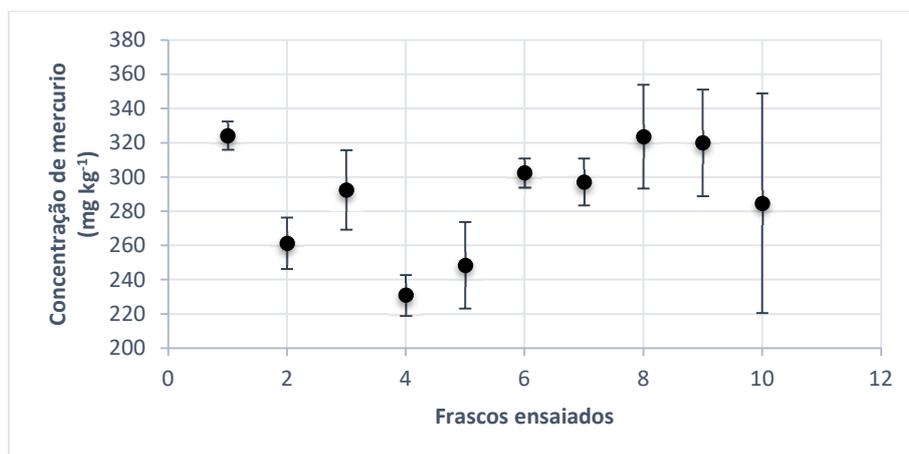


Figura 54. Resultados obtidos na avaliação da homogeneidade para Hg na amostra D (cátodo de pilha alcalina).

De acordo com os resultados mostrados nas Tabelas 17 e 21, o Hg é homogeneamente distribuído nas amostras A e C, amostras comerciais, dentro dos frascos e entre os frascos, pois $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$ e $p > 0,05$. O mesmo resultado foi encontrado para Pb nas amostras B (Tabela 19) e C (Tabela 21) e para Cd na amostra D (Tabela 23). No entanto, para Pb nas amostras A e D, Cd nas amostras A, B e C e Hg nas amostras B e D, $F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$, denotando a heterogeneidade dos materiais com respeito à distribuição dos elementos alvo. Sendo assim, foram calculados a média, o desvio padrão e o CV de todos os resultados obtidos para cada amostra, os quais são apresentados na Tabela 24.³⁷ Como se pode observar nesta tabela, o CV é inferior a 15%, critério anteriormente assumido (Tabela 14) como limite máximo de variabilidade. Desse modo, os materiais candidatos atendem ao requisito de homogeneidade em

relação às concentrações de chumbo, cádmio e mercúrio entre os frascos (EF) e dentro dos frascos (DF).³⁷

Tabela 24. Média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) das concentrações dos elementos nas amostras no estudo de homogeneidade; n = 30. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.

Elemento	Amostra	Média, mg kg ⁻¹	Desvio Padrão, mg kg ⁻¹	CV, %
Cádmio	A	645	28	4
	B	696	44	6
	C	337,9	6,0	2
	D	366	19	5
Chumbo	A	1012	22	2
	B	1037	61	6
	C	5710	30	5
	D	5840	32	6
Mercúrio	A	339	39	12
	B	382	32	8
	C	273,8	8,3	3
	D	284	32	11

Foi observado que $MQ_{EF} > MQ_{DF}$ e isso indica que a incerteza padrão (μ_{bb}) devido à falta de homogeneidade é equivalente ao desvio padrão entre os grupos (s_{bb}),^{37,55} dada pela equação 12. No entanto, para Hg na amostra C e Cd na amostra D, o $MQ_{EF} < MQ_{DF}$ e, assim, a estimativa da incerteza entre os frascos (μ_{bb}) foi calculada (equação 13).^{37,55} A incerteza padrão e o desvio padrão da repetitividade calculados no estudo da homogeneidade são citados na Tabela 25, os quais foram computados no cálculo da incerteza expandida (U_{MRC}).

Tabela 25. Incerteza padrão e desvio padrão da repetitividade, em mg kg⁻¹, calculados no estudo da homogeneidade dos materiais candidatos. Com exceção do Hg na amostra C e Cd na amostra D,

$\mu_{bb} = s_{bb}$, sendo s_{bb} o desvio padrão entre os frascos. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.

Elemento	Amostra	Incerteza Padrão (μ_{bb}) entre Frascos	Desvio Padrão da Repetitividade s_r
Cádmio	A	28	20
	B	32	44
	C	4,1	2,5
	D	4,4	18
Chumbo	A	15	20
	B	36	60
	C	1,3.10 ²	3,1.10 ²
	D	2,0.10 ²	2,8.10 ²
Mercúrio	A	14	31
	B	30	26
	C	2,1	10
	D	28	28

5.3.1. Determinação da massa mínima a ser utilizada na análise

Para a determinação da homogeneidade em relação à massa mínima de material a ser utilizada, foram realizadas análises dos materiais contidos nos frascos 5, 11 e 41 de cada lote de material (alíquotas de 100, 250, 500 e 1000 mg de cada um deles foram analisadas), cujos resultados são apresentados nas Figuras 55 a 58. Como podemos verificar nestas figuras, a média dos resultados permaneceu dentro da faixa dos valores de concentração máximos e mínimos encontrados nos testes de homogeneidade. No entanto, se for considerado o desvio padrão, este extrapolou a faixa de concentração. Assim sendo, para a determinação de Pb, Cd e Hg no material correspondente à mostra A a massa mínima de amostra poderia ser 100 mg e acima de 100 mg dos demais materiais para uma determinação simultânea dos três elementos. Contudo, conforme os resultados da ANOVA (Tabela 26), os valores de concentração não diferiram entre si e todos atendem ao requisito de homogeneidade com respeito à massa do material utilizado na análise.

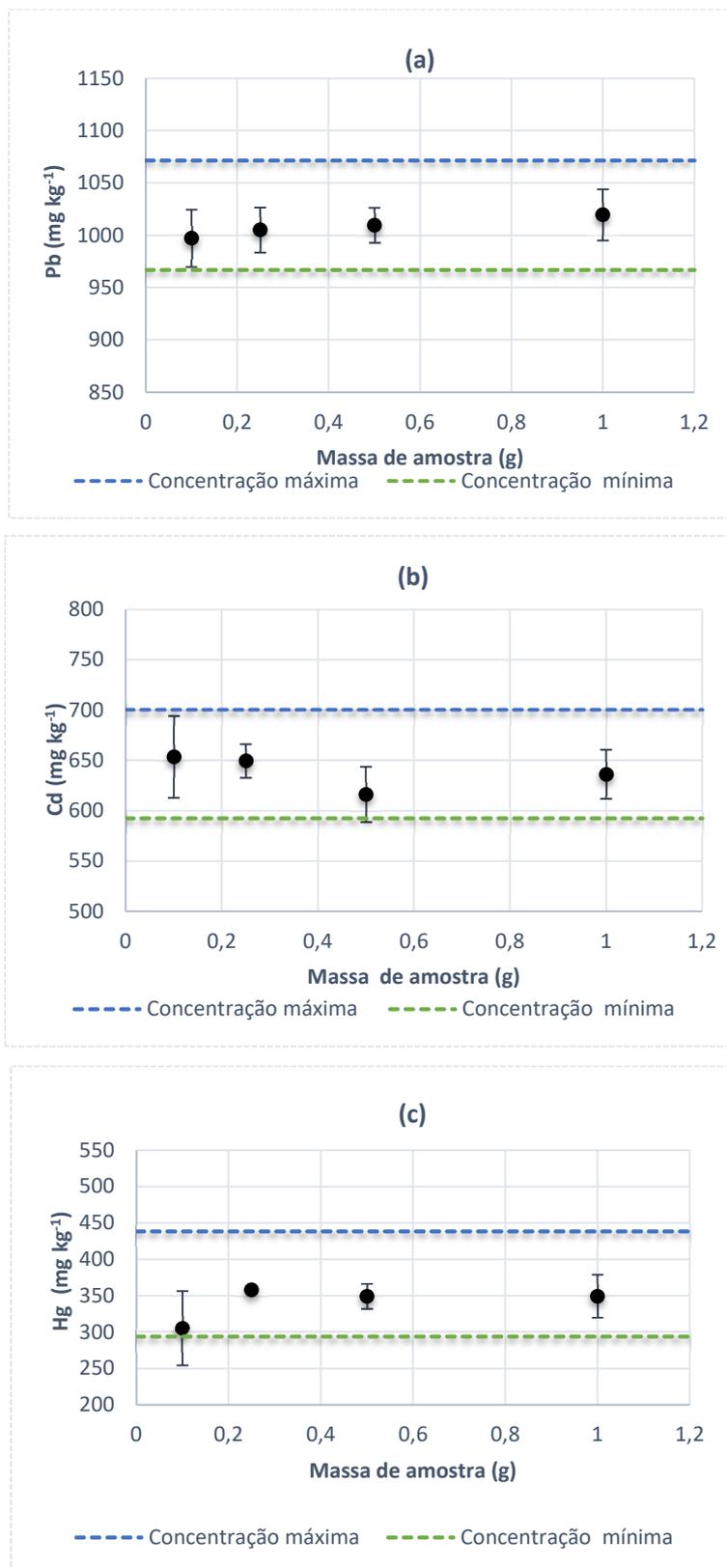


Figura 55. Influência da massa do material candidato correspondente à amostra A (Zn em pó) na determinação de chumbo (a), Cd (b) e Hg (c). Cada ponto corresponde à média e ao desvio padrão dos resultados obtidos numa análise em triplicata.

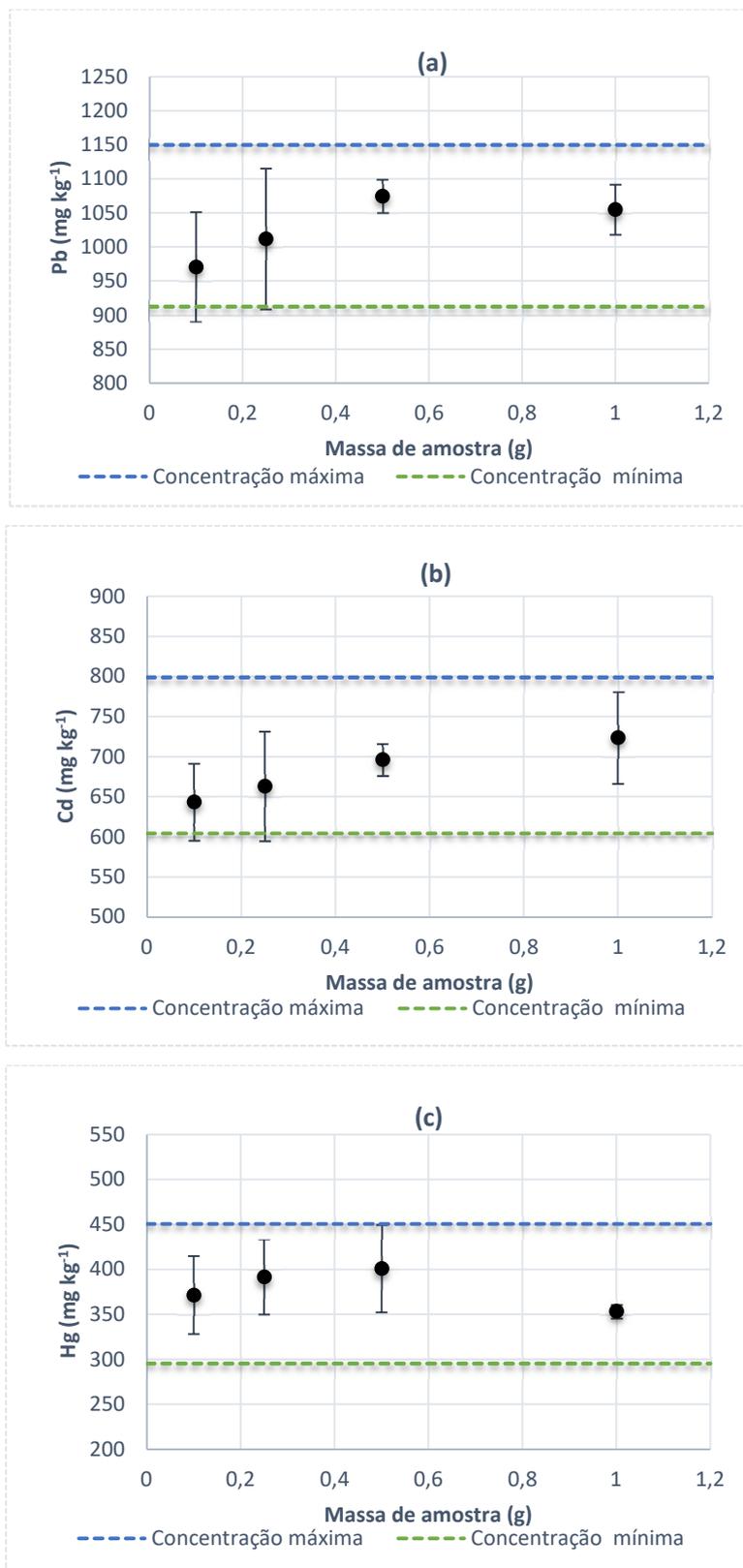


Figura 56. Influência da massa do material candidato correspondente à amostra B (ânodo de pilha alcalina) na determinação de chumbo (a), Cd (b) e Hg (c). Cada ponto corresponde à média e ao desvio padrão dos resultados obtidos numa análise em triplicata.

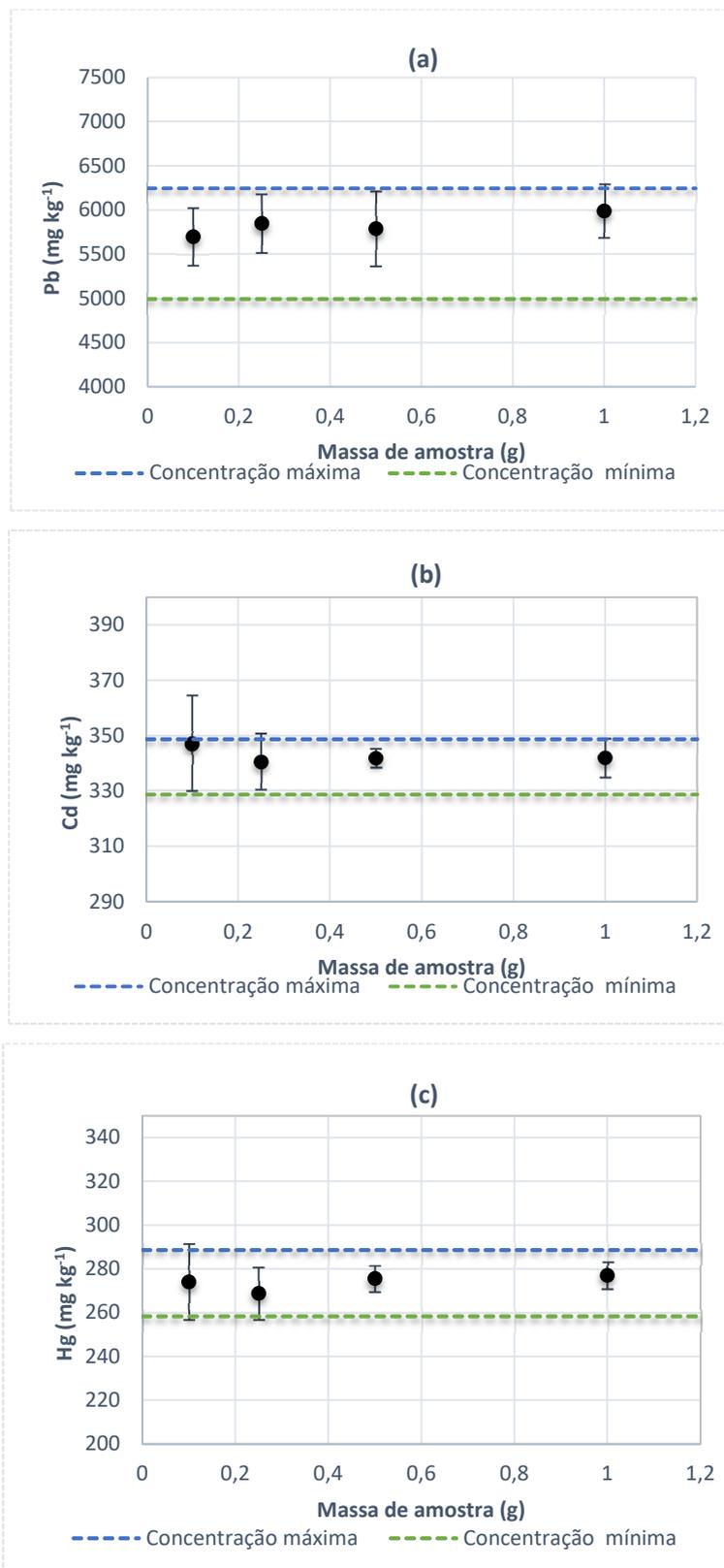


Figura 57. Influência da massa do material candidato correspondente à amostra C (MnO₂ comercial) na determinação de chumbo (a), Cd (b) e Hg (c). Cada ponto corresponde à média e ao desvio padrão dos resultados obtido para numa análise em triplicata.

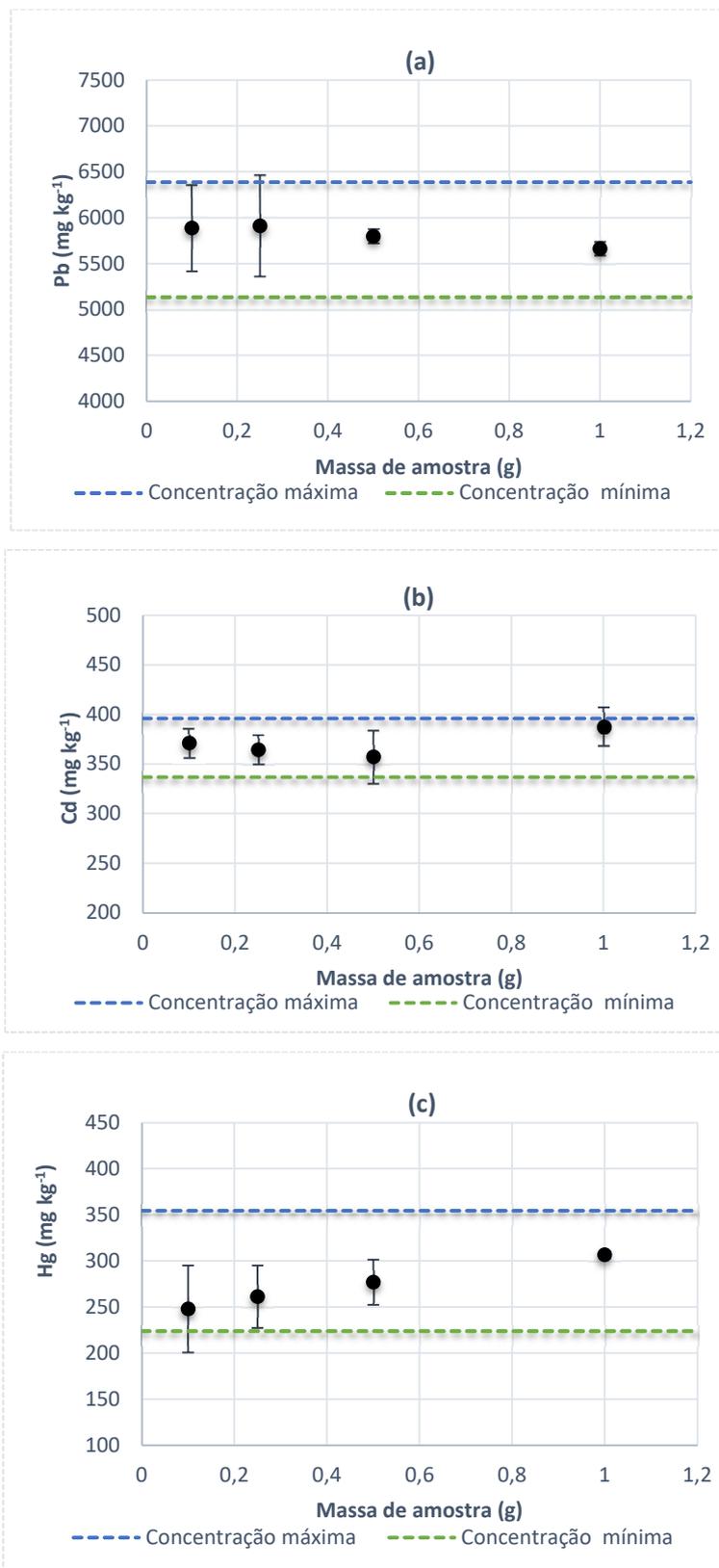


Figura 58. Influência da massa do material candidato correspondente à amostra D (cátodo de pilha alcalina) na determinação de Pb (a), Cd (b) e Hg (c). Cada ponto corresponde à média e ao desvio padrão dos resultados obtidos numa análise em triplicata.

Tabela 26. Resultados da ANOVA dos dados obtidos na avaliação da massa mínima de amostra necessária na determinação dos três elementos; 11 graus de liberdade (n-1) e nível de confiança de 95,45%; $F_{\text{crítico}} = 4,07$

Amostra	Elemento	F_{calculado}	p
A (Zn em pó comercial)	Chumbo	0,51	0,68
	Cádmio	1,27	0,35
	Mercúrio	3,00	0,09
B (Ânodo de pilha alcalina)	Chumbo	1,37	0,32
	Cádmio	1,29	0,34
	Mercúrio	1,06	0,42
C (MnO ₂ comercial)	Chumbo	0,44	0,73
	Cádmio	3,74	0,06
	Mercúrio	0,27	0,84
D (Cátodo de pilha alcalina)	Chumbo	0,18	0,91
	Cádmio	1,40	0,31
	Mercúrio	1,40	0,31

Mesmo que todos os valores de concentração atendam aos requisitos de homogeneidade para massa de amostra ≥ 100 mg, conforme os resultados obtidos na ANOVA (Tabela 26), em alguns casos a média e o desvio padrão extrapolam a faixa de concentração esperada (Figuras 56 a 58). Desse modo, a massa mínima de amostra dos materiais candidatos a ser usada na análise e que deverá constar nos respectivos certificados é 250 mg.

5.4. Estabilidade dos materiais

5.4.1. Estabilidade a curto prazo

Para avaliar a estabilidade dos materiais a curto prazo, três frascos de cada um deles foram mantidos em 25°C e 40°C em 50% e 80% de umidade relativa (u.r.) durante 30 dias, cujos resultados são mostrados nas Figuras 59, 60 e 61. Nestas figuras, as concentrações mínimas e máximas são as que foram encontradas nos testes de homogeneidade dos materiais.

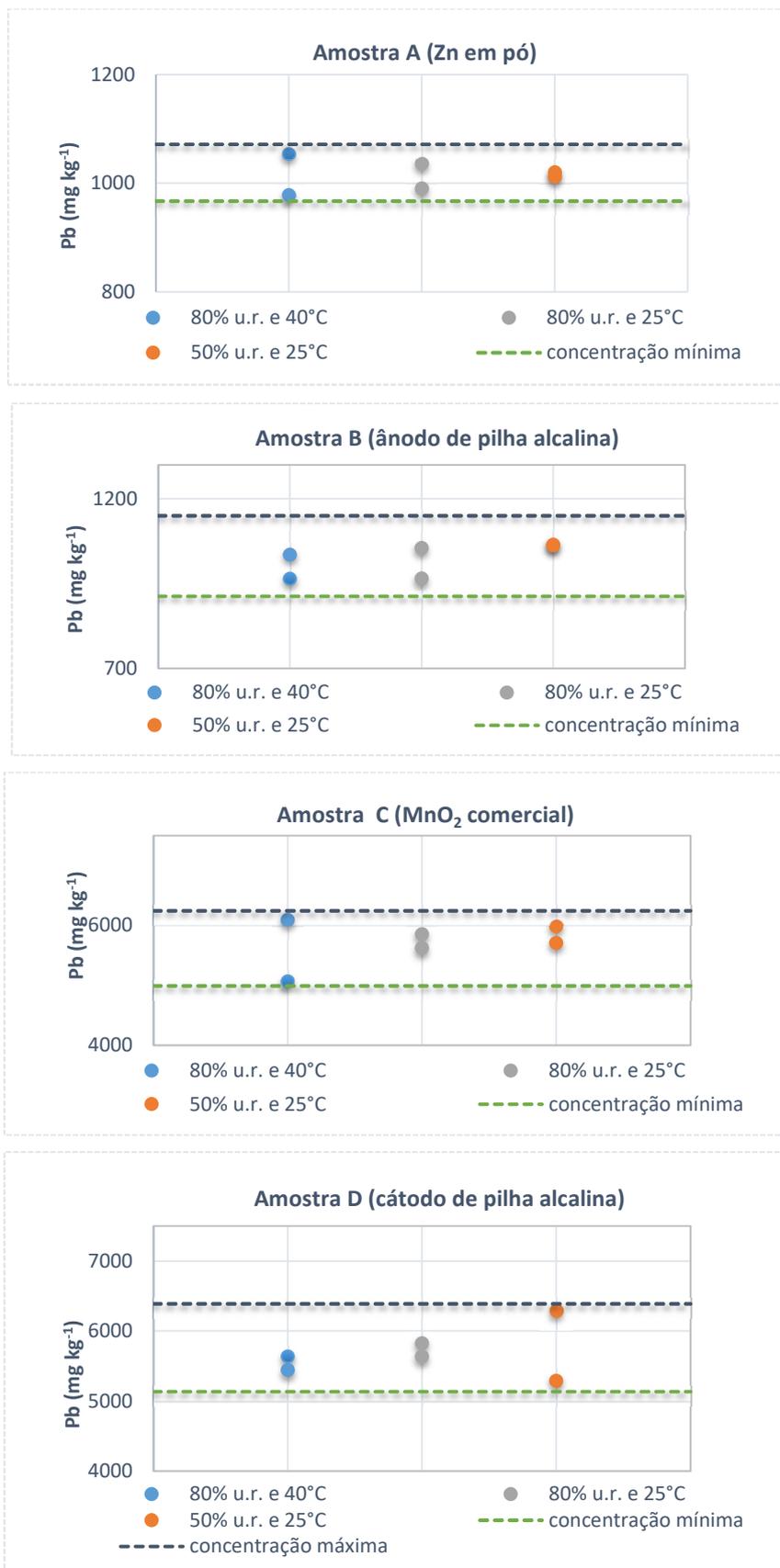


Figura 59. Influência da temperatura e umidade relativa (u.r.) na concentração de chumbo avaliada no teste de estabilidade a curto prazo dos materiais.

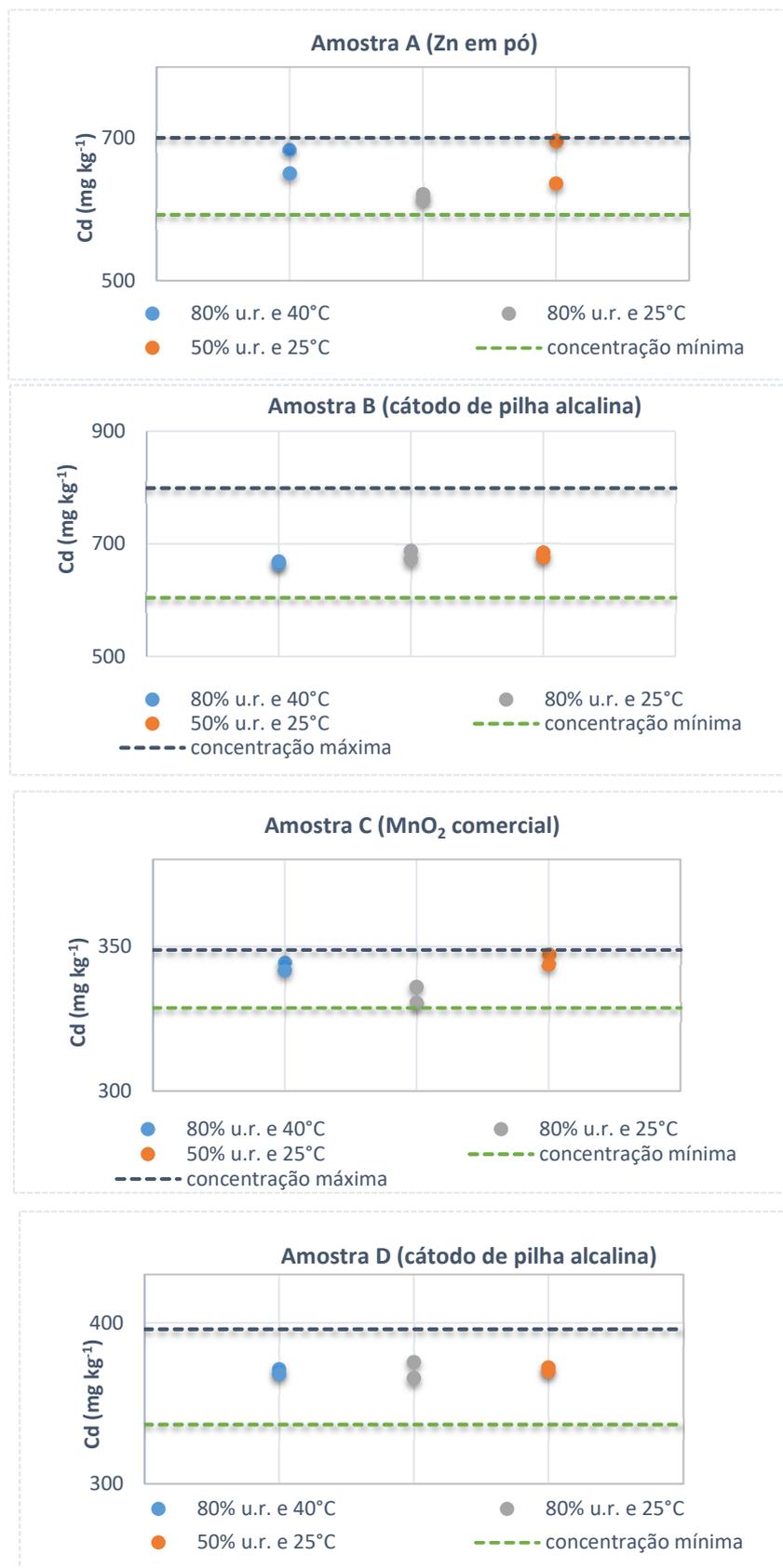


Figura 60. Influência da temperatura e umidade relativa (u.r.) na concentração de cádmio avaliada no teste de estabilidade a curto prazo dos materiais.

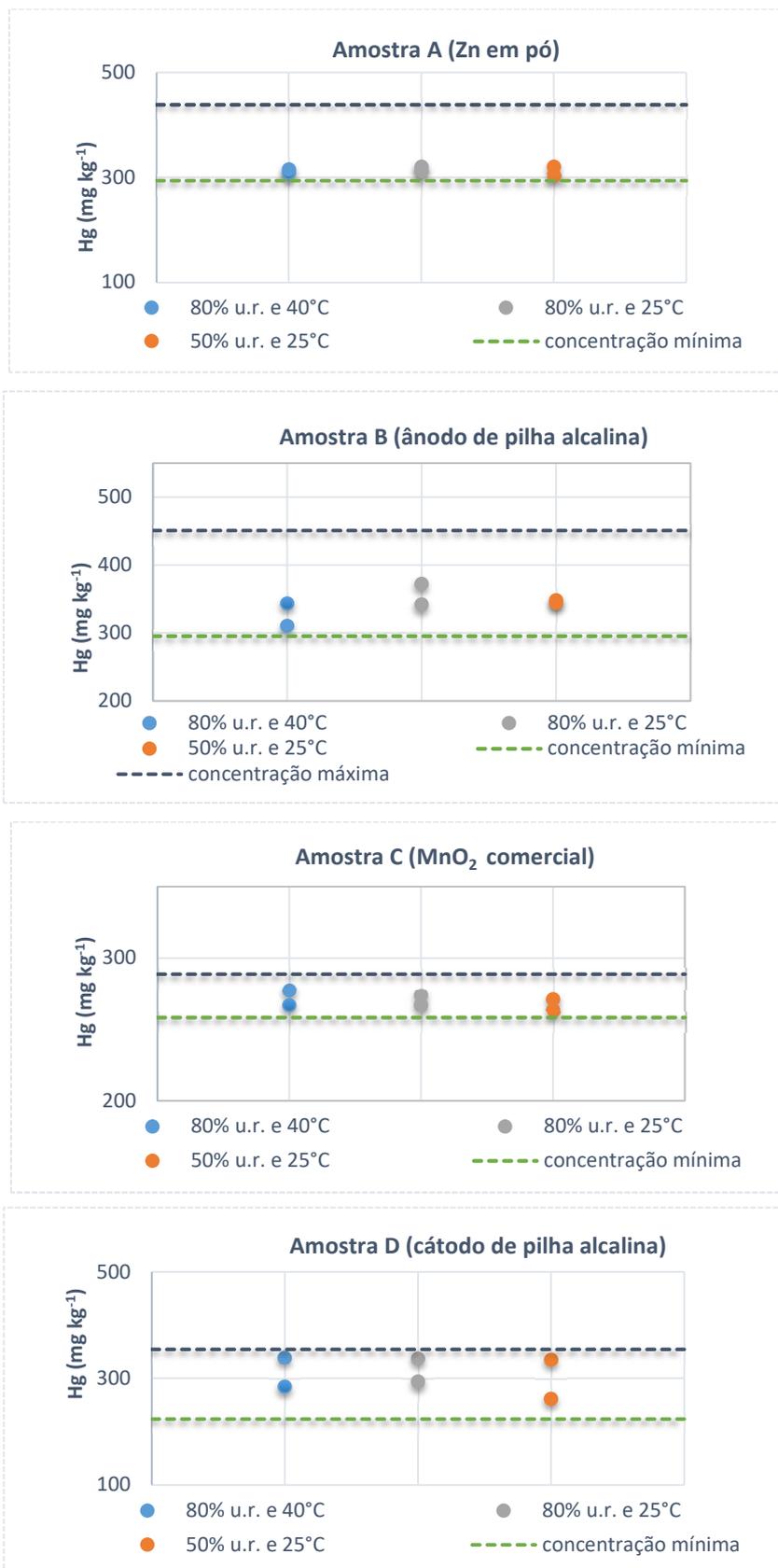


Figura 61. Influência da temperatura e umidade relativa (u.r.) na concentração de mercúrio avaliada no teste de estabilidade a curto prazo dos materiais.

Como mostrado nas Figuras 59 a 61, os valores de concentração dos três elementos ficaram no intervalo compreendido pela máxima e mínima concentração de cada elemento encontradas no teste de homogeneidade. A estabilidade dos quatro materiais observada está de acordo com outros trabalhos já publicados sobre o assunto.^{14,25,26,54,67} Assim, a condição a ser recomendada para o transporte e armazenamento dos futuros MRCs será temperatura máxima de 40 °C e umidade relativa do ar de no máximo 80%, quando eles forem destinados à determinação de Pb, Cd e Hg. Nestas condições podemos considerar que os materiais possuem estabilidade a curto prazo, ou seja, a incerteza com relação ao transporte dos mesmos não precisa ser levada em consideração e, assim, $U_{sts} = 0$.

5.4.2. Estabilidade a longo prazo.

Para avaliar a estabilidade a longo prazo dos materiais candidatos, três frascos de cada material foram testados bimestralmente durante 12 meses (em 7 períodos - $t_0, t_1, t_2, t_3, t_4, t_5$ e t_6), perfazendo um total de 21 medições por elemento para cada material. Como citado anteriormente, não há um modelo físico-químico que descreva realisticamente a degradação dos materiais candidatos e, assim sendo, o modelo linear empírico representado pela equação 14 foi adotado.⁵² As concentrações médias encontradas na análise de cada material nos três frascos foram plotadas em função do tempo, cujas retas obtidas são mostradas nas Figuras 62 a 64.

Na avaliação de *outliers*, pelo teste de Grubbs ($n = 21$ e $G_{\text{crítico}} = |2,35|$), entre os dados obtidos nos testes de estabilidade a longo prazo dos materiais, foram excluídos dois valores de concentração de chumbo e cádmio e um de mercúrio para a amostra A (Zn em pó); um correspondente ao mercúrio para amostra B (ânodo de pilha alcalina); um correspondente ao chumbo e dois ao cádmio para a amostra C (MnO_2 comercial) e, por fim, dois relacionados ao o chumbo, três ao cádmio e um ao mercúrio para a amostra D (cátodo de pilha alcalina). Isto evidenciou a importância da exclusão de valores *outliers* para que a incerteza não seja superestimada ou subestimada por causa do erro aleatório calculado inadequadamente.

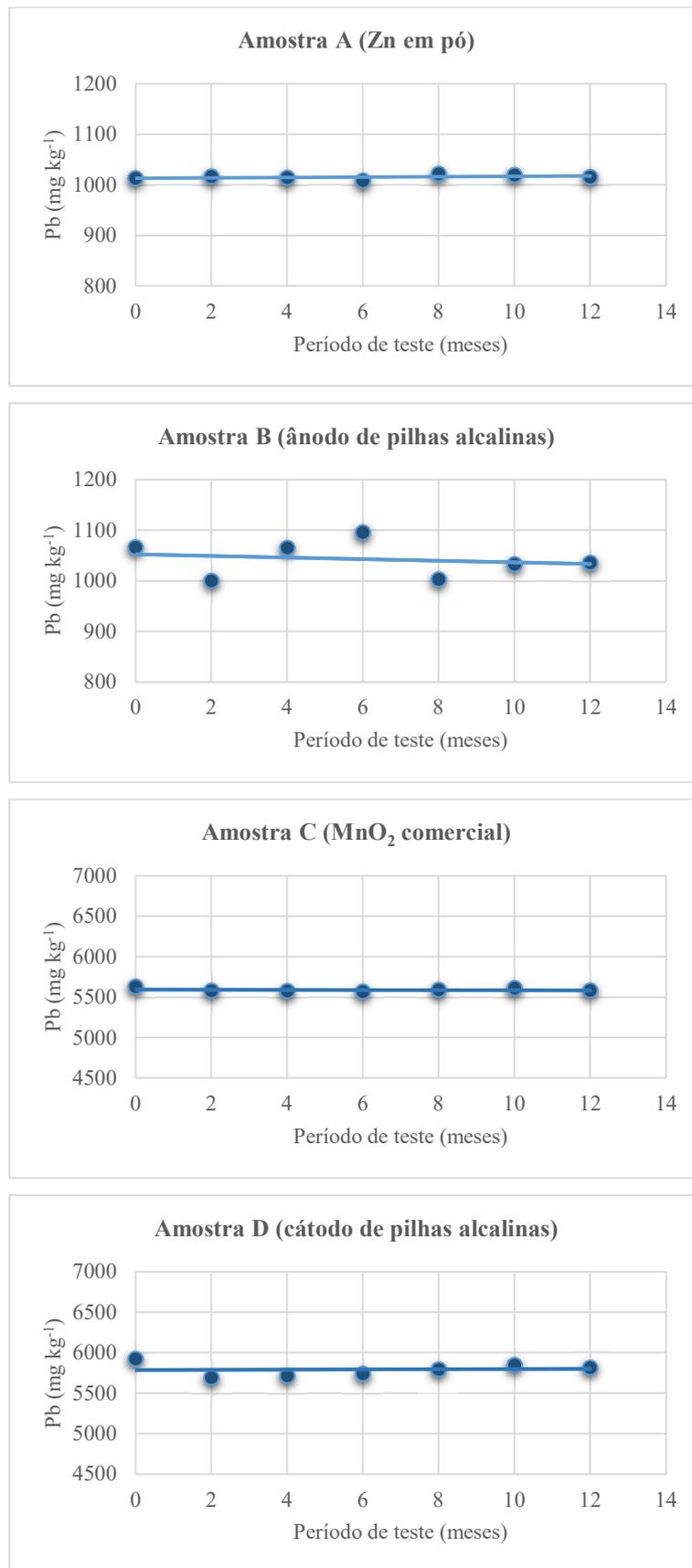


Figura 62. Influência do tempo na concentração de chumbo avaliada no teste de estabilidade a longo prazo dos materiais.

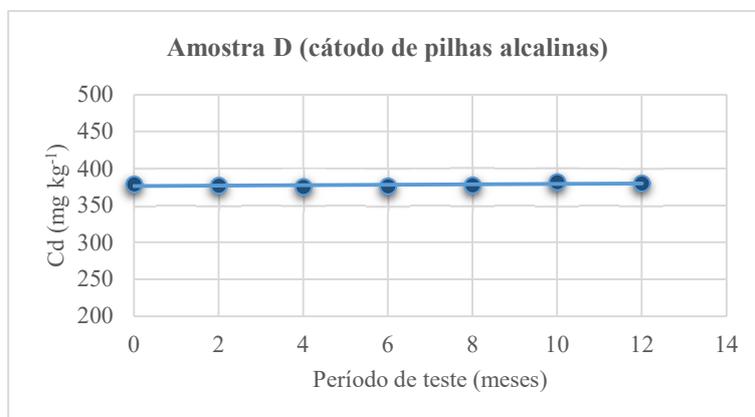
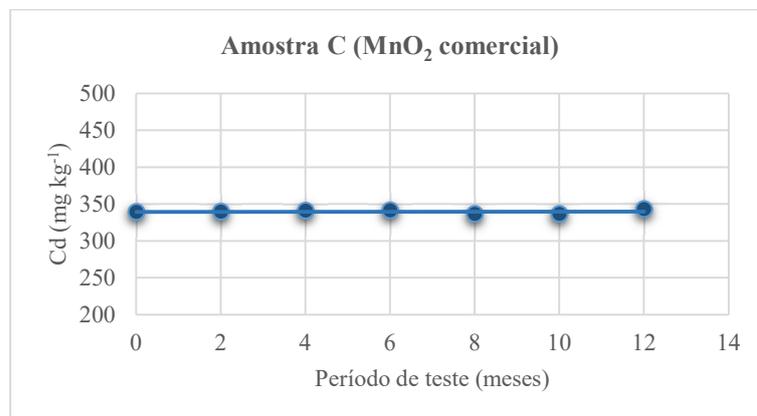
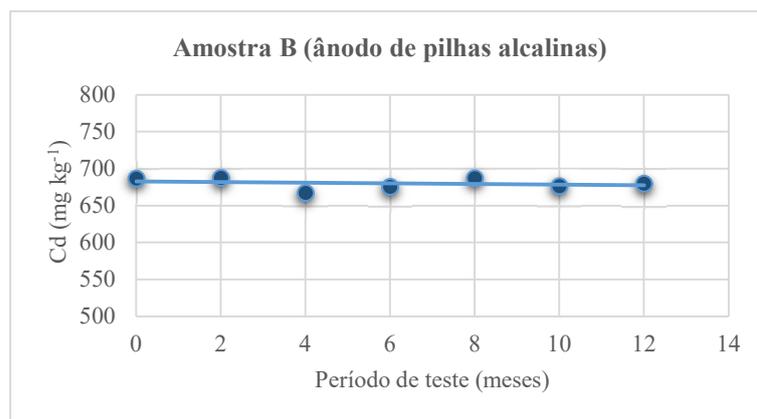
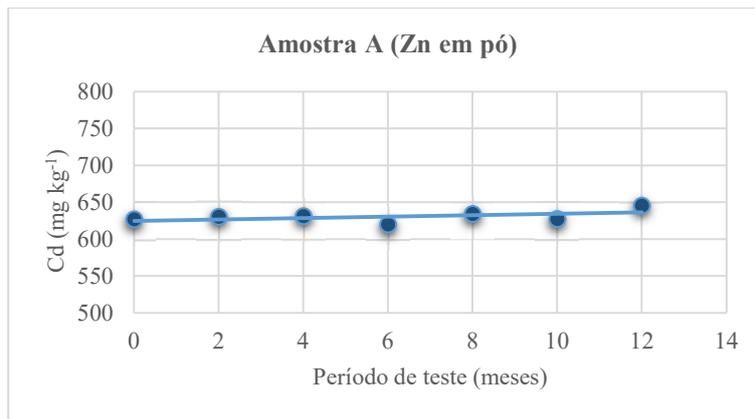


Figura 63. Influência do tempo na concentração de cádmio avaliada no teste de estabilidade dos materiais a longo prazo.

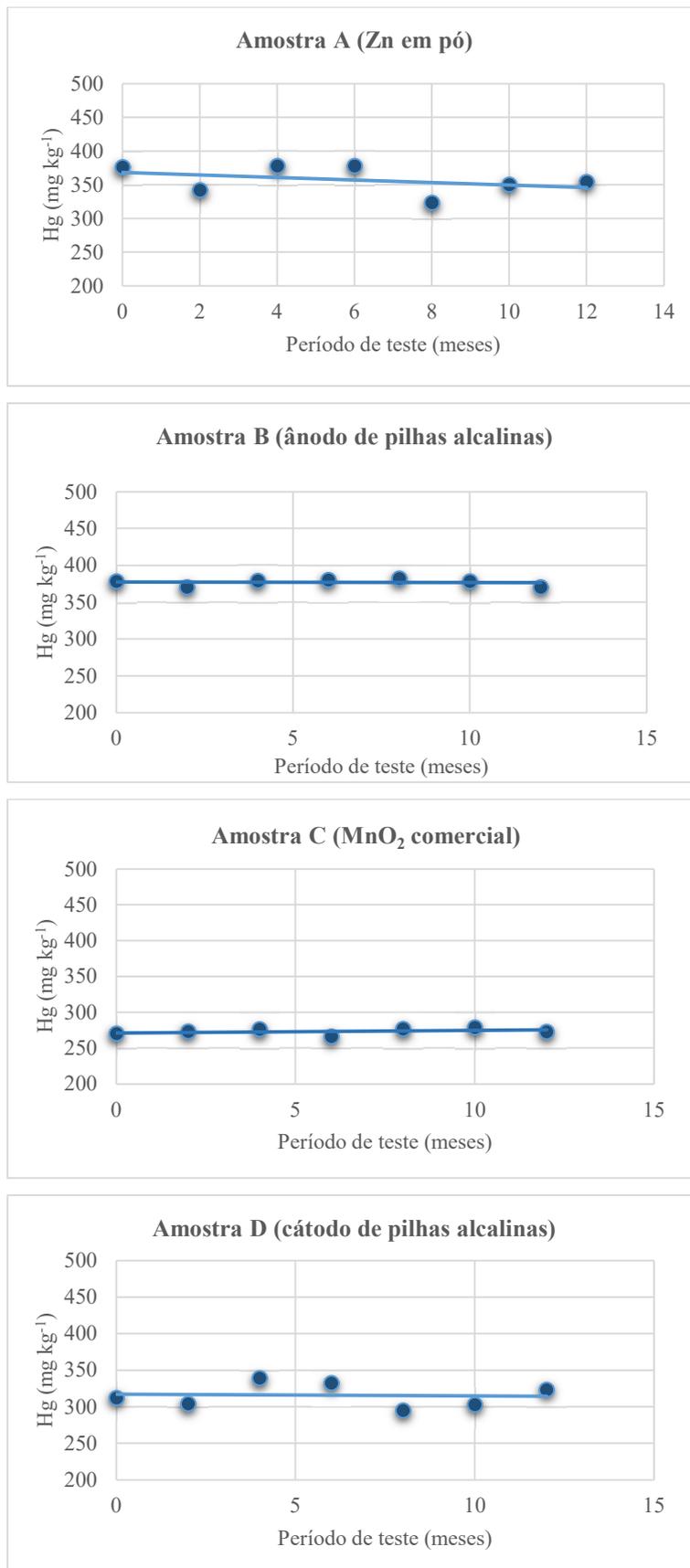


Figura 64. Influência do tempo na concentração de mercúrio avaliada no teste de estabilidade dos materiais a longo prazo.

A inclinação (b_1) das retas (Figuras 62, 63 e 64) foi calculada conforme equação 15. A inclinação (coeficiente angular) não deve desviar-se significativamente de zero e caso $|b_1| < t_{0,95,n-2} \cdot s(b_1)$ a inclinação é considerada insignificante¹⁵. Como podemos verificar na Tabela 27, todos os valores em módulo de b_1 encontrados são menores do que o produto do t_{crit} multiplicado pela incerteza associada à inclinação da reta ($s(b_1)$); incerteza calculada por meio da equação 17. Desse modo, a inclinação das retas é insignificante, demonstrando a não tendência de degradação dos materiais candidatos avaliados.

Como o tempo de prateleira pode ser relacionado com a incerteza associada à inclinação da reta, a incerteza padrão devido à estabilidade a longo prazo (μ_{lts}) foi estimada através da equação 20, para um tempo de prateleira de 24 meses.⁵² Todos os valores de μ_{lts} na Tabela 27 foram expressos com dois algarismos significativos, conforme recomendado no ISO GUM.⁶⁷

Tabela 27. Inclinação da reta ($|b_1|$), incerteza associada ($s(b_1)$) e incerteza padrão devido à estabilidade a longo prazo (μ_{lts}); $t_{crit} = 2,65$, para 5 graus de liberdade ($n-2$; 7 pontos de tempo) e nível de confiança de 95,45%. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO_2 comercial; D: cátodo de pilha alcalina.

Elemento	Amostra	$ b_1 $	$t \cdot s(b_1)$	$s(b_1)$	μ_{lts} , mg kg ⁻¹
Pb	A	0,39	3,05	1,2	28
	B	0,96	4,84	1,83	44
	C	0,90	3,05	1,15	28
	D	3,10	7,58	2,86	69
Cd	A	0,96	0,99	0,37	9,0
	B	0,43	1,05	0,40	9,5
	C	0,02	0,37	0,14	3,3
	D	0,29	0,30	0,11	2,7
Hg	A	1,85	2,93	1,11	27
	B	0,08	0,67	0,25	6,1
	C	0,35	0,56	0,21	5,1
	D	0,23	2,37	0,90	21

5.5. Atribuição dos valores de propriedade

Os valores da concentração mediana encontrados nos testes de homogeneidade dos materiais foram definidos como valores de referência, os quais são citados na Tabela 28, juntamente com a incerteza expandida da caracterização do material (U_{car}) e a unidade de medida. Os resultados foram submetidos ao teste de Grubbs para identificar a presença de *outliers* e nenhum valor precisou ser excluído. Na Tabela 28 os valores são expressos com o número de algarismos significativos recomendados em documentos normativos.^{1,6,33,52,67}

Tabela 28. Valores da concentração mediana encontrados nos testes de homogeneidade dos materiais, desvio padrão percentual e incerteza expandida da caracterização (U_{car}). Zn em pó comercial: amostra A; ânodo de pilha alcalina: amostra B; MnO₂ comercial: amostra C; cátodo de pilha alcalina: amostra D.

Elemento	Matriz	Concentração	$\pm U_{car}$	Unidade
Chumbo	Zn Metálico	1,005	0,026	g kg ⁻¹
	Ânodo de Pilha Alcalina	1,034	0,034	g kg ⁻¹
	MnO ₂ Comercial	5,76	0,26	g kg ⁻¹
	Cátodo de Pilha Alcalina	5,84	0,26	g kg ⁻¹
Cádmio	Zn Metálico	643	13	mg kg ⁻¹
	Ânodo de Pilha Alcalina	688	20	mg kg ⁻¹
	MnO ₂ Comercial	341,3	2,8	mg kg ⁻¹
	Cátodo de Pilha Alcalina	374,0	8,0	mg kg ⁻¹
Mercúrio	Zn Metálico	354	13	mg kg ⁻¹
	Ânodo de Pilha Alcalina	376	14	mg kg ⁻¹
	MnO ₂ Comercial	274,1	6,8	mg kg ⁻¹
	Cátodo de Pilha Alcalina	294	14	mg kg ⁻¹

Como podemos verificar na Tabela 28, a incerteza da caracterização é em geral maior para o cátodo e ânodo de pilhas alcalina. Isso se deve, possivelmente, às interferências causadas por outros elementos presentes no cátodo e ânodo das pilhas como, por exemplo, o K (um elemento facilmente ionizável no plasma) provindo do eletrólito.

Quanto à avaliação da incerteza expandida da caracterização (U_{car}), observou-se influência significativa (aproximadamente 40%) do fator de diluição das soluções das amostras. Estas foram diluídas para ajustar a concentração do analito à faixa de concentração curva de

calibração proposta. Assim, para Pb nas amostras de MnO₂ comercial e ânodo de pilha alcalina a incerteza é muito maior devido à diluição.

5.6. Incertezas combinadas

As incertezas combinadas para as frações de massa a serem certificadas foram obtidas a partir da combinação das incertezas da homogeneidade (μ_{bb}), estabilidade a longo prazo (μ_{lts}), estabilidade a curto prazo (μ_{sts}) e caracterização (μ_{car}), conforme a equação 25.^{14,25,52,54} Na Tabela 29 são citados os resultados encontrados, com o valor atribuído definido em massa por massa (g kg⁻¹) e a incerteza do valor atribuído. O fator de abrangência (k) considerado foi 2,00 para um intervalo de confiança de 95,45%.

Tabela 29. Incerteza expandida da fração mássica dos elementos nos materiais; k = 2, ao nível de confiança de 95,45%. Zn comercial: amostra A; ânodo de pilha alcalina: amostra B; MnO₂ comercial: amostra C; cátodo de pilha alcalina: amostra D.

Elemento	Material	Concentração, g kg ⁻¹	U_{MRC} , g kg ⁻¹	Percentual da Incerteza do valor Atribuído, %
Pb	Zn Metálico Comercial	1,005	0,069	6,8
	Ânodo de Pilha Alcalina	1,03	0,12	11,0
	MnO ₂ Comercial	5,76	0,37	6,5
	Cátodo de Pilha Alcalina	5,84	0,50	9,0
Cd	Zn Metálico Comercial	0,643	0,060	9,4
	Ânodo de Pilha Alcalina	0,688	0,069	10,0
	MnO ₂ Comercial	0,341	0,011	3,2
	Cátodo de Pilha Alcalina	0,374	0,013	3,5
Hg	Zn Metálico Comercial	0,354	0,062	17,5
	Ânodo de Pilha Alcalina	0,376	0,063	17,0
	MnO ₂ Comercial	0,274	0,013	4,7
	Cátodo de Pilha Alcalina	0,294	0,072	24,0

A incerteza dos valores atribuídos está de acordo com a informada para os MRCs sólidos já comercializados, principalmente se estes forem analisados por técnicas analíticas que demandem análise da amostra na forma de uma solução, requerendo, assim, a decomposição da amostra.

Como se pode observar na Tabela 29, o percentual de incerteza da concentração de chumbo é maior para os materiais provenientes de pilhas alcalinas (amostras B e D). Em relação ao valor da concentração atribuída ao Pb nestes materiais, para as amostras C e D (Figura 65) a contribuição predominante de incerteza é a caracterização (μ_{car}) e isso se deve, principalmente, à diluição das soluções das amostras, que agrega uma fonte expressiva de incerteza. Caso fosse possível eliminar a diluição intermediárias das soluções, esta fonte de incerteza (μ_{car}) diminuiria. No caso da amostra B (ânodo de pilha alcalina), a principal fonte de incerteza é a estabilidade a longo prazo (μ_{lts}). Para o Zn em pó (amostra A), a instabilidade do material a longo prazo e a caracterização, respectivamente, são as principais fontes de incerteza do valor da concentração atribuída ao Pb.

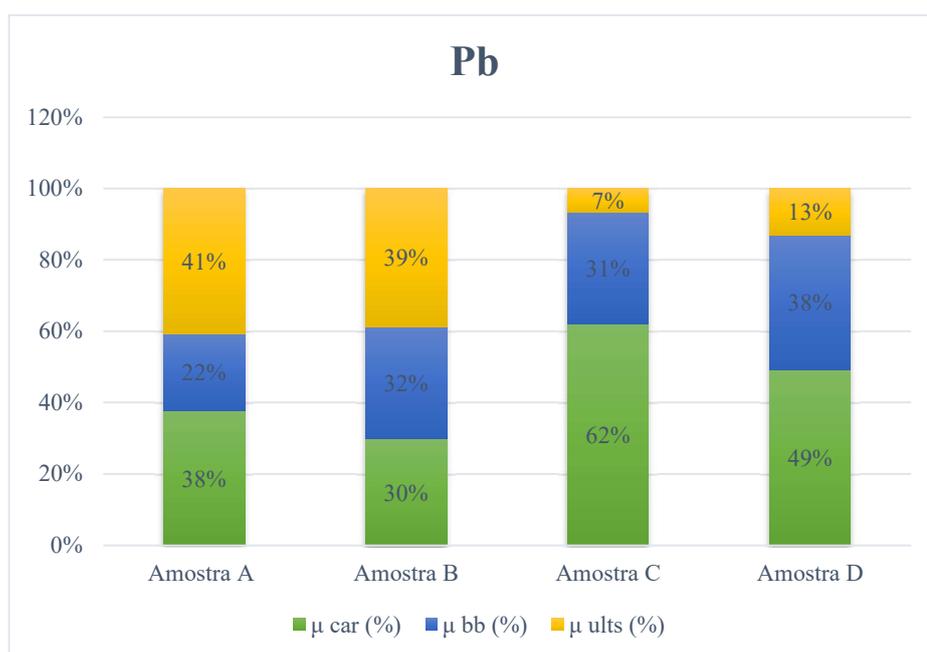


Figura 65. Principais fontes de contribuição da incerteza do valor da concentração atribuída ao Pb. μ_{car} : incerteza na caracterização; μ_{bb} : incerteza da homogeneidade; μ_{lts} : incerteza da estabilidade a longo prazo. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO_2 comercial; D: cátodo de pilha alcalina.

Com respeito ao Cd, a incerteza do valor de concentração atribuído foi $\leq 10\%$ para todos os materiais candidatos a MRC (Tabela 29), que é similar à incerteza para MRCs já comercializados. Para o MnO_2 comercial e cátodo de pilhas alcalinas (amostras C e D) a incerteza do valor da concentração atribuída ao Cd foi $< 4\%$. Da mesma forma que o Pb, a incerteza do valor atribuído ao Cd é maior para o material oriundo do ânodo de pilha alcalina. Como mostrado na Figura 66, a principal fonte de incerteza expandida para as amostras A, B e C é a homogeneidade (μ_{bb}), enquanto para a amostra D é a caracterização (μ_{car}).

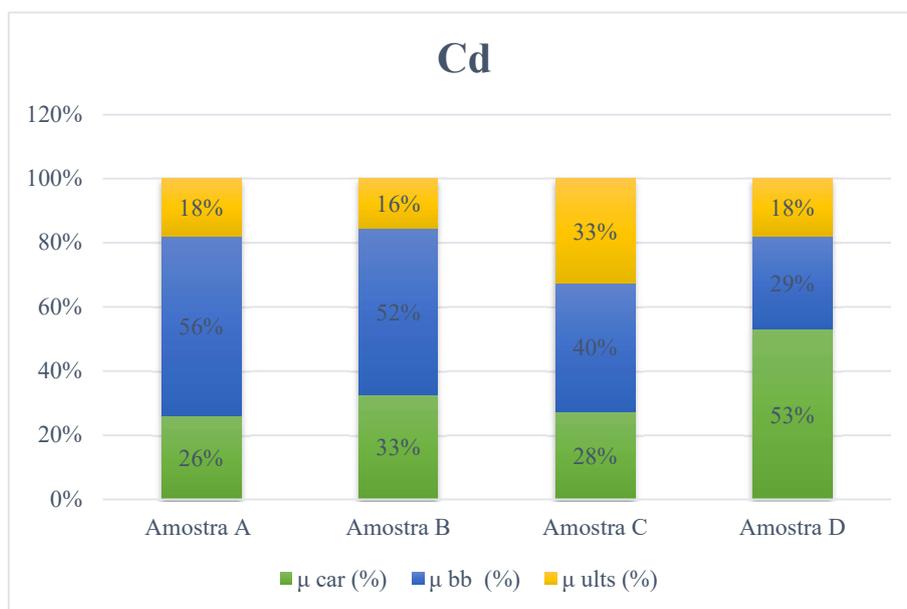


Figura 66. Principais fontes de contribuição da incerteza do valor da concentração atribuída ao Cd. μ_{car} : incerteza na caracterização; μ_{bb} : incerteza da homogeneidade; μ_{ults} : incerteza da estabilidade a longo prazo. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO_2 comercial; D: cátodo de pilha alcalina.

Podemos observar na Tabela 29 que a incerteza do valor da concentração atribuída ao Hg é maior, com exceção do MnO_2 comercial (amostra C). No caso das amostras das amostras B e D, ânodo e cátodo de pilhas alcalinas, respectivamente, a principal fonte de incerteza é a homogeneidade do material (Figura 67). Para o Zn em pó comercial (amostra A), a principal fonte de incerteza é a estabilidade a longo prazo, enquanto para o MnO_2 comercial (amostra C) a incerteza da caracterização (μ_{car}) é a principal fonte de incerteza.

Na Figura 67 pode-se observar que há uma grande diferença quanto à contribuição das fontes de incerteza para a matriz comercial (amostra C) e matriz amostral (amostra D). Ao detalharmos as principais fontes de incerteza para a amostra D (cátodo de pilha alcalina) a

incerteza da homogeneidade (μ_{bb}) representa 45% da incerteza expandida. Isto pode ser devido à mistura dos ânodos de diversas pilhas (lotes diferentes, fornecedores diferentes) na produção do material. O mesmo pode ser inferido quando são detalhadas as principais fontes de incerteza para a amostra B (ânodo de pilha alcalina).

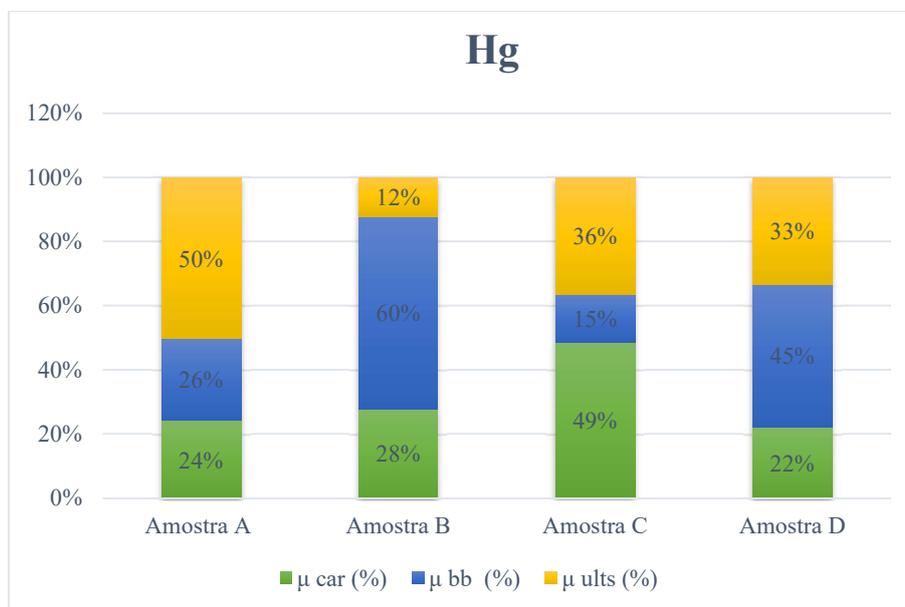


Figura 67 Principais fontes de contribuição da incerteza do valor da concentração atribuída ao Hg. μ_{car} : incerteza na caracterização; μ_{bb} : incerteza da homogeneidade; μ_{lts} : incerteza da estabilidade a longo prazo. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO_2 comercial; D: cátodo de pilha alcalina.

5.7. Comparação interlaboratorial

Três laboratórios participaram e informaram os resultados da análise das amostras dos materiais candidatos. Foram relatados os equipamentos empregados, as condições de análise, os CRMs analisados para verificar a exatidão, as médias das concentrações encontradas, as incertezas expandidas das concentrações médias e o fator de abrangência (k) para cada grupo de amostra. Nas Tabelas 30, 31 e 32 são apresentados os valores do erro normalizado (E_n) calculado através da equação 27 para Pb, Cd e Hg, considerando-se os três laboratórios participantes. Conforme citado no item 4.6.1, o desempenho do laboratório foi considerado satisfatório se $|E_n| \leq 1$. Pode-se verificar na Tabela 30 que somente em um caso $|E_n| \geq 1$, para a amostra A analisada pelo laboratório C, o resultado foi insatisfatório. Assim, este resultado foi desconsiderado na atribuição do valor da concentração de chumbo em Zn em pó comercial (amostra A). Foi também informado ao laboratório C para que este reavaliasse o seu método

de análise. Quanto ao Cd e Hg (Tabelas 31 e 32), todos os valores de $|E_n|$ calculados para os três laboratórios participantes nos quatro materiais atendem ao critério de aceitação ($|E_n| \geq 1$)

Tabela 30. Erro normalizado em módulo ($|E_n|$) para Pb nos materiais candidatos, segundo os laboratórios participantes. A: Zn comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.

	Laboratório A	Laboratório B	Laboratório C
Amostra A	0,09	0,00	9,93
Amostra B	0,03	0,24	0,32
Amostra C	0,72	0,24	0,69
Amostra D	0,06	0,33	0,14

Tabela 31. Erro normalizado em módulo ($|E_n|$) para Cd nos materiais candidatos, segundo os laboratórios participantes. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.

	Laboratório A	Laboratório B	Laboratório C
Amostra A	0,71	0,91	0,26
Amostra B	0,54	0,34	0,22
Amostra C	0,05	0,31	0,52
Amostra D	0,39	0,76	0,46

Tabela 32. Erro normalizado em módulo ($|E_n|$) para Hg nos materiais candidatos, segundo os laboratórios participantes. A: Zn em pó comercial; B: ânodo de pilha alcalina; C: MnO₂ comercial; D: cátodo de pilha alcalina.

	Laboratório A	Laboratório B	Laboratório C
Amostra A	0,77	0,18	0,51
Amostra B	0,15	0,26	0,37
Amostra C	0,78	0,77	0,63
Amostra D	0,04	0,10	0,50

De acordo com os resultados informados pelos laboratórios, pode-se concluir que as concentrações dos elementos alvo nos materiais candidatos são reprodutíveis e os materiais podem ser utilizados para avaliação de outros métodos, calibração de instrumentos, para fins de garantia interna e como materiais de referência em ensaios de proficiência segundo a norma ABNT NBR ISO/IEC 17043.⁵¹

6. Conclusões

Conclui-se que os quatro materiais produzidos são homogêneos para uma massa mínima de 250 mg e estáveis por 24 meses, se armazenados à temperatura de até 40 °C e umidade relativa de até 80%. As incertezas calculadas para Cd, Pb e Hg nos materiais estão de acordo com as encontradas para os MRCs sólidos comercializados.

Em relação ao tipo de matriz, pode-se afirmar que materiais produzidos a partir de pilhas alcalinas disponíveis no mercado possuem uma imprecisão maior, porém são mais adequadas para o uso em laboratório, pois representam de forma verdadeira as adversidades encontradas pelos laboratórios de análise.

Os quatro materiais produzidos, Zn em pó comercial, ânodo de pilha alcalina, MnO₂ comercial e cátodo de pilha alcalina são passíveis de certificação, pois atendem a todos os requisitos preconizados em normas nacionais e internacionais de qualidade.

De modo a garantir os valores de propriedades dos materiais, ou seja, os valores atribuídos às concentrações de chumbo, cádmio e mercúrio, as condições recomendadas para o transporte e armazenamento dos materiais são temperatura máxima de 40 °C e umidade relativa do ar máxima de 80%. A análise térmica dos materiais revelou que a ação da temperatura não oferece risco de explosões e/ou reações violentas inesperadas.

7. Referências bibliográficas

1. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO 17034: Requisitos gerais para a competência de produtores de materiais de referência. Rio de Janeiro, 2017. 48 p.
2. Base de dados do COMAR: <<https://rrr.bam.de/RRR/Navigation/EN/Reference-Materials/COMAR/Comar-about/comar-about.html>>, acesso em novembro de 2019.
3. Yang, Li; Xi, Guoxi. Preparation and Electrochemical Performance of LiNi_{1/3}Co_{1/3}Mn_{1/3}O₂ Cathode Materials for Lithium-ion Batteries from Spent Mixed Alkaline Batteries. *J Electron Mater* 2016,45, 301-306.
4. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO 9001: Sistema da gestão da qualidade. Rio de Janeiro, 2015. 44 p.
5. Cardoso, Maria Helena Wohlers Morelli. Preparação de um Material de Referência Certificado para Controle de Agrotóxicos em Hortifrutigranjeiros. 2008. 191 f. Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Osvaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008
6. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO/IEC 17025: Requisitos gerais para a competência de laboratório de ensaios e calibrações. Rio de Janeiro, 2017. 48 p.
7. Rosas, Carla de Oliveira. Produção de Materiais de Referência para Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos. 2009, 130 f. Dissertação. (Vigilância Sanitária), Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Osvaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.
8. Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM 2012) INMETRO, 2012.
9. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. DOQ-CGCRE 0016. Orientação para a seleção e uso de material de referência. Revisão 02, 2010.
10. Silva, Caroline Santos da. Produção e Avaliação de Materiais de Referência para Nutrientes e Contaminantes Inorgânicos em Amostras Agronômicas. 2016. Tese de Doutorado em Química. (Química). Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.
11. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO GUIA 32: Calibração em química analítica e uso de material de referência certificado. Rio de Janeiro, 2000. 7 p.
12. Zeleny, R.; Schimmel, H. Influence of the approach to calibration on the accuracy and the traceability of certified values in certified reference materials. *Trend Anal Chem* 2012, 33, 107- 116.

13. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO GUIA 33: Utilização de materiais de referência certificados. Rio de Janeiro, 2002. 28 p.
14. Ng, S. Y. et al. Development of a cosmetic cream certified reference material: Certification of lead, mercury and arsenic mass fractions in cosmetic cream. *Int J Mass Spectrom* 2015, 389, 59 - 65.
15. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. DOQ-CGCRE 0083. Orientações gerais sobre a acreditação de laboratórios que realizam calibração de equipamentos com o uso de materiais de referência certificados (MRC). Revisão 01, 2016.
16. International Standard Organization. ISO Guide 80: Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMS). 2014. 50 p.
17. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. DOQ-CGCRE 0087. Orientações gerais sobre os requisitos da ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017. 2018.
18. Schuh, Alexandra Janine. Validação de um método analítico para a determinação de chumbo, cádmio e mercúrio em pilhas alcalinas. 2012 .113 f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação Engenharia e Tecnologia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
19. Santana, A. M. Análise química de elementos potencialmente tóxicos em baterias e pilhas por FAAS e ICP OES. 2014. 180 f. Dissertação de Mestrado em Ciência dos Materiais), Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira.
20. Base de dados do Cmx<<http://www.mdic.gov.br/index.php/comercio-externo/estatisticas-de-comercio-externo/base-de-dados-do-comercio-externo-brasileiro-arquivos-para-download>> , acesso em 11 novembro de 2019.
21. Base de dados da Abinee : <<http://www.abinee.org.br/abinee/decon/decon80.htm>> acesso em 11 janeiro de 2020.
22. Rezić, I.;Steffan, I.ICP-OES determination of metals present in textile materials. *Microchem J* 2007, 85, 46- 51.
23. Lundh, T; Axmon, A.; Skerfving, S.; Broberg, K.Cadmium and mercury exposure over time in Swedish children. *Environ Res* 2016, 150, 600-605.
24. Lee, S. *et al.* Temporal variability of blood lead, mercury, and cadmium levels in elderly panel study (2008–2014). *Int J Hyg Envir Heal* 2017, 220, 407- 414.
25. Dewi, F. et al. Development of an apple juice certified reference material for cadmium, lead, total arsenic and arsenic species. *Int J Mass Spectrom* 2016, 441, 14 -20.

26. Meyer, P. A., Brown M. J., Falk, H. Global approach to reducing lead exposure and poisoning. *Mutat Res-Rev Mutat* 2008, 659, 166 - 175.
27. Brasil, Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução 257 publicada em 22 de julho de 1999. Obrigatoriedade de procedimentos de reutilização, reciclagem, tratamento ou disposição final ambientalmente adequada para pilhas e baterias que contenham em sua composição chumbo, cádmio e mercúrio e seus compostos.
28. Brasil, Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA, Resolução 401 publicada em 04 de novembro de 2008. Limites máximos de chumbo, cádmio e mercúrio para pilhas e baterias comercializadas no território nacional e os critérios e padrões para o seu gerenciamento ambientalmente adequado, e dá outras providências.
29. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Portaria INMETRO nº 239, de 09 de maio de 2012. Regulamento Técnico da Qualidade para Baterias Chumbo-Ácido para Veículos Automotores. Determinação de cádmio e mercúrio em baterias.
30. KÖHLER, Uwe; ANTONIUS, Christina; BÄUERLEIN, Peter. Advances in alkaline batteries. *J Power Sources* 2004, 127, 45-52.
31. Almeida, M.F *et al.* A. Characterization of spent AA household alkaline batteries. *Waste Manage* 2006, 26, 466-476.
32. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Relatório sobre análise de pilhas alcalina e zinco-mangânês. Programa de análise de produto. Rio de Janeiro, 2011.
33. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. DOQ-CGCRE 0033. Orientações para análise crítica da documentação associada aos materiais de referência adquiridos. 2012.
34. Novaes, C. G. *et al.* A review of multivariate designs applied to the optimization of methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) s. *Microchem J* 2016, 128, 331- 346.
35. Larrea-Marín, M. T *et al.* R. Validation of an ICP-OES method for macro and trace element determination in Laminaria and Porphyra seaweeds from four different countries. *J Food Comp Anal* 2010, 84, 814- 820.
36. Jarvis, K.E.; Gray, A.L.; Houk, R.S.; *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Blackie & Son Ltd. New York, 1992.
37. Rutkowska, M., Namiesnik, J., Konieczka, P. Production of certified reference materials - homogeneity and stability study based on the determination of total mercury and methylmercury. *Microchem. J.* 2020, 153.

38. Magnusson, B; Örnemark; U. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2 ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Disponível em: www.eurachem.org;
39. International Standard Organization. ISO 9000: Quality management systems, Fundamentals and vocabulary. 2015. 51 p.
40. AOAC International. Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. 2002. 12 p.
41. American Society for Testing and Materials. ASTM E1601-12 Standard practice for conducting an interlaboratory study to evaluate the performance of an analytical method. 14 p.
42. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO 5725-1: Exatidão (veracidade e precisão) dos métodos e dos resultados de medição Parte 1: Princípios gerais e definições. Rio de Janeiro, 2018. 23 p.
43. Thompson, M.; Ellison, S. L. R.; Wood, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.* 2002, 74, 55, 835–855.
44. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. DOQ-CGCRE 0008. Orientação sobre validação de métodos analíticos. Revisão 09, 2020.
45. Albano, M. Filipe; Rodrigues, T.R. Maria. *Validação e garantia da qualidade de ensaios laboratoriais*. 2. ed. Porto Alegre: Rede Metrológica, 2015.
46. Barwick, V. Planning and Reporting Method Validation Studies, Supplement to Eurachem Guide on the Fitness for Purpose of Analytical Methods. 2019.
47. Marcki, Daniele Cristina. 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. 2017. 86 f. Dissertação de Mestrado em Ciências. Universidade de São Paulo, São Carlos.
48. Miller, J. N.; Miller, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 7. ed. Inglaterra: Pearson Education Ltda, 2018 p 2000.
49. IUPAC; Horwitz, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies. *Pure & Appl. Chem* 1995, 67, 331-343.
50. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO 5725-3: Exatidão (veracidade e precisão) dos métodos e dos resultados de medição. Parte 3: Medidas intermediárias da precisão de um método-padrão de medição. 33 p.

51. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO/IEC 17043: Avaliação de conformidade. Requisitos gerais para ensaios de proficiência. Rio de Janeiro, 2011. 48 p
52. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO GUIA 35: Materiais de referência. Princípios gerais e estatísticos para certificação. Rio de Janeiro, 2012. 73 p.
53. Rutkowska, M.; Kochanska, K.; Kandel, L. et al. Homogeneity study of candidate reference material (contaminated soil) based on determination of selected metals, PCBs and PAHs. *Measurement*, **2018**, 128, p. 1-12.
54. Chew, G. et. al. Development of a mushroom powder Certified Reference Material for calcium, arsenic, cadmium and lead measurements. *Food Chem.* 2016, 190, 293 - 299.
55. Marchezi, T. T. B. et al. Preparation of a reference material for crude oil trace elements: Study of homogeneity and stability. *Microchem. J.* 2020, 155.
56. Støvning, C.; Jensena, H.; Gammelgaard, B.; Stürup, S. Development and validation of an ICP-OES method for quantitation of elemental impurities in tablets according to coming US pharmacopeia chapters. *J Pharmaceut Biomed* 2013, 84, 209- 214.
57. Ellison, S. L. R.; Williams, A. Eurachem/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (3 ed. 2012). Disponível em: www.eurachem.org;
58. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO GUIA 30: Materiais de referência. Termos e definições selecionados. Rio de Janeiro, 2016. 9 p
59. American Society for Testing and Materials.. ASTM E537: The Thermal Stability of Chemicals by Differential Scanning Calorimetry 2012. 7 p.
60. International Standard Organization. ISO 3696: Water for analytical laboratory use, Specification and test methods. 1987. 9 p.
61. Oliveira, Tiago Charão de. Otimização Multivariada e Validação de Método para a Determinação de Boro, Enxofre, Fósforo e Molibdênio em Fertilizante Mineral por ICP OES. 2016. 97 f. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.
62. Mendes, H. M. R.; Ruiz, Mauro S.; FÁRIA, A. C.; Logística Reversa de Pilhas e Baterias: Revisão e Análise de um Sistema Implementado no Brasil. *Rev Gest Inov Sustent* 2016, 2, 81-96.
63. International Standard Organization. ISO 13528: Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. 2015. 89 p.
64. American Society for Testing and Materials.. ASTM 2550: Standard Test Method for Thermal Stability by Thermogravimetry 2017. 5 p.

65. Sayilgan, E; et al. Acidic Leaching and Precipitation of Zinc and Manganese from Spent Battery Powders Using Various Reductants. *J Hard Mater* 2010, 173, 137-143.
66. American Society for Testing and Materials.. ASTM E178-02. Standard Practice for Dealing with Outlying. 18 p.
67. International Organization for Standardization. Uncertainty of Measurement. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM:1995). 2008. http://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_100_2008_E.pdf.
68. Cantwell, H.; Blanks in Method Validation - Supplement to Eurachem Guide the Fitness for Purpose of Analytical Methods, (1 ed. 2019). Disponível em: www.eurachem.org.
69. Barwick, V.; Planning and Reporting Method Validation Studies. Supplement to Eurachem Guide on the Fitness for Purpose of Analytical Methods (2019). Disponível em: www.eurachem.org
70. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT ISO GUIA 31: Materiais de referência: Conteúdo de certificados, rótulos e documentação associada. Rio de Janeiro, 2017. 28 p.