

Relatório Final

Título do projeto de pesquisa: Reverificação de materiais de referência certificados utilizados em análises químicas de ligas ferrosas e não ferrosas

Bolsista: Cíntia Souza Ferreira Santos

Orientador(a): Sergio Luis Graciano Petroni

Período a que se refere o relatório: Agosto de 2015 a Julho de 2016

Resumo

O uso de materiais de referência certificados em análises químicas é fundamental para a rastreabilidade de resultados. Materiais de referência estáveis normalmente apresentam prazos de validade inferiores ao seu tempo de degradação. No caso de padrões e materiais de referência de ligas metálicas, é muito comum que estes materiais durem por anos sem prejuízo às suas características de composição. Apesar disso, muitas vezes esses materiais acabam sendo desprezados nos laboratórios por não atenderem aos requisitos de normas, as quais impõem a suas utilizações dentro do prazo de validade exibido nos seus rótulos. Por serem materiais de custo elevado, a busca de uma alternativa de revalidação torna-se uma necessidade prática e econômica nestes casos. O objetivo deste trabalho é estudar o comportamento e a estabilidade de resultados de análises de materiais de referência certificados de ligas ferrosas e não-ferrosas para utilização adequada em métodos de análise química de caracterização de ligas de interesse aeroespacial.

1. Introdução

Materiais de referência certificados (MRC) são essenciais para laboratórios de química analítica, na medida em que são capazes de prover rastreabilidade, podendo ser utilizados na validação de métodos, em avaliações de desempenho, calibrações e na garantia e controle da qualidade.

Apesar dos benefícios, o emprego de MRC pelos laboratórios de análise é muitas vezes limitado em função da sua disponibilidade e alto custo.

Considerando a grande variedade de analitos existentes em vários tipos de matrizes, nem sempre é possível dispor de um MRC com características idênticas às das amostras a serem analisadas. Adequações podem ser adotadas, desde que respeitada a similaridade do MRC com os requisitos

analíticos do processo [1]. Outro aspecto refere-se ao custo destes materiais em função da sua utilização. Uma vez que a produção nacional de MRC é ainda pequena, na maioria das vezes o usuário vê-se obrigado a adquirir materiais importados de custo elevado. Isto acaba sendo mais relevante para laboratórios que utilizam MRC menos estáveis, com prazos de validade mais curtos, como no caso de soluções aquosas ou materiais biológicos. Ou seja, além de terem de ser adquiridos com maior frequência, os MRC não utilizados dentro do prazo validade acabam sendo descartados. Por outro lado, laboratórios que utilizam MRC mais estáveis, não deixam de ter problemas na relação entre o custo e o aproveitamento. Suas validades podem ser discriminadas em seus rótulos ou certificados como sendo de muitos meses a alguns anos, ou mesmo indefinida. Isso implica em dizer que a manutenção da confiança nas propriedades destes materiais fica atrelada somente ao manuseio e armazenamento adequados por parte do usuário.

Diante do exposto, a proposição de um mecanismo de reavaliação de MRC pode ser útil para o aproveitamento mais eficiente destes materiais - não só para os de baixa estabilidade, como também, para materiais com prazos validade mais extensos ou mesmo indefinidos.

O objetivo deste trabalho é estudar o comportamento e a estabilidade de resultados de análises de MRC visando o melhor aproveitamento destes materiais em análises laboratoriais. Para isso, foram discutidos 18 estudos de caso de análises de elementos em MRC de ligas ferrosas e não-ferrosas utilizadas no Laboratório Químico de Caracterização de Materiais (LQCM) da Divisão de Materiais (AMR). A seleção destes casos foi feita a partir de um extenso trabalho experimental de análises químicas (apresentado em relatórios anteriores) juntamente com levantamento histórico de resultados obtidos pelo Laboratório em anos anteriores. Além da verificação do enquadramento dos resultados em relação aos valores certificados e intervalos de incerteza, a avaliação dos dados das análises foi feita utilizando um z-score, calculado para cada resultado obtido.

1.1 Definição de z-score

As poucas informações disponíveis na literatura sobre verificação de conformidade de MRC são obtidas de forma indireta em normas ou protocolos [2,3]. A norma ISO Guia 35 [3], por exemplo, no item 8.4.2, faz referência à reconfirmação da validade de um MRC, como uma orientação direcionada ao fornecedor do material, e não exatamente ao usuário. De acordo com a norma, a reconfirmação da validade só pode ser aceita, se atendida à condição:

$$X - x \leq k\sqrt{u_x^2 + u_c^2} \quad (1)$$

Onde X é valor verdadeiro, o qual pode ser tomado como o valor certificado, x o resultado da medição, k o fator de abrangência para o nível de confiança de 95 % e u_X e u_x as incertezas combinadas dos valores certificados e medidos, respectivamente.

O FDA (*U.S. Food and Drug Administration*), por sua vez, por meio de seu Manual de Análise Elementar para Alimentos e Produtos Relacionados [4], estabelece um procedimento de reverificação de seus materiais de referência internos (*in-house reference materials*), no qual as datas de validade dos materiais não são formalmente estabelecidas. Ao invés disso, os materiais de uso contínuo são submetidos à reverificações baseadas em observações de resultados analíticos. Na prática isso é feito por meio da utilização de um z-score, que indica quantos desvios padrão um resultado encontra-se distante do valor de referência. O uso de z-score para examinar a qualidade de um dado é uma forma padronizada de avaliar resultados analíticos levando em consideração não somente o erro aleatório, mas também o valor de referência e as medidas de incerteza. Dessa forma, o z-score é igual a diferença entre o valor certificado e o resultado da medição dividido pela raiz da soma quadrática das incertezas combinadas da referência e do resultado, expresso por [4]:

$$Z = \frac{X-x}{\sqrt{u_X^2+u_x^2}} \quad (2)$$

Os valores absolutos calculados de z-score são interpretados da seguinte forma:

$|z\text{-score}| \leq 2$ é considerado aceitável (em concordância com o valor de referência)

$2 < |z\text{-score}| < 3$ é questionável (concordância questionável em relação ao valor de referência)

$|z\text{-score}| \geq 3$ é inaceitável (em discordância com o valor de referência)

Considera-se que o processo de reverificação é satisfatório para um elemento se, no mínimo, dois terços dos resultados situarem-se na faixa aceitável e nenhum na faixa inaceitável [4].

Voltando à Equação (1), sabendo que para um nível de 95 % de confiança e um número elevado de graus de liberdade o valor de k é igual a 2,0, a equação pode ser reescrita:

$$\frac{X-x}{\sqrt{u_X^2+u_x^2}} \leq 2,0 \quad (3)$$

Na prática, assim como no caso do z-score, a ISO Guia 35 indica que um resultado é aceitável desde que a relação entre a diferença dos valores certificado e medido e a soma quadrática de suas incertezas seja menor igual a 2,0. Ou seja, os critérios estabelecidos pela ISO Guia 35 e pelo FDA são fundamentados na mesma premissa. Ambas as diretrizes originam-se de orientações contidas no

Protocolo de Harmonização Internacional para Ensaio de Proficiência de Laboratórios de Química Analítica, editado pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) [2].

2. Materiais e métodos

Os MRC selecionados para o estudo consistem basicamente de materiais de ligas ferrosas e não-ferrosas utilizados no LQCM para suas análises de rotina destinadas à caracterização de ligas de interesse aeroespacial. São MRC fabricados pelo NIST e pelo IPT, comercializados em frascos contendo de 35 g a 120 g do material na forma de cavacos e acompanhados de seus respectivos certificados de análise (Figura 1).



Fig. 1. MRC utilizados no LQCM.

Na Tabela 1 são apresentados os MRC, os elementos selecionados e as técnicas analíticas empregadas na realização do estudo.

Os métodos de análise empregados foram os próprios procedimentos do Laboratório LQCM, devidamente validados para utilização.

As análises gravimétricas de Ni consistiram do solubilização da amostra do MRC (0,2 g) com ácidos concentrados, precipitação com dimetilglioxima e pesagem do precipitado para o cálculo da concentração de Ni.

Tabela 1. MRC, elementos selecionados e técnicas analíticas utilizadas.

MRC	Material	Elemento	Valor certificado (%)	Técnica Analítica
NIST 87a	Liga de Si-Al	Mn	0,26 ± 0,01	Espectrometria de absorção atômica
		Cu	0,30 ± 0,01	
		Ni	0,57 ± 0,02	
		Fe	0,61 ± 0,02	
		Mg	0,37 ± 0,01	
		Zn	0,16 ± 0,01	
NIST 858	Liga de Al	Zn	1,04 ± 0,02	Espectrometria de absorção atômica
		Mg	1,01 ± 0,01	
NIST 853a	Liga de Al	Si	0,1810 ± 0,0046	Gravimetria
IPT 10B	Bronze	Cu	85,2 ± 0,2	Eletrogravimetria
IPT 11A	Aço Carbono	P	0,009 ± 0,001	Espectrofotometria
IPT 24A	Aço Inox	Cr	17,370 ± 0,075	Volumetria
		Ni	11,120 ± 0,045	Gravimetria
		P	0,035 ± 0,001	Espectrofotometria
IPT 75A	Ferro Fundido	Si	1,98 ± 0,03	Gravimetria
		P	0,250 ± 0,006	Espectrofotometria
IPT 117	Aço Ferramenta	Si	0,3490 ± 0,0035	Gravimetria
		P	0,019 ± 0,001	Espectrofotometria

As análises de Si seguiram procedimento semelhante de solubilização, com posterior oxidação do Si com ácido sulfúrico e pesagens dos cadinhos calcinados antes e depois da fluorização do SiO₂ formado.

As análises de Cu por eletrogravimetria foram realizadas por meio do ataque da amostra, seguido de eletrólise e pesagem do Cu depositado no catodo do eletrolisador.

As análises volumétricas de Cr foram realizadas por meio da oxidação do Cr(III) a Cr(VI) com nitrato de prata e persulfato de potássio, e subsequente redução com sulfato ferroso amoniacal. A concentração de Cr foi calculada a partir do excesso de volume de sulfato ferroso titulado com solução de permanganato de potássio.

A determinação dos teores de P nos MRCs foi feita partindo da solubilização da amostra, formação do complexo fosfomolibdato, redução com ácido sulfâmico para a formação do complexo azul de molibdênio e quantificação do P por absorção no comprimento de onda 661 nm, utilizando equipamento espectrofotômetro Micronal B382.

A determinação dos demais elementos por espectrometria de absorção atômica consistiu na solubilização das amostras (1,0 g), diluições volumétricas e leitura em equipamento espectrômetro de absorção atômica Varian Spectra A20 Plus. As concentrações dos elementos nas soluções das amostras foram obtidas por meio de curvas de calibração construídas com soluções padrão nas concentrações de 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg.L⁻¹.

A abordagem utilizada para o desenvolvimento do método de revalidação dos MRC consistiu do cálculo do z-score para cada ponto, bem como na avaliação histórica dos resultados obtidos pelo laboratório para cada elemento para verificação da estabilidade.

3. Resultados

Nas Figuras 2 a 9 são apresentados os históricos de resultados de análises dos elementos selecionados (Tabela 1) nos MRC NIST 87a, NIST 858, NIST 853a, IPT 10B, IPT 11A, IPT 24A, IPT 75A e IPT 117. As linhas sólidas em vermelho representam os valores certificados dos MRC e as pontilhadas, seus respectivos intervalos de incerteza. Os valores de z-score foram calculados para todos os pontos. No entanto, nos gráficos são apresentados somente os valores calculados acima do considerado questionável ($2,0 < z < 3,0$) ou inaceitável ($z \geq 3,0$), de acordo com os critérios definidos anteriormente. Além disso, alguns valores considerados aceitáveis ($z \leq 2,0$) também são apresentados no intuito de ilustrar a conformidade de um ou outro resultado específico.

Na Figura 2, os resultados das análises dos elementos Mg, Zn, Cu e Mn foram obtidos, na maioria das vezes, dentro do intervalo de incerteza do MRC NIST 87a, e com valores de z-score $\leq 2,0$. Para os resultados obtidos fora da incerteza verificaram-se alguns valores de z-score no intervalo questionável. Apesar disso, a ocorrência de tais pontos foi minoritária em relação ao histórico de resultados. No caso do Zn foi observada uma tendência de queda nos três últimos valores, o que pode representar um indício de instabilidade e deve ser avaliado com atenção por parte do laboratório em análises posteriores.

Alguns resultados das análises de Fe (Figura 2) foram observados fora do intervalo do MRC e com valores de z-score considerados inaceitáveis ($z \geq 3,0$). Apesar disso, tal comportamento não representou uma tendência, levando à conclusão de que, neste caso, seria indicado que o laboratório realizasse uma investigação a respeito do processo analítico, incluindo a possibilidade de instabilidade do MRC. Com relação ao Ni (Figura 2), a tendência de queda verificada para os três

últimos valores e o z-score para o último ponto indicam também a necessidade de investigação com relação à instabilidade do MRC NIST 87a.

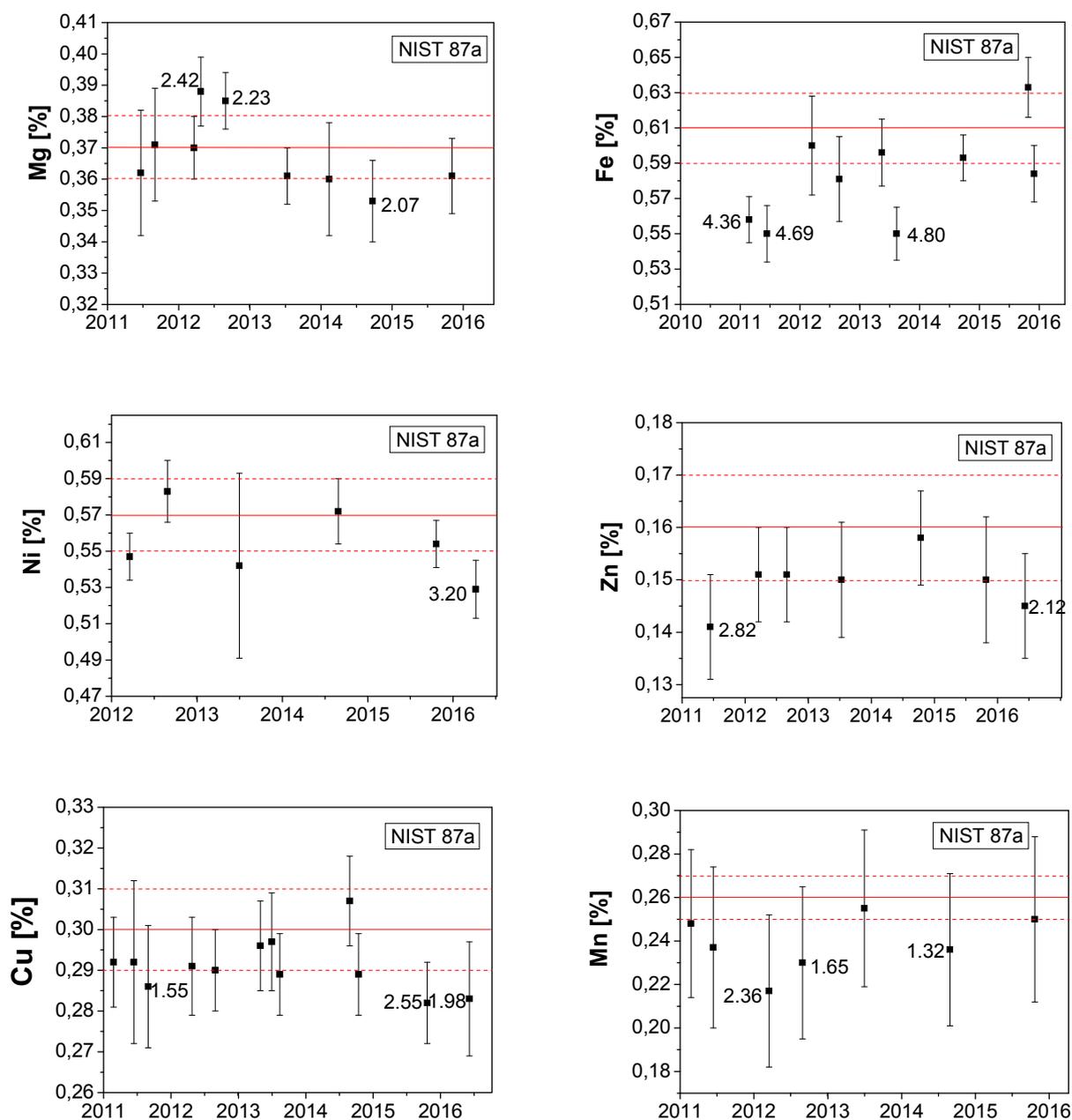


Fig. 2. Histórico de resultados de análises de Ni, Zn, Cu e Mn no MRC NIST 87a.

O histórico de resultados obtidos para as análises de Mg no MRC NIST 858 (Figura 3) indica que o material apresentou instabilidade a partir de meados 2015.

Para o Zn, apesar do valor questionável verificado para a primeira análise, o material apresentou resultados conformes nos últimos anos. Dentro da disponibilidade do laboratório é indicado que se faça uma investigação de causa para este primeiro resultado e acompanhamento de resultados posteriores.

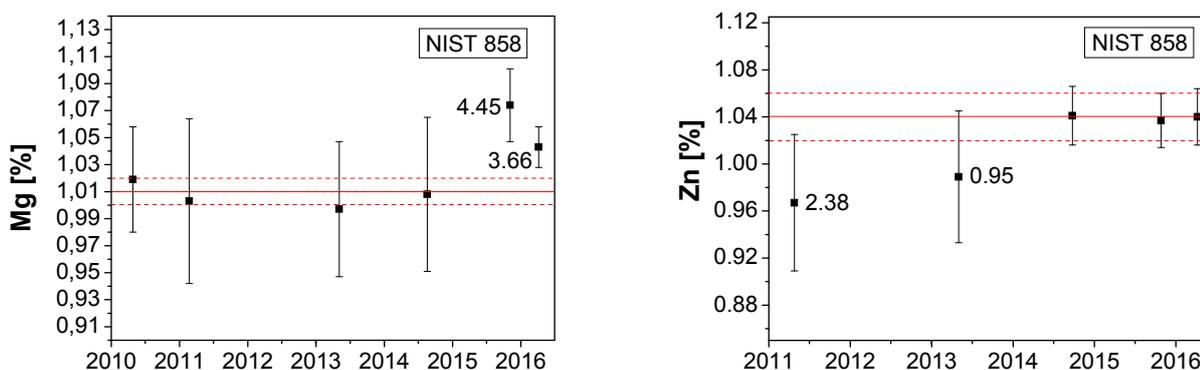


Fig. 3. Histórico de resultados de análises de Mg e Zn no MRC NIST 858.

Na Figura 4, o teor de Si permaneceu adequado em relação ao valor certificado e sua incerteza. Apesar de alguns pontos terem sido observados fora do intervalo, a incerteza das análises comparativamente à magnitude da incerteza do MRC enquadra os resultados segundo o z-score. Na realidade, o que se observa aqui é um caso típico em que a incerteza do certificado é significativamente pequena, sendo muito difícil para um laboratório enquadrar-se frequentemente dentro do intervalo.

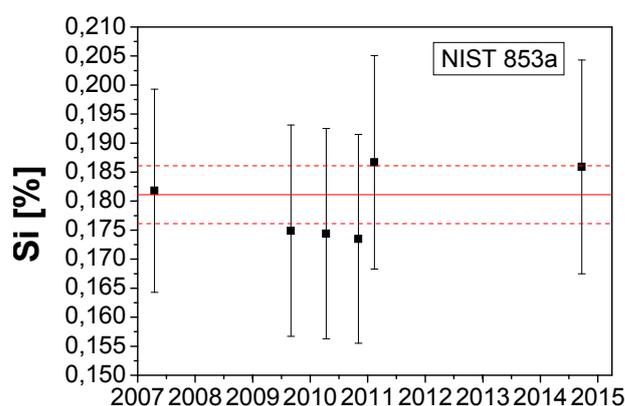


Fig. 4. Histórico de resultados de análises de Si no MRC NIST 853a.

As análises de Cu no MRC IPT 10B (Figura 5) apresentaram-se estáveis, dentro do intervalo de incerteza, e aceitáveis segundo o z-score. Vale ressaltar que mesmo tendo sido expirado a validade

do MRC, o resultado obtido aproximadamente dois anos após enquadra-se de acordo com os critérios de reavaliação.

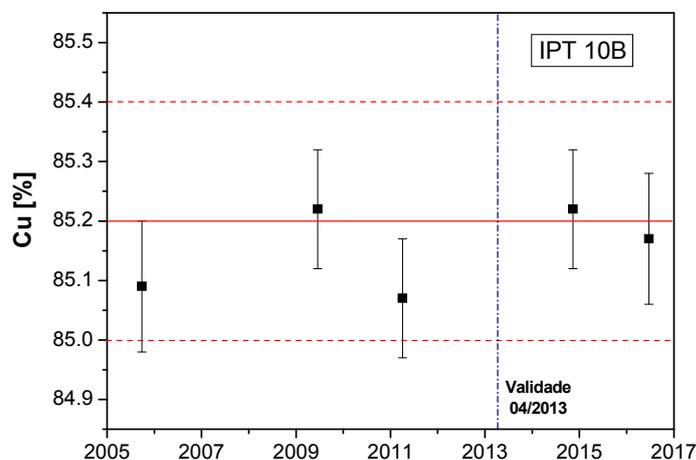


Fig. 5. Histórico de resultados de análises de Cu no MRC IPT 10B.

Na Figura 6, as análises de P no MRC IPT 11A resultaram satisfatórias sob o ponto de vista de adequação aos limites de incerteza e z-score. Assim como verificado para o Cu no MRC IPT 10B (Figura 5), os teores de P no MRC IPT 11A permaneceram estáveis mesmo tendo sido expirado o prazo de validade do material.

Analisando o histórico na Figura 6, uma tendência de resultados acima do valor certificado foi observada. Neste caso, o laboratório poderia aproveitar para reavaliar seu processo analítico no sentido de identificar e eliminar a ocorrência de erros sistemáticos.

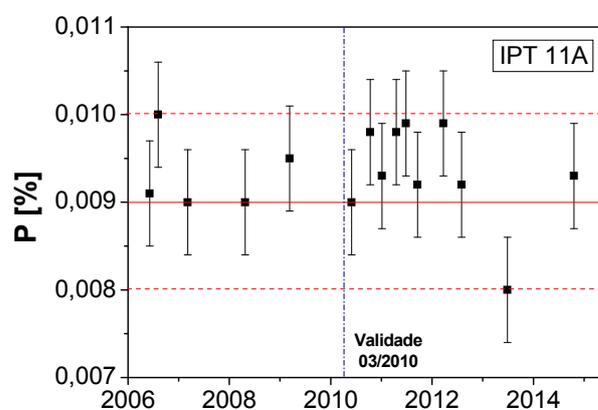


Fig. 6. Histórico de resultados de análises de P no MRC IPT 11A.

O histórico das análises de P no MRC IPT 24A (Figura 7) indica que, desde o início de sua utilização, mesmo antes do seu vencimento, os teores vêm sendo obtidos fora do intervalo e inaceitáveis. Isso indica que a causa da não conformidade vem do processo analítico e não do MRC. Informações obtidas junto ao técnico do laboratório confirmam esta evidência, uma vez que foi relatado que, para a análise do MRC vem sendo utilizada uma curva de calibração construída com MRC de aço, sendo que o MRC IPT 24A é material de aço inox. Ou seja, a presença de Cr em alta concentração (característica de aços inoxidáveis) confere a coloração verde à solução da amostra. Isso provavelmente interfere no desenvolvimento da cor azul do complexo reduzido de fosfomolibdato para a análise fotométrica.

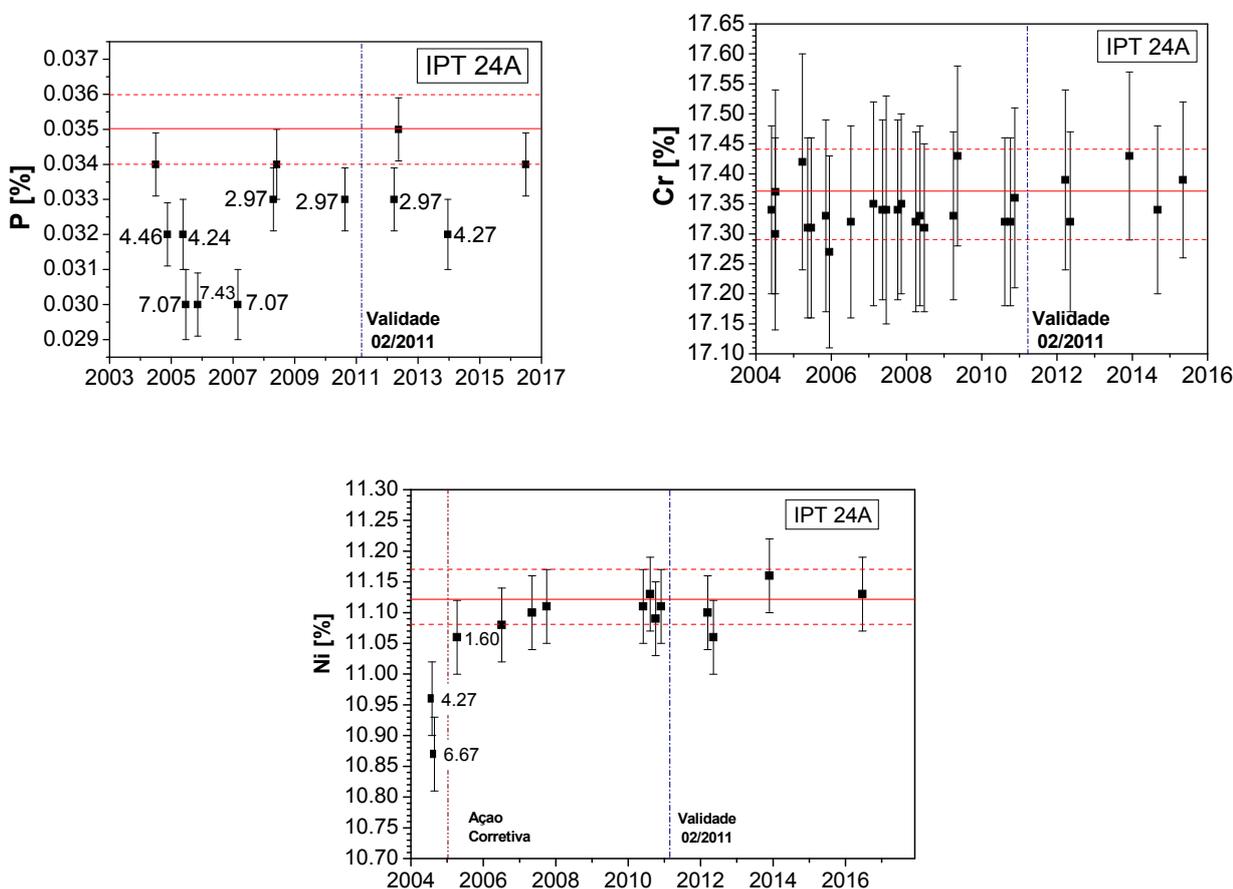


Fig. 7. Histórico de resultados de análises de P, Cr e Ni no MRC IPT 24A.

Os resultados dos teores de Cr no MRC IPT 24A (Figura 7) foram obtidos todos aceitáveis desde o início incluindo período posterior à validade declarada do material. Observa-se neste caso um grande

número análises realizadas com resultados plenamente satisfatórios, distribuídos aleatoriamente em torno do valor certificado, dentro do intervalo de incertezas e sem evidenciar tendências.

Com relação ao Ni (Figura 7), os resultados obtidos a partir de 2006 apresentam-se aceitáveis, mesmo nas últimas análises depois de expirado o prazo de validade do MRC IPT 24A. É interessante notar o erro nas primeiras análises do elemento. De acordo com informações coletadas, na época os resultados vinham sendo obtidos inferiores ao esperado devido a um erro experimental. Ou seja, tendo sido formado o precipitado do complexo de níquel com o reagente de dimetilglioxima, não se estava aguardando tempo suficiente para a completa formação do precipitado. Com isso, a pesagem da massa de precipitado incompleto resultava em teores de Ni abaixo do esperado. Uma ação corretiva foi implementada no início de 2005, incluindo o aumento do tempo de decantação do precipitado, e com isso os resultados passaram a se enquadrar de acordo com o valor certificado.

Com relação aos resultados dos teores de P e Si no MRC IPT 75A (Figura 8), apesar de terem sido realizadas poucas análises, não foram detectadas inconsistências, incluídos os períodos depois de expirado o prazo de validade.

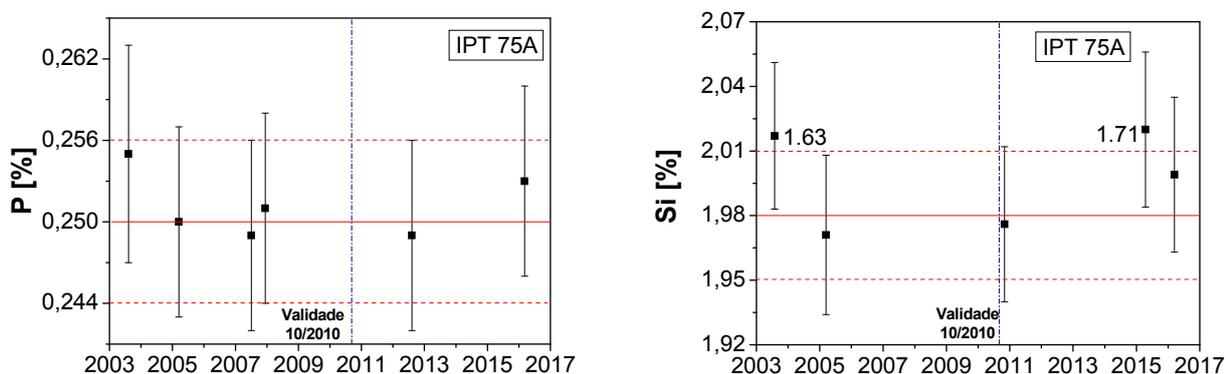


Fig. 8. Histórico de resultados de análises de P e Si no MRC IPT 75A.

Na Figura 9, todos os resultados obtidos dos teores de P no MRC IPT 117 foram considerados aceitáveis segundo o critério do z-score e dentro do intervalo de incertezas. Apesar disso, observa-se que a grande maioria foi obtida abaixo do valor certificado, indicando a possibilidade de um erro sistemático no processo analítico. Comportamento semelhante foi também observado para os resultados da análise do elemento nos MRC IPT 11A e IPT 24A. Diante de tais evidências, é altamente recomendável que o laboratório inicie uma investigação sobre a causa de tais desvios.

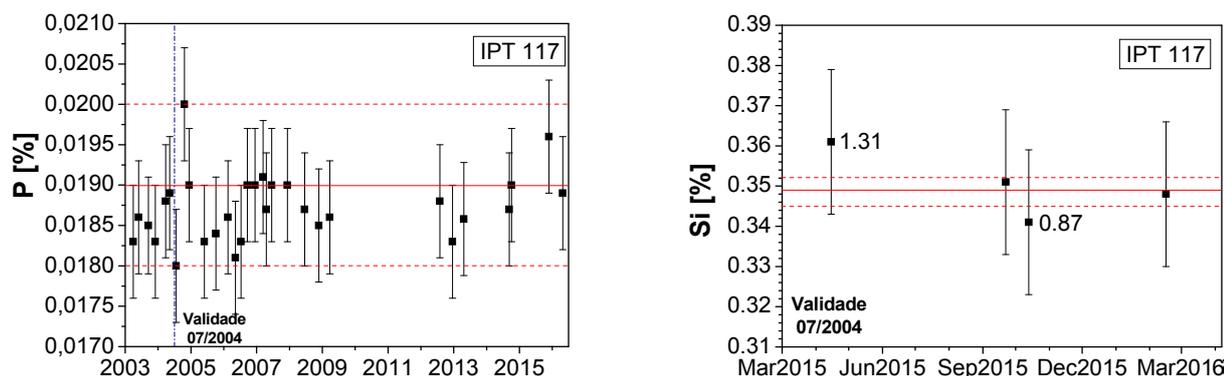


Fig. 9. Histórico de resultados de análises de P e Si no MRC IPT 117.

Ainda para estas análises, é interessante observar a estabilidade dos teores de P encontrados mesmo tendo passado 12 anos depois de expirado o prazo de validade do material. As análises de Si realizadas no ano de 2015 (Figura 9) também se apresentaram satisfatórias mesmo tendo decorrido longo tempo de vencimento da validade declarada. Por se tratar de um MRC de aço ferramenta (altamente estável), com base nos resultados obtidos, pode-se inferir que talvez não fosse necessário o estabelecimento de um prazo de validade, ficando este dependente somente das condições de manuseio e armazenamento, e condicionado ao monitoramento realizado mediante verificações periódicas.

4. Conclusões

A avaliação dos resultados das análises químicas dos MRC ao longo do tempo foi de extrema importância, pois possibilitou a detecção de tendências e erros sistemáticos. Isso proporciona ao laboratório a oportunidade de verificar/corrigir tais não conformidades tendo em vista um melhor aproveitamento dos MRC.

A utilização de um z-score também foi extremamente útil para a aceitação dos resultados de análises eventualmente fora dos intervalos de incerteza certificados. O teste considera não somente o erro aleatório, mas também as incertezas dos resultados obtidos e do MRC, o que gera uma análise de dados mais eficiente, adequada e confiável.

Outro fator observado é que mesmo após a data de vencimento, alguns MRC continuaram estáveis, ou seja, estes mantiveram suas propriedades ao longo do tempo. Isto contribui para a redução de



gastos com aquisição de novos materiais. Para estes casos, porém, é recomendável que se realizem análises periódicas dos materiais vencidos, para que seja confirmada sempre sua efetiva estabilidade. O estudo teve como principal objetivo a criação de um método de reverificação de MRC visando um melhor uso e aproveitamento de tais materiais. Para isso, o critério de avaliação por meio do z-score acompanhado da avaliação histórica de resultados mostrou-se eficaz.

5. Divulgação dos Resultados

Está sendo elaborado um artigo que aborda a discussão sobre a reverificação de MRC. Pretende-se submetê-lo em breve a uma revista.

Referências

- [1] **Orientação sobre validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008)**. INMETRO, 2011.
- [2] **The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories**. International Union of Pure and Applied Chemistry, 1993.
- [3] **ISO GUIDE 35: Reference Materials - General and statistical principles for certification**. ISO, 2006.
- [4] **Elemental Analysis Manual for Food and Related Products**. U.S. Food and Drug Administration, 2014.