

Anexo 12

Estimativa de Incertezas [65, 187, 188, 189, 190]

1. Introdução

A estimativa da incerteza associada ao resultado de uma medição envolve vários passos: a especificação da grandeza em causa, a identificação das possíveis fontes que contribuem para a incerteza dos parâmetros identificados inicialmente, a identificação dos componentes da incerteza e o cálculo da incerteza combinada e da incerteza expandida. O processo de estimativa da incerteza pode ser esquematizado da seguinte forma:

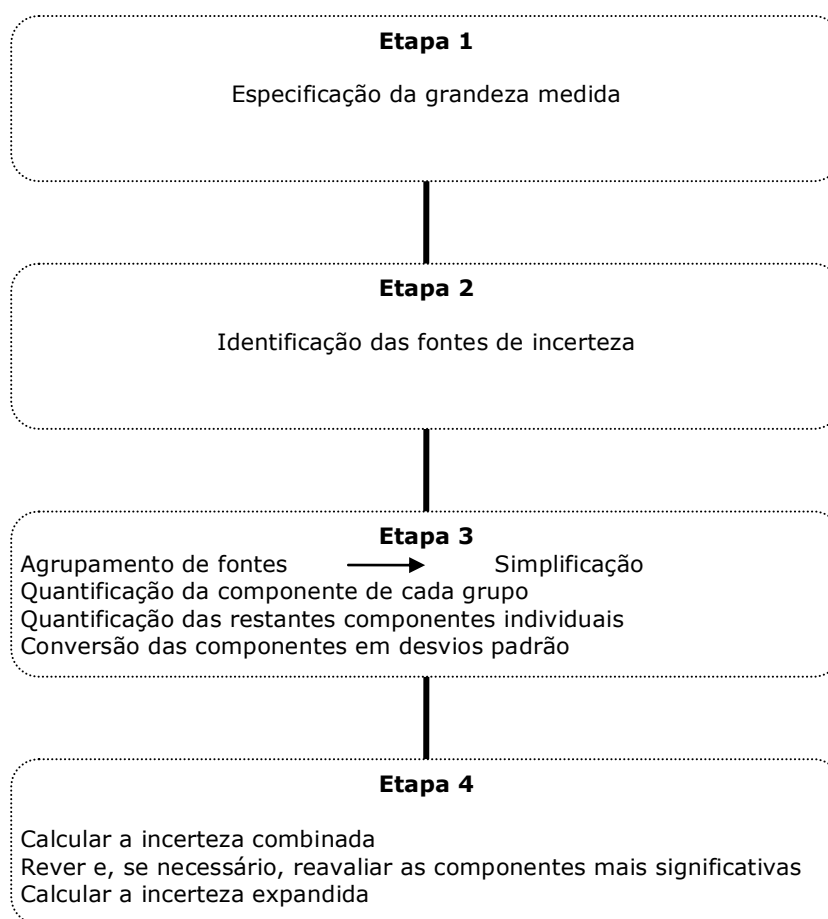


Figura A12.1: Esquema do processo de estimativa da incerteza associada ao resultado de uma medição.

As fontes de incerteza consideradas neste trabalho foram as seguintes: incerteza associada à preparação de uma solução padrão; incerteza associada à interpolação na curva de calibração; incerteza associada à variabilidade / precisão / dispersão do método de ensaio; incerteza associada à variabilidade dos ensaios de Recuperação (efeito de matriz); incerteza associada à exactidão dos ensaios de Recuperação (efeito de matriz).

2. Metodologias usadas para a quantificação da incerteza do método de ensaio

As abordagens mais vulgarmente usadas na quantificação da incerteza da medição são:

- i) Abordagem “passo a passo”, abordagem “componente a componente” ou na língua inglesa, abordagem “bottom-up”
- ii) Abordagem baseada em informação interlaboratorial
- iii) Abordagem baseada em dados da validação e/ou controlo da qualidade do método analítico recolhidos em ambiente intralaboratorial

Os laboratórios poderão usar qualquer uma destas metodologias, ou outras para além das apresentadas, desde que demonstrem que são tecnicamente válidas e aplicáveis aos métodos em estudo. A escolha da metodologia de cálculo será função da informação e recursos que o laboratório dispõe.

Quando uma melhor estimativa não está disponível ou não é imediatamente obtida, podem ser usados juízos profissionais para estimar a dimensão da incerteza atribuída a certos componentes.

O agrupamento das fontes de incerteza foi efectuado usando a abordagem “passo a passo” e a abordagem baseada em dados da validação e/ou controlo da qualidade do método analítico recolhidos em ambiente intralaboratorial.

2.1. Abordagem “passo a passo”

Nesta metodologia foram combinadas as componentes da incerteza associada à preparação de uma solução padrão, à interpolação na curva de calibração e à variabilidade / precisão / dispersão do método de ensaio.

2.2. Abordagem baseada em dados da validação e/ou controlo da qualidade do método analítico

A quantificação da incerteza da medição baseada em dados de validação e/ou do controlo da qualidade do método, consiste na combinação de incertezas padrão associadas ao desempenho global do método analítico. Nesta metodologia foram combinadas as componentes associadas à variabilidade (precisão) e à exactidão dos ensaios de Recuperação (efeito de matriz).

3. Quantificação das componentes de incerteza

3.1. Incerteza associada à concentração de uma solução padrão (u_c)

A incerteza associada à preparação de uma solução padrão resulta da combinação das seguintes fontes de incerteza:

- 1) Incerteza associada à pesagem
- 2) Incerteza associada à pureza do padrão comercial
- 3) Incerteza associada a uma medição de volume

A abordagem usada na quantificação desta incerteza da medição é a abordagem "passo a passo", "componente a componente", subanalítica ou, na nomenclatura inglesa, abordagem "bottom-up".

3.1.1. Incerteza padrão associada à pesagem do padrão comercial (u_m)

Na maioria dos ensaios químicos a incerteza padrão associada a uma pesagem unitária, pode ser estimada através do erro de indicação da balança. Pode-se recorrer ao "Erro Máximo Admissível" (EMA), estabelecido internamente pelo laboratório para cada balança, ou pode-se usar o maior erro de indicação dado pelo certificado de calibração da balança. Habitualmente considera-se que o EMA não deve ser ultrapassado pela soma do módulo do erro de indicação da balança com a incerteza associada à calibração do equipamento. Neste caso, considera-se uma distribuição rectangular uniforme associada ao EMA.

Esta equação deverá ter em consideração a incerteza associada a uma pesagem por diferença, [$m = (\text{massa bruta}) - (\text{massa da tara})$]. Assim, a incerteza referida anteriormente deverá ser contabilizada duas vezes devido ao facto das duas medições de massa serem independentes em termos de repetibilidade da pesagem e, muitas

vezes, também o serem relativamente à linearidade da resposta da balança. Assim, a incerteza associada à pesagem do padrão é dada pela seguinte expressão:

$$u_m = \sqrt{2 \left(u_{Bal}^{Calib} \right)^2} = \sqrt{2 \left(\frac{EMA}{\sqrt{3}} \right)^2}$$

Em que:

u_{Bal}^{Calib} Incerteza associada à calibração da balança

EMA Erro máximo admissível da balança

3.1.2. Incerteza padrão associada à pureza do padrão comercial (u_{pur})

Assume-se uma distribuição rectangular para a incerteza padrão associada à pureza do padrão comercial. Esta é calculada pela seguinte forma:

$$u_{pur} = \frac{u_{Cert}}{\sqrt{3}}$$

Em que:

u_{pur} Incerteza associada à pureza do padrão comercial

u_{Cert} Valor de incerteza dado pelo certificado de análise

Nota: Esta componente só é contabilizada caso a massa pesada do padrão comercial não seja corrigida com o valor da sua pureza, dado pelo certificado de análise do padrão, ou no caso de ser corrigido, o certificado de análise indicar a incerteza associada ao valor da pureza do padrão comercial (por exemplo, pureza = 95% ± 1%).

3.1.3. Incerteza padrão associada à medição de volume (u_v)

A incerteza associada a uma medição de volume é dada pela incerteza associada à calibração de material volumétrico convencional, u_v^{Calib} , a qual é estimada através da tolerância associada ao valor nominal do seu volume fornecida pela fabricante. Normalmente, a tolerância do material volumétrico é fornecida sem o nível de

confiança e sem qualquer indicação da distribuição associada a esta variável. Nestes casos, considera-se que este volume se rege por uma distribuição rectangular uniforme.

$$u_V = \sqrt{\left(u_V^{CaliB}\right)^2} = \frac{Tolerância}{\sqrt{3}}$$

Em que:

u_V^{CaliB} Incerteza associada à calibração de material volumétrico

Tolerância Tolerância do balão volumétrico

3.2. Incerteza padrão combinada associada à preparação da solução padrão primária (u_C)

A incerteza padrão combinada associada à preparação da solução padrão primária é dada pela seguinte expressão:

$$u_C = C \times \sqrt{\left(\frac{u_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{u_V}{V}\right)^2 + \left(\frac{u_{pur}}{pur}\right)^2}$$

Esta equação apenas é aplicada quando o valor da concentração da solução padrão primário é expresso em massa/volume.

Em que:

u_C Incerteza padrão combinada associada à preparação da solução padrão primária

C Concentração da solução padrão primária (m/v)

u_m Incerteza padrão associada à pesagem do padrão comercial

m Massa (em g) do padrão comercial, pesada na balança

u_V Incerteza padrão associada à medição do volume (balão volumétrico)

V Volume (em mL) do balão volumétrico

u_{pur} Incerteza associada à pureza do padrão comercial

pur Pureza do padrão comercial

3.3. Incerteza associada à interpolação na curva de calibração

Considerando que a curva de calibração é descrita de forma adequada pelo modelo de regressão "método dos mínimos quadrados" (polinómio do 1º grau, de acordo com a norma ISO 8466/1), a incerteza associada à interpolação do sinal da amostra na curva de calibração (u_{recta}) será dada pela seguinte equação:

$$u_{recta} = \frac{s_{y/x}}{b} \times \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y}_a - \bar{y})^2}{b^2 \times \sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

Sendo o desvio padrão residual dado por:

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i - (a + bx_i))^2}{N - 2}}$$

Em que:

- $s_{y/x}$ Desvio padrão residual da curva de calibração
- a Ordenada na origem da recta de calibração
- b Declive da curva de calibração
- N Nº de leituras de padrões utilizados no traçado da curva de calibração
- n Nº de leituras utilizadas para determinar o teor da amostra
- \bar{y}_a Valor médio das n leituras da amostra
- \bar{y} Valor médio das N leituras dos padrões de calibração
- x_i Concentração de cada um (i) dos N padrões de calibração
- \bar{x} Valor médio das concentrações dos padrões de calibração
- y_i Sinal instrumental de cada padrão de calibração

3.4. Incerteza associada à variabilidade/precisão/dispersão do método de ensaio

Quando este processo de cálculo está associado à aplicação de um método de ensaio, a incerteza combinada terá uma outra componente associada à

variabilidade/precisão/dispersão do método de ensaio, de modo a agrupar os efeitos aleatórios/de precisão/de variabilidade não contabilizados e que possivelmente possam existir nos diferentes passos do método de ensaio. Poderá ser feita a opção entre a precisão intermédia ou a repetibilidade, conforme rotina habitual do laboratório. Neste modelo de cálculo é feita a opção pela precisão intermédia, fazendo variar o tipo de matriz e o dia da análise.

Esta incerteza parcelar foi avaliada pela análise de amostras fortificadas, de concentração conhecida, em matrizes diferentes, em condições de precisão intermédia. O valor desta incerteza pode ser avaliada através do desvio padrão associado à média de uma série (n) de amostras fortificadas.

Assim a componente da incerteza associada à precisão é dada pela seguinte expressão:

$$u_{prec}(\%) = \frac{100 \times (s_n)}{\bar{C}_{obs} \times \sqrt{n}}$$

Em que:

u_{prec}	Componente da incerteza associada à precisão
s_n	Desvio padrão associado à média de n valores de concentração de amostras fortificadas
\bar{C}_{obs}	Valor médio da concentração da amostra nos ensaios de recuperação efectuados
n	Número de amostras fortificadas analisadas

3.5. Incerteza associada à variabilidade dos ensaios de Recuperação (efeito de matriz)

Esta metodologia segue a indicada no guia VAM ^[187]. A incerteza associada à recuperação média ($u(\bar{R}_m)$), em termos de variabilidade, pode ser estimada com base em ensaios onde previamente é adicionada uma quantidade conhecida do analito de interesse a uma matriz. A amostra fortificada é preparada de forma a reproduzir, tanto quanto possível, uma amostra real.

Nestes ensaios é necessária a realização de um "branco" da amostra (ensaio não fortificado), para garantir que a matriz não contém os analitos em estudo.

Deve-se então, proceder à fortificação de um volume previamente estabelecido da amostra e efectuar, pelo menos, dez ensaios independentes.

O valor médio dos ensaios de recuperação efectuados é determinado através da seguinte expressão:

$$\bar{R}_m = \frac{\bar{C}_{obs}}{C_{spike}}$$

Em que:

\bar{R}_m Valor médio dos ensaios de recuperação

\bar{C}_{obs} Valor médio da concentração da amostra nos ensaios de recuperação efectuados

C_{spike} Concentração teórica da amostra fortificada

A incerteza associada à recuperação média, em termos de variabilidade, é então obtida através da seguinte expressão:

$$u_{matriz} = u(\bar{R}_m) = \bar{R}_m \times \sqrt{\left(\frac{s_{obs}^2}{n \times \bar{C}_{obs}^2}\right) + \left(\frac{u(C_{spike})}{C_{spike}}\right)^2}$$

Em que:

$u(\bar{R}_m)$ Componente da incerteza associada ao ensaio de recuperação

s_{obs} Desvio padrão associado aos ensaios de recuperação efectuados

n Número de amostras fortificadas analisadas

$u(C_{spike})$ Componente da incerteza associada à concentração da amostra fortificada

3.6. Incerteza associada à exactidão dos ensaios de Recuperação (efeito de matriz)

Na ausência de um MRC ou de ensaios interlaboratoriais para estimar a componente da incerteza associada à exactidão do método de ensaio, podemos usar os resultados obtidos nos ensaios de recuperação como uma forma de avaliar a exactidão do método de ensaio.

O erro relativo dos ensaios de recuperação face ao valor teórico da amostra fortificada é dado pela seguinte expressão:

$$E_r = \frac{|C_{obs} - C_{spike}|}{C_{spike}}$$

Em que:

E_r Erro relativo dos ensaios de recuperação efectuados face ao valor teórico da amostra fortificada

A incerteza associada à exactidão do método é então obtida através da seguinte expressão:

$$u_{exact} (\%) = \frac{100 \times (s_{E_r})}{\overline{E_r} \times \sqrt{n}}$$

Em que:

u_{exact} Componente da incerteza associada à exactidão do método
 s_{E_r} Desvio padrão associado ao erro relativo dos ensaios de recuperação efectuados
 $\overline{E_r}$ Valor médio do erro relativo dos ensaios de recuperação efectuados
 n Número de amostras fortificadas analisadas

4. Incerteza padrão combinada

As componentes de incerteza padrão relativa estimadas a partir dos dados de validação e/ou do controlo da qualidade do ensaio, podem ser combinadas da seguinte forma: quando o método é aplicável numa gama restrita de concentrações, as componentes de incertezas podem ser contabilizadas simplesmente como componentes independentes de uma expressão aditiva. Neste caso, a incerteza padrão combinada ($u_C(\hat{C})$) de uma determinada grandeza C, pode ser calculada pelas seguintes expressões de acordo com o tipo de abordagem:

$$u_C(C) = \sqrt{u_C^2 + u_{recta}^2 + u_{prec}^2}$$

Ou

$$u_C(C) = \sqrt{u_{matrix}^2 + u_{exact}^2}$$

5. Incerteza expandida

A incerteza expandida, simbolicamente representada por $U(C)$, é a medida da incerteza, dada para uma função de distribuição de probabilidade apropriada ao resultado (distribuição normal), para um nível elevado de confiança (normalmente de aproximadamente 95% ou 99%). A incerteza expandida é igual à incerteza combinada afectada de um coeficiente ou factor de expansão, normalmente situado entre 2 e 3. Habitualmente é utilizado um factor de expansão de $K= 2$ (correspondente a um nível de confiança de aproximadamente 95%).

A incerteza expandida é assim determinada a partir da incerteza combinada pelas seguintes expressões:

$$U(C) = k \times u_c(C)$$

$$U(C) = 2 \times u_c(C)$$

6. Expressão do resultado

A concentração mais provável será dada por:

$$C \pm U(C) \text{ [unidades de concentração]}$$

A incerteza associada ao resultado deverá ser apresentada com um ou no máximo dois algarismos significativos. O resultado do ensaio deverá ser apresentado com um número de dígitos que será limitado pela incerteza do resultado.