

CQA

Controle da Qualidade Analítica

Fernando Mota de Oliveira

LABWIN – Serviços Especializados Ltda

1	Demonstração Inicial de Competência (DIC) e Validação do Método	2
1.1	Demonstração da Capacitação do Analista	2
1.2	Composição de uma validação	2
1.3	Descrição dos possíveis itens de validação	3
1.4	Preparo de Spikes (Adição de Padrão)	4
1.5	Repetitividade r (repeatability), % Recuperação e bias (Diferença)	4
1.6	Repetitividade em Microbiologia (Contagens)	5
1.7	Limite de Detecção do Método e Limite de Quantificação	6
1.8	Linearidade (Linearity), Faixa de Trabalho (Work Range) e Sensibilidade (Sensitivity)	9
1.9	Reprodutibilidade R (Reproducibility, precisão interlaboratorial ou intralaboratorial)	11
1.10	Exatidão (Accuracy)	12
1.11	Comparativo de Métodos diferentes com amostras diferentes	14
1.12	Especificidade/Seletividade ou Identificação	14
1.13	Robustez	15
1.14	Linearizações de Curvas Analíticas e suas respectivas incertezas	16
1.15	Equações de Linearização sem forçar o zero	16
1.16	Equações de linearização forçando o zero	17
1.17	Tabela de “ t ” de Students Unilateral a 99% (uso em LD e LQ)	18
1.18	Tabela de “ t ” de Students bilateral a 95% (uso para eliminação de “Outliers”, cálculos de limites de confiança, etc.)	18
1.19	Eliminação de Outliers (valores extremos) pelo teste de Grubbs	19
1.20	Exercício – Cálculo de LDM	20
1.21	Exercício – Cálculo de Repetitividade e %Recuperação	20
2	Demonstração contínua de Competência (DCC)	21
2.1	Controles da Qualidade Analítica Rotineiros	21
2.2	Calibração	22
2.3	Cálculos de CQA	22
2.4	Cartas de Controle	23
2.5	Avaliação de QC para amostras pequenas	24
2.6	Ações Corretivas	24
3	Referências Bibliográficas	24

CQA – Controle da Qualidade Analítica

1 Demonstração Inicial de Competência (DIC) e Validação do Método

É recomendado ter a validação do Método e testes de capacitação dos Analistas para cada Analito. Novos testes são necessários ao modificar métodos, comparando os resultados com o método de referência.

A validação do método permite conhecer as capacidades e limitações de um método analítico.

1.1 Demonstração da Capacitação do Analista

Segundo o Manual de Standard Methods (para águas) da APHA, na avaliação inicial do Analista para análises de águas requer-se ao menos uma prova em branco e 04 Spikes de Branco (Concentração entre 10 LDs e o meio da curva de calibração) ou outro nível especificado no método. Deve-se fazer os testes após análise dos padrões de calibração requeridos. Cuidado para que a prova em branco não tenha o analito em mais que a metade do LQ ou outro nível especificado no método. Garantir que a repetitividade e a exatidão (porcentagem de recuperação) calculados para o spike de branco são aceitáveis com base nos critérios listados no método escolhido. Se não há critérios estabelecidos no método use Recuperação de 80% a 120% e %CV $\leq 20\%$ (Desvio padrão Relativo) como ponto de partida. Se detalhes de demonstração inicial de competência não são fornecidos no método de escolha especifique e referencie o método ou procedimento usado para demonstração de competência.

Evidentemente que em um ambiente muito produtivo, ter que fazer os testes de cada novo analista em todos os ensaios torna-se uma tarefa difícil ou até impossível. Nestes casos pode-se escolher um número limitado de métodos que envolvam as habilidades requeridas (preparos, extrações, leitura em espectrofotômetros, entendimento de cromatogramas, medições volumétricas, pesagens, etc.) para os testes de capacitação do Analista e aliar a isto uma supervisão por analistas experientes aos novos analistas.

1.2 Composição de uma validação

A validação do método pode ser composta por diversos ou todos os itens que seguem. Uma análise crítica deve ser feita para definir o que é aplicável e o que é técnica e economicamente viável de se fazer de acordo com o método analítico. Existe um número muito grande de situações em um laboratório com relação a validações ou re-validações, de modo que é muito difícil se predefinir o que é requerido ou obrigatório. Deve-se levar em conta que as validações consomem muito tempo e portanto devem ser feitas visando ter-se registros de dados acima de tudo úteis.

A série que segue é utilizada no software “Labwin – CQA”. Outras formas de realização dos testes podem ser recomendadas.

- a) Repetitividade (r), Exatidão, %Recuperação e bias (diferença sistemática).
- b) Repetitividade em microbiologia.
- c) Limites de detecção (LD ou LDM) e quantificação (LQ ou LQM).
- d) Exatidão por análise de material de referência
- e) Reprodutibilidade (R), Repetitividade (r) e Exatidão em Intralaboratorial (vários analistas em um mesmo Laboratório)
- f) Reprodutibilidade (R), Repetitividade (r) e Exatidão em Interlaboratorial (vários laboratórios utilizando o mesmo método).
- g) Seletividade.
- h) Robustez.
- i) Comparativo de Métodos - Amostras diferentes em métodos diferente.
- j) Repetitividade, Exatidão e %Recuperação - Multi-Análise. Para uso em cromatografia e analisadores em linha).
- k) LD e LQ - Multi-Análise. Para uso em cromatografia e analisadores em linha.

1.3 Descrição dos possíveis itens de validação

- a) **Descrição do conhecimento de Limitações e Interferências (Limitations and Interferences):** Estas descrições geralmente devem constar no método analítico e podem opcionalmente utilizar os testes de especificidade/seletividade ou a identificação (por cromatografia, Espectrometria de massas, infra-vermelho, etc.) como complemento. Em métodos oficiais muitas vezes todos estes estudos já foram feitos e constam nos mesmos. **Frequência:** Geralmente feito apenas ao se pôr o método em uso.
- b) **Repetitividade (Repeatability):** Também chamado de “Precisão de Analista” indica a precisão do método. É feito com a análise de uma mesma amostra (geralmente 5 a 10 vezes) por um mesmo analista, em um mesmo instrumento, em um período de tempo relativamente curto. Para componentes menores pode ser requerido o teste em 03 faixas de concentrações (quando há curva analítica, geralmente em 20%, 50% e 100% da curva) quando pode-se obter a equação linearizada de desvio padrão em função de concentração. Na inviabilidade de se obter a equação o valor de CV (Coeficiente de Variância ou Desvio padrão relativo) pode ser utilizado para valores em concentrações diferentes da estudada. Os valores de repetitividade são utilizados para gerar as cartas de controle de média para exatidão e de amplitude para duplicatas, cálculos de incertezas de ensaios, etc. Se os testes são feitos com amostra de teor conhecidos os resultados podem ser utilizados também para obtenção de “%Recuperação (%Recovery)” indicativo da eficiência de extrações, digestões, etc, quando o método as usa. Pode-se também calcular “bias” ou “Diferença” entre o resultado obtido e o real: com base no teste t se pode definir se o método tem resultados sistematicamente diferentes (biased) ou não (un biased). **Frequência:** Os testes são feitos somente ao pôr-se o método em uso ou quando o método sofre modificações. Rotineiramente a Repetitividade é acompanhada através de duplicatas geralmente com frequência de a cada 10 ou 20 amostras a até 1 por mês que são lançadas em cartas de controle de amplitude.
- c) **Exatidão (Accuracy):** Indica o quanto os resultados obtidos são próximos dos reais. Geralmente as amostras são analisadas 1 a 3 vezes e o teor obtido comparado com o real. Os testes de exatidão internos na maioria das vezes são com “Spikes”, “Materiais de Referência” ou “Formulações de Laboratório” e os externos com “amostras de interlaboratoriais” (onde o analista não conhece o teor da amostra). **Frequência:** Os testes internos normalmente são feitos com frequência de no mínimo a cada 10 ou 20 amostras analisadas a no máximo um por mês e os resultados lançados em cartas de controle de média. A frequência dos testes internos deve ser definida pela gerência do laboratório dentro de algo viável técnica e economicamente. Os testes interlaboratoriais normalmente são feitos 1 a 2 vezes por ano e trazem a vantagem de haver comparação com outros laboratórios e com padrões de origens diferentes, o que permite que se detecte problemas não perceptíveis dentro do laboratório.
- d) **Limites de Detecção e Quantificação (Detection and Quantification Limits):** O Limite de Detecção indica o teor a partir do qual o analito pode ser detectado com 99% de confiança e o de quantificação o teor a partir do qual os teores obtidos têm precisão aceitável. Aplica-se somente em métodos para impurezas ou componentes menores. É requerido somente para componentes menores ou impurezas. **Frequência:** Os testes geralmente são feitos somente ao pôr-se o método em uso ou quando ocorre alguma mudança que possa interferir na detecção, como instrumental diferente ou mudanças no ruído instrumental.
- e) **Reprodutibilidade (Reproducibility):** A reprodutibilidade é a maior diferença, no nível de confiança de 95%, que pode ocorrer em resultados obtidos em condições de reprodutibilidade, ou seja, analistas diferentes, instrumentos diferentes ou até laboratórios diferentes. A reprodutibilidade é uma combinação do desvio padrão dos participantes com o desvio padrão entre os participantes. O ideal é que vários laboratórios, com supervisões diferentes, analisem a mesma amostra 5 a 10 vezes em “Interlaboratoriais”. Desta forma pode-se obter a Reprodutibilidade e além disto avaliar cada participante quando a precisão e quanto a exatidão. A Reprodutibilidade pode ser feita também internamente, em “Intralaboratoriais” (cada analista analisando a mesma amostra 5 a 10 vezes) onde além de um valor de Reprodutibilidade (chamada intermediária), avaliar cada analista quanto a precisão e exatidão. Estes dados podem ter valor como “Qualificação” dos Analistas (requerido pela ISO 17.025) e cada novo analista pode fazer a análise da mesma amostra sendo assim qualificado para análises rotineiras. Observar que esta “Qualificação” pode ser inviável de ser feitas para todos os métodos do laboratório e qualificações apenas em poucos métodos que representem a rotina feita (exemplo, um espectrofotométrico, um cromatográfico, etc.). **Frequência:** Os testes geralmente são feitos no início de uso do método (não antes de implantá-lo, quando os analistas ainda não têm experiência). A “Qualificação” deve ser feito com cada novo analista, que analisa a mesma amostra (ou uma amostra preparada com a mesma concentração).
- f) **Linearidade (Linearity), Faixa de Trabalho (Work Range) e Sensibilidade (Sensibility):** A linearidade e a sensibilidade aplicam-se somente a métodos instrumentais com curvas analíticas. A linearidade indica o valor máximo que o instrumento pode apresentar uma resposta proporcional ao teor do analito e a sensibilidade é a relação entre resposta (absorvância, área, etc.) e concentração (inclinação da curva analítica). A faixa de trabalho geralmente é limitada pelo limite de detecção e a linearidade em métodos instrumentais. **Frequência:** Os testes são feitos somente ao pôr-se o método em uso ou quando o método sofre modificações, exceto para sensibilidade, que, para métodos onde a sensibilidade do aparelho pode modificar muito (exemplo: GC/MS) o valor deve ser calculado semanalmente ou mensalmente e comparado com o valor inicial (geralmente se considera uma perda de cerca de 20% de sensibilidade pode indicar ocorrência de problemas).

- g) **Especificidade/Seletividade:** Indica se o teor obtido de um analito pode ser afetado por interferentes ou pela matriz. É verificado pela comparação de ensaios feitos pelo menos 5 vezes na condição padrão e na condição problema (com o interferente ou na matriz interferente). Geralmente é dispensado para métodos oficiais, onde estes estudos já foram feitos. **Frequência:** Os testes são feitos somente ao pôr-se o método em uso.
- h) **Robustez:** Indica se o teor obtido de um analito pode ser afetado quando o método não foi implementado perfeitamente ou quando o ensaio é feito em condições precárias, ou seja, método executado por um analista destreinado, uso de equipamentos inadequados (pipetas, etc.), equipamentos mal regulados (placa de aquecimento, termômetro, etc.), etc. Um método robusto é um método que mesmo feito em condições precárias gera bons resultados. É verificado pela comparação de ensaios feitos pelo menos 5 vezes na condição padrão e na condição problema da mesma amostra. Geralmente é dispensado para métodos oficiais, embora um método oficial possa não ser necessariamente robusto. **Frequência:** Os testes são feitos somente ao pôr-se o método em uso.

1.4 Preparo de Spikes (Adição de Padrão)

Para testes de Repetitividade, Limites de Detecção, Exatidão, Reprodutibilidade, etc. as adições de padrão e o preparo de formulações com frequência são necessários. Para componentes menores (exemplo, impurezas em produtos ou impurezas em águas e solos) o spike deve ser feito de maneira que o volume adicionado seja desprezível (geralmente menor que 1% do volume de amostra) de modo a simplificar os cálculos em uma rotina diária. Os padrões utilizados devem ser preferencialmente com teores certificados e com suas respectivas incertezas, embora isto nem sempre seja possível em todas as ocasiões (exemplo, para impurezas em produtos industriais). Seguem exemplos básicos destes procedimentos.

Exemplo de Spike de 100mg/L de Cloretos em água: Partindo-se de uma solução a 10g/100mL (100000mg/L) de Cloretos (Preparada a partir de Cloreto de Sódio), a 100mL de água se adicionam 100μL desta solução.

Exemplo de Spike de 10 μg/L de Benzeno em água: Partindo-se de uma solução a 1000μg/mL de Benzeno, 1mL desta solução são diluídos para 100mL em balão volumétrico gerando uma solução a 10μg/mL (10000μg/L); a 100mL de água ultra-pura se adicionam 100μL desta solução.

Exemplo de Adição de Padrão em produto formulado em massa por massa: a 50g de produto a 5,10% (média de análise em duplicata) se adiciona 2,5g de produto a 99% (Adição de 4,95%). Teor Total = $((50g \times 5,10\%) + (2,5g \times 99\%)) / 52,5g = 9,571\%$. Teor adicionado = 4,95%. Resultado do ensaio corrigido (Recuperado) = $(\text{Teor obtido} \times 52,5 / 50 - 5,10)$.

Exemplo de Adição de Padrão em produto formulado em massa por volume: Em uma proveta de 1,0L com 0,500L de produto a 52,2g/L (média de análise em duplicata) se adiciona 25g de produto a 99% (Adição de 49,5g/L) e mede-se o volume final igual a 0,520L. Teor Total = $((0,5L \times 52,2g/L) + (25g \times 99/100)) / 0,520L = 97,79g/L$. Teor adicionado = 49,5g/L. Resultado do ensaio corrigido (Recuperado) = $(\text{Teor obtido} \times 0,520L / 0,500L - 52,2)$.

Exemplo de preparo de formulação em massa a 5% tendo-se formulação placebo (sem o princípio ativo): A 95,00g de formulação placebo se adiciona 5,00g de produto a 99%. Teor final: $5g \times 0,99 \times 100\% / 100g = 4,95\%$.

Exemplo de preparo de formulação em massa por volume a 15g/L tendo-se formulação placebo (sem o princípio ativo): Em um balão volumétrico de 500mL adiciona-se 7,500g de Produto a 99% e completa-se a volume com formulação placebo. Teor final: $7,500g \times 0,99 / 0,500L = 14,85g/L$.

Exemplo de amostra de água 'Sintética' (de Standard Methods): 241mg/L de Cloretos, 108mg/L de Ca, 82mg/L de Mg, 3,1mg/L de K, 19,9mg/L de Na, 1,1mg/L de Nitratos (como N), 0,25mg/L de Nitritos (como N), 259mg/L de Sulfatos e 42,5mg/L de Alcalinidade (através de NaHCO_3), todos em água destilada.

1.5 Repetitividade r (repeatability), % Recuperação e bias (Diferença)

Aplica-se a todos os tipos de amostras.

A condição de Repetitividade é que utilize um mesmo analista e o mesmo instrumental em um período relativamente curto (geralmente amostras feitas em série).

Para que serve:

- Como saber se uma duplicata gerou valores aceitáveis?
- Utilizado para gerar os limites iniciais para cartas de médias (spikes, etc.) e de amplitudes (para duplicatas).
- Cálculo de incerteza do ensaio.
- A %Recuperação e bias (diferença) são úteis em métodos com extrações, digestões, etc. que tendem a gerar baixos resultados. Se com base no teste t o valor de bias (diferença média) é negligenciável o método é considerado "Não Diferenciado" (unbiased) e do contrário é um método "Diferenciado" (biased).

Recomendação de execução para análises de impurezas ou componentes menores

Ao menos 5 replicatas (recomendado 10) em 03 faixas de concentração (para métodos instrumentais recomendamos 20%(baixa), 50%(média) e 100%(alta) da curva analítica).

As amostras geralmente são preparadas através de Spikes.

Recomendação de execução para produtos puros ou componentes maiores

Ao menos 5 replicatas (recomendado 7) em 01 faixa de concentração típica.

A amostra de testes pode ser uma amostra típica, uma amostra que passou por interlaboratorial ou de preferência um material de referência.

Cálculos

Para cada série de replicatas deve-se eliminar valores extremos (muito altos ou muito baixos) pelo teste t ou pelo teste de Grubbs, para a seguir partir para os demais cálculos. Para mais detalhes veja o anexo.

Média (M)

Média aritmética em cada faixa de concentração

Desvio padrão (DP)

Desvio padrão em cada faixa de concentração

Limite de Repetitividade (r) = k X DP

O DP pode ser multiplicado por um fator de abrangência (k) de modo a representar um limite de confiança de 95%. O valor de k pode ser:

- 2,772** (1,96 X raiz(2) que representa a distribuição normal a 95% para duplicatas)
- (t a 95%, n-1) X Raiz (n + n/1)**, que representa 95% de confiança pela distribuição t (poucas amostras)
- 3,267** (Limite para cartas de controle de duplicatas)

%Recuperação

%Recuperação = Média X 100 / Valor Real.

Somente pode ser calculado em Spikes ou quando se tem o teor real da amostra (material de referência).

Curva linearizada

A repetitividade pode ser apresentada na forma de equação: "Desvio Padrão = Concentração X b + a" quando se trabalha em 3 faixas de concentração. Para mais detalhes ver o capítulo sobre linearização.

Método	EPA 524.2	Análito	Benzeno
Unidade	µg/L	Criado por	Fernando=>16/05/04
		Editado por	Fernando=>16/05/04
Tipo de Testes	Adição de Padrão (Spikes) em matriz		Período
			12/05/04 a 12/05/04

Recomendações

É necessário obter uma matriz isenta de analito (ou com teor relativamente baixo) e adicionar o padrão em faixas de concentração adequadas. Não se aplica a produtos puros ou de alta pureza.

Para análises de águas, a matriz isenta do analito pode ser água destilada ou deionizada. Outra boa opção é preparar uma água (seja marinha, potável, etc) sintética adicionando diversos sais em água destilada ou deionizada.

Para outras matrizes nem sempre é possível obter uma matriz isenta e se torna necessário substituir a matriz por um solvente por exemplo.

☒ **Elimina Outliers (Extremos) pelo Teste de Grubbs**

Teste	Conc.	Val. 1	Val. 2	Val. 3	Val. 4	Val. 5	Val. 6	Val. 7	Val. 8	Val. 9	Val. 10	Observações
1	10,2	9,9	9,8	10,2	10,3	10,0	9,5					Conc.=10,2; Média=9.950; DP=0.288; Lim. de r=0.799; CV=2,9%; n=6; Recup.=97,5%; bias=-0.250(Não Diferenciado).
2	45,2	45,0	48	50,5	50,1	47,2	55,0					Conc.=45,2; Média=49.30; DP=3.44; Lim. de r=9.54; CV=7,0%; n=6; Recup.=109,1%; bias=4.10(Não Diferenciado).
3	100,5	94,2	95,6	100	108,0	112,5	98,0					Conc.=100,5; Média=101.4; DP=7.29; Lim. de r=20.2; CV=7,2%; n=6; Recup.=100,9%; bias=0.883(Não Diferenciado).

Notas e informações para rastreabilidade

Repetitividade Conc.=10,2; Média=9.950; DP=0.288; Lim. de r=0.799; CV=2,9%; n=6; Conc.=45,2; Média=49.30; DP=3.44; Lim. de r=9.54; CV=7,0%; n=6; R Conc.=100,5; Média=101.4; DP=7.29; Lim. de r=20.2; CV=7,2%; n=6; Desvio Padrão = Concentração X 0.0764 -0.420

Valor de k para cálculo de limite de repetitividade

☒ k=2,772 (1,96 * raiz(2)). Distr. normal a 95% para duplic.

☐ k=(t 95%) X raiz(1+1/n)

1.6 Repetitividade em Microbiologia (Contagens)

Em contagens de bactérias, via membrana filtrante ou via Pour Plate, para se obter uma distribuição próxima da normal é necessário que se trabalhe com os Logaritmos em base 10 das contagens.

O trabalho normalmente é feito somente com duplicatas, onde a repetitividade do ensaio é acompanhada.

Testes Iniciais: ao menos 7 a 15 duplicatas de amostra rotineiras são feitas, e com base nestes dados se obtém a média das diferenças absolutas dos logaritmos das contagens. Os Outliers são eliminados pelo teste de Dixon. Este desvio médio é tomado como base para a carta de controle de amplitude, onde o limite de controle é o desvio médio vezes 3,267.

Teste rotineiros: A cada 10 ou 20 amostras faz-se uma duplicata e a diferença absoluta dos Logs é lançada em carta de controle de amplitude.

Método	Contagem	Análito	Coliformes Fecais	Retorna
Unidade	mq/L	Editado por	=>03/06/04	Cancela
Descrição do Teste	Amostras de Rotina	Período	12/06/04 a 14/06/04	

Recomendações

Em microbiologia a realização de duplicatas de amostra rotineiramente é um indicativo da qualidade do laboratório.
No teste de validação várias duplicatas (pelo menos 7) são utilizadas para se definir o desvio médio absoluto dos logaritmos das concentrações.
A partir deste valor as duplicatas podem ser lançadas em cartas de amplitude para diferenças entre os Logs(10) das concentrações.

Teste	Contagem - A	Contagem - B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.	Observações
1	12	15	1,079	1,176	0,097	
2	12	12	1,079	1,079	0,000	
3	14	20	1,146	1,301	0,155	
4	5	8	0,699	0,903	0,204	
5	22	18	1,342	1,255	0,087	
6	250	18	2,398	1,255	1,143	Outlier-Dixon
7	28	13	1,447	1,114	0,333	
8						

Resultado

Amostras de Rotina- Desvio Médio dos Logs=0.146

Notas e informações para rastreabilidade

1.7 Limite de Detecção do Método e Limite de Quantificação

Aplica-se somente a métodos onde o analito é impureza ou traços e que eventualmente não é detectado.

O Limite de Detecção do Método ou Limite de Detecção, é a concentração do analito que pode ser detectada com cerca de 99% de confiança. Estatisticamente o LDM é definido como o 'desvio padrão próximo ao LDM' vezes 'o valor de t de students unilateral a 99% de confiança'. O valor de t depende do número de replicatas. Para 7 este valor corresponde a aproximadamente 3 (o valor de t varia de 3,4 a 2,8 entre 6 e 10 replicatas). O valor 3 arredondado é considerado em grande parte das literaturas e será considerado com este valor arredondado por uma questão de sistemática, considerando-se que o LDM não passa de uma estimativa estatisticamente baseada.

Independente da forma de execução as fórmulas básicas são:

LDM = Média do Branco + 3 Desvios Padrão

LQ = Média do Branco + 10 Desvios Padrão

O LQ também pode ser abordado como "LQ" prático onde se mede o desvio padrão de amostras em várias faixas de concentração bastante baixas e se define a partir de qual o desvio padrão é "aceitável", que é chamado de LQ. Não entraremos em detalhes destes procedimentos.

Para que serve o LDM e o LQ?

- A partir de que concentração podemos ter certeza que um analito está presente com confiança?. A partir do LDM.
- A partir de que valor os resultados podem ser considerados relativamente precisos?. A partir do LQ.

Na faixa entre o LDM e o LQ os números são considerados estimativas ou semi-quantitativos. Alguns laboratórios optam por expressar como segue:

- Valores abaixo do LDM como <"Valor do LDM".
- Valores abaixo do LDM como "ND", expressando o valor do LDM no mesmo relatório.
- Valores acima do LDM como resultados normais, independente do LQ;
- Valores entre o LDM e o LQ como "Resultado J", onde o J indica a justificação de ser estimativa;
- Valores entre o LDM e o LQ como "Traços" e somente os valores a partir do LQ como números;

O LQ indica um valor a partir do qual podem-se fazer comparações com outros resultados. Exemplo: Um resultado obtido por um laboratório entre o LDM e o LQ pode apresentar erros entre 50% e 100%. Se o mesmo não está devidamente assinalado poderá ser comparado com resultados obtidos por outro laboratório para a mesma amostra e a comparação levar a conclusões nada agradáveis.

Outros nomes e siglas (siglas em inglês entre parêntesis):

- a) LDM (MDL): Limite de Detecção do Método, também chamado de LD (LoD).
- b) LDI (IDL): Limite de Detecção Instrumental. Equivale ao LDM na maioria dos casos, exceto quando o procedimento analítico é complexo e leva a perdas.
- c) LQ (QL): Limite de Quantificação.
- d) LR (RL): Limite de resultados, o mesmo que LQ.

Existem 04 técnicas básicas para se obter LDM e LQ:

- a) Replicatas de prova em branco.
- b) Replicatas de Spikes (requer que se estime o LDM previamente).
- c) Regressão Linear (requer que se estime o LDM previamente).
- d) Relação Sinal/Ruído (em cromatografia).

Quando se trabalha com “Replicatas de Branco” e com “Spikes” os métodos da EPA podem requerer confirmação através de Spikes em uma faixa pouco acima do LDM.

Para se trabalhar com “Spikes” e com “Regressão Linear” A primeira etapa é se obter uma estimativa, mesmo que grosseira, do Limite de Detecção.

LDM é algo sempre com certa complexidade para se obter valores dentro da realidade. Por mais complexos os cálculos e perfeita a estatística pode-se chegar a valores absurdos se não se tem uma estimativa inicial correta. Por fim, os LDMs não passam de estimativas com fundamento estatístico. Assim devem ser expressos apenas com um ou dois algarismo significativos, pois estão em uma faixa de concentração onde a incerteza pode chegar a 100%.

Ter uma estimativa com base prática é essencial, ou pode-se chegar a valores absurdos e não se ter como avaliar a validade. Exemplos:

- a) **A experiência do Analista** pode fornecer valores razoáveis do LDM.
- b) **Métodos espectrofotométricos:** Calcular o resultado com absorbância de 0,001 (Métodos muito simples) a 0,005 (métodos mais complexos, com preparos, etc.) . Exemplo: um método resultado (em mg/L) calculado como ‘Absorbância X 23,5’ tem um LDM estimado em ‘0,002 X 23,5 = 0,05mg/L’.
- c) **Métodos cromatográficos:** Próximo ao pico de interesse procurar por “ruídos” ou picos bem pequenos, calcular a área média deles e calcular como se fosse o composto de interesse. Se já há um histórico de resultados baixos, próximos ao não detectável considere esta estimativa. Outra possibilidade: reduzir o Slope (threshold) e a área mínima obtendo assim o “ruído” da linha base em uma injeção de amostra, podendo assim calcular o ruído médio (média das áreas dos picos detectados) próximo ao pico de interesse. Este ruído vezes 3 é uma ótima estimativa do LDM. A área mínima deverá ser estimada para ser um valor um pouco abaixo disto.
- d) **Métodos titulométricos:** Normalmente o volume de uma gota (0,05mL) é próximo do limite de detecção quando a viragem é bem perceptível ou quando a curva de titulação é bastante “vertical” durante a viragem. Para viragens ruins um volume de cerca de 0,2 mL pode ser mais adequado. Calcular uma amostra com este volume estimado. Exemplo: Em cloreto titulométrico (Mohr) usando AgNO_3 0,014M e 50mL de amostra, o cálculo (em mg/L) é feito como $\text{Volume} \times 0,014 \times 35450 / 50$, e o LDM pode ser estimado em $0,20 \times 0,014 \times 35450 / 50 = 2 \text{ mg/L}$.
- e) **Métodos gravimétricos:** Considere o cálculo com base na incerteza da balança. Para balanças de 4 decimais a incerteza geralmente é na ordem de 0,0004g. Para balanças de 5 decimais a incerteza geralmente é na ordem de 0,00005g. Para balanças de 2 decimais a incerteza geralmente é na ordem de 0,01g. Exemplo: Em Sólidos Suspensos, em mg/L, 50mL de amostra são filtrados e os sólidos pesados em balança de 4 decimais; o resultado é calculado como ‘g Sólidos X 1000000 / 50’ e o LDM pode ser estimado em ‘0,0004 X 1000000 / 50 = 8 mg/L’.

LDM e LQ a partir de Replicatas de Prova em Branco

Esta forma de execução se aplica somente a métodos onde a prova em branco sempre apresenta valores, como espectrofotometria, titulações, gravimetria, etc. Normalmente não se aplica a métodos cromatográficos e outros, onde a prova em branco raramente apresenta resposta.

A execução é simples e praticamente à prova de falhas: cerca de 7 replicatas de prova em branco (preparadas como se fossem amostras).

LDM = Média do Branco + 3 Desvios Padrão

LQ = Média do Branco + 10 Desvios Padrão

A confirmação do LDM (EPA) pode ser requerida.

LDM e LQ a partir de Replicatas de Spikes em baixa concentração

Quando o método não apresenta resposta nas provas em branco (muito comum em cromatografia), para avaliar o desvio padrão em valores baixos é necessário fazer adição de padrão em uma prova em branco (também chamado de Spike de Branco). cerca de 7 Spikes entre 2 e 5 LDM estimado devem ser analisados. Geralmente adotamos 2LDMs como um valor adequado.

Considerando-se que a prova em branco apresenta resultado zero:

LDM = 3 Desvios Padrão

LQ = 10 Desvios Padrão

A confirmação do LDM (EPA) pode ser requerida.

LDM e LQ a partir de regressão linear

Para maior conhecimento consulte o item sobre cálculos de regressão linear.

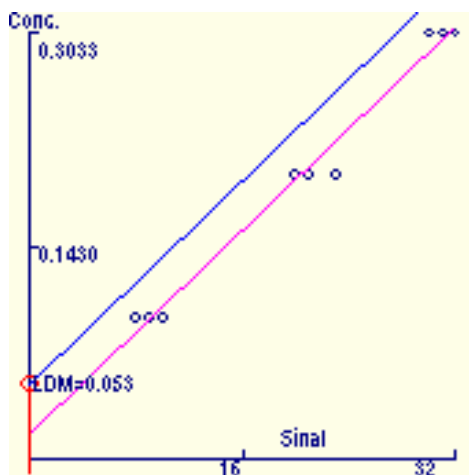
A regressão linear é uma ferramenta ótima para determinar o Limite de Detecção. A curva linearizada com valores próximos do LDM fornece o valor de "Intercepto", que equivale uma média de prova em branco e também um valor de RSD (Residues Standard Deviation) calculado com base nas diferenças entre valores reais e valores calculados de concentrações. O RSD equivale a um desvio padrão das concentrações.

Para a execução padronizamos gerar uma curva analítica com três concentrações (2LDM, 4LDM e 6LDM) em triplicatas ou em duplicatas. O eixo Y deve mostrar concentrações e o eixo X o sinal instrumental.

LDM = Intercepto + 3 RSD

LQ = Intercepto + 10 RSD

Na figura que segue a linha violeta é a curva linearizada e a linha azul a curva linearizada mais 3 RSD. Apresenta 3 replicatas em 0,1mg/L; 0,2mg/L e 0,3mg/L.



LDM via relação Sinal/Ruído para cromatografia (Limite de Detecção Instrumental)

Para cromatografia, a média dos picos de ruído, na janela, ou próximo do pico de interesse, representam o desvio padrão da linha base (que define o Limite de Detecção Instrumental).

Forma de Execução:

- Injetando uma prova em branco obter as áreas de 7 a 10 picos de ruído na região do pico de interesse. Se for necessário, reduzir a área rejeitada previamente.
- Calcular as respectivas concentrações equivalentes aos ruídos com base na última calibração feita.
- LDM será calculado, com base no LDI, como 3 * Média e o LQ será calculado como 10 * Média.

Confirmação do LDM (geralmente requerido pela EPA)

Se o LDM foi definido por provas em branco ou por Spikes a confirmação pode ser requerida.

Deve-se fazer Spikes em uma concentração próxima do LDM e um pouco diferentes da do Spike inicial (quando feito por Spikes). Geralmente se adota 4 LDMs. Após isto o cálculo é como segue:

Comparar as variâncias da determinação inicial e esta:

- Obter F calculado = $(\text{Desvio padrão maior})^2 / (\text{Desvio padrão menor})^2$.
- Obter F Tabelado a 95% com graus de liberdade do maior e graus de liberdade do menor. Considerando-se 7 replicatas os graus de liberdade são 6 e o valor de $F = 4,28$.
- Se o valor de F calculado for maior que o de F tabelado os testes devem ser refeitos, pois têm variâncias diferentes.
- Se o valor de F calculado for menor que o de F tabelado deve-se calcular o desvio padrão combinado (pooled) como segue, onde os graus de liberdade são 6: $DP \text{ Comb.} = (6(DP1)^2 + 6(DP2)^2) / (6+6)$.
- Recalcular o LDM e o LQ com base no DP Combinado (pooled)

Método	EPA 524.2	Análito	Benzeno	☒	Retorna
Unidade	µg/L	Criado por	Fernando=>16/05/04	Editado por	Fernando=>16/05/04
Tipo de Testes	Spikes em baixa concentração		Período	12/05/04 a 12/05/04	Cancela
LDM Esperado	0,07				

Recomendações

Opção válida para instrumentos onde normalmente não há resposta na prova em branco. Exemplo: Cromatógrafos, etc.
Deve ser feita uma contaminação estimada entre 2 e 5 LDMs (0.14 a 0.35) em uma prova em branco ou em matriz isenta do analito. Esta amostra deverá ser analisada cerca de 7 vezes.
O LDM será calculado como 3 desvios padrão. O LQ será calculado como 10 desvios padrão (3,3 LDMs).
A confirmação (segundo a EPA) é opcional e deve ser feita geralmente com Spikes no dobro da concentração do primeiro ou algo próximo.

Replicatas de Spikes	Medições	Conc. Adicion.	Conc. Inicial	Val. 1	Val. 2	Val. 3	Val. 4	Val. 5	Val. 6	Val. 7	Val. 8	Val. 9	Val. 10	Observações
Teste	0,08	0,00	0,05	0,06	0,03	0,08	0,07	0,04	0,06					n=7. Média=0.0557. DP=0.0172. LDM=0.052. LQ=0.17. %Recup.=70%
Confirmação - EPA (Opcional)	0,15	0,00	0,14	0,13	0,08	0,11	0,12	0,14	0,13					n=7. Média=0.121. DP=0.0212. LDM=0.063. LQ=0.21. F calc.=1,23 <= F Tabelado(4,28), teste aceito. LDM comb.=0.058. LQ comb.=0.19.

Notas e informações para rastreabilidade

dkkd

LDM 0.058 **LQ** 0.19

1.8 Linearidade (Linearity), Faixa de Trabalho (Work Range) e Sensibilidade (Sensibility)

Estas três propriedades podem ser obtidas através de uma curva analítica (concentração e sinal). Para se obter um valor máximo de linearidade deve-se estender a curva para faixas de concentração mais altas. Caso a concentração não seja estendida o valor do maior ponto de calibração deve ser considerado como a linearidade.

Para métodos não instrumentais o valor máximo da faixa de trabalho pode ser obtido através de outras considerações que independem da curva analítica.

Linearidade (Linearity)

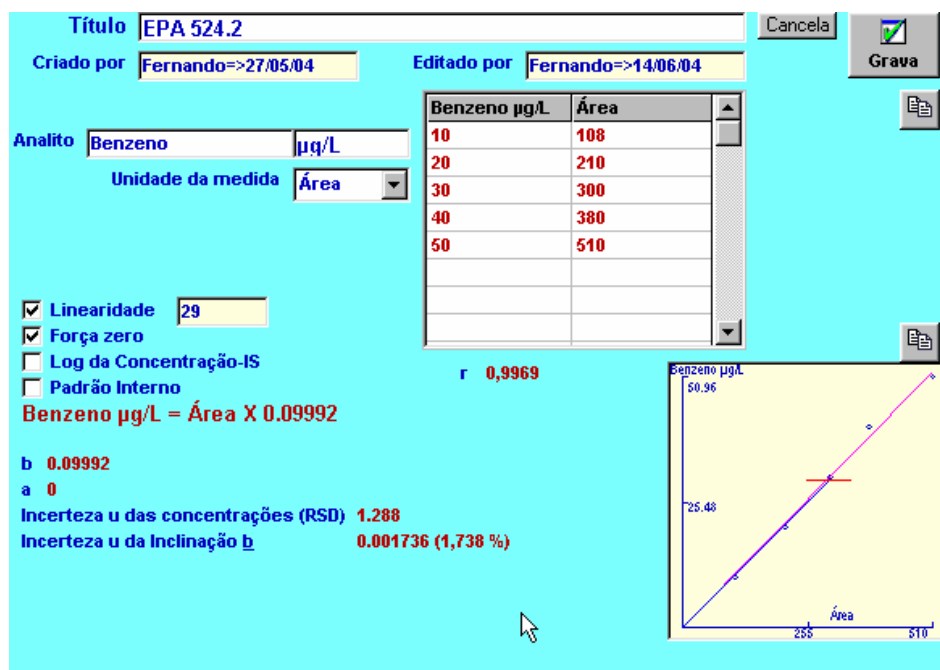
Se aplica somente a métodos instrumentais.

A forma mais simples de se definir a linearidade de um método é fazer uma curva analítica extentendo-a o tanto quanto possível e plotar em um gráfico. A região onde iniciar-se a perda de linearidade por observação visual deve ser considerado como o limite superior.

A Linearidade também pode ser definida com base em cálculos de regressão linear, fazendo testes nos últimos pontos da curva:

- O teste pode ser feito somente para mais de 3 pontos de uma curva analítica.
- Obtém-se a curva linearizada e a incerteza das concentrações (RSD), sem considerar o ponto seguinte (em teste). Por exemplo: lineariza de 1 a 3 pontos e compara com o ponto 4 ou lineariza de 1 a 4 e compara com o ponto 5.
- O valor de RSD é comparado com o resíduo do ponto seguinte, em teste, (Concentração – Concentração calculada) através do teste t:
- $t = [\text{Concentração} - \text{Concentração calculada}] \text{ do último ponto} / (\text{RSD} \times \text{Raiz}((n+1)/n))$ para testar o 5º. ponto $n=4$.

- e) O valor de t obtido é comparado com o valor de t tabelado a 95% e 2 graus de liberdade ao se testar o 5º ponto (2,92). Sendo o valor de t obtido maior que o valor de t tabelado considera-se que o ponto seguinte já foge da linearidade e uma linha vermelha é traçada no gráfico antes do ponto em teste.
- f) Caso o gráfico não apresente o traço vermelho a curva é linear em toda sua extensão. O teste não é utilizado para curvas com menos de 4 pontos.



Faixa de Trabalho (Work Range)

A faixa inicial do método normalmente é limitada pelos limites de detecção e quantificação, enquanto que a faixa final normalmente é limitada pela linearidade dos instrumentos. Quase sempre a faixa de trabalho pode ser extendida com diluições das amostras, quando aplicável.

Em métodos não instrumentais a faixa de trabalho pode ser limitada pela capacidade dos instrumentos envolvidos, como buretas, balanças, etc.

A faixa de trabalho normalmente é citada na introdução dos métodos analíticos (Exemplo, "Este método abrange teores de Ferro entre 0,1mg/L e 3,0 mg/L").

Sensibilidade (Sensibility)

Somente para métodos instrumentais.

Refere-se à relação de resposta de um instrumento dividida pela concentração do analito. Quanto maior este valor mais sensível é o método.

Deve-se evitar confundir os termos limite de detecção e sensibilidade, pois um método muito sensível pode não ter um limite de detecção muito bom. Na prática os termos não são relacionados diretamente.

A sensibilidade, quando calculada periodicamente permite verificar se um equipamento está tendo perda de resposta, normalmente indicativo de desgaste.

Sensibilidade = Coeficiente angular da curva analítica (Sinal / Concentração)

Testes Rotineiros: Deve-se escolher uma frequência diária/semanal/mensal e um valor percentual (exemplo: 10%) de tolerância de perda de sensibilidade para indicar problemas no instrumento.

1.9 Reprodutibilidade R (Reproducibility, precisão interlaboratorial ou intralaboratorial)

Diferente da Repetitividade a Reprodutibilidade é a precisão do ensaio em condições mais variadas. Idealmente obtida em um programa interlaboratorial (executado pelo mesmo método em todos os laboratórios). Havendo impossibilidade disto pode ser obtida através de um intralaboratorial, onde analistas diversos farão os testes em dias diferentes e talvez até com instrumentos diferentes.

A reprodutibilidade é a maior diferença, no nível de confiança de 95%, que pode ocorrer em resultados obtidos em condições de reprodutibilidade.

A reprodutibilidade é calculada pela combinação do desvio padrão entre participantes com o desvio padrão dos participantes. Estes dados são obtidos por análise de variâncias (ANOVA, fator único). Para mais detalhes ver o item sobre ANOVA.

Desvio Padrão de R = Raiz ($DP \text{ entre participantes}^2 + DP \text{ dos participantes}^2$)

$R = \text{Desvio Padrão de R} \times k$ (k geralmente é 2,772 para 95% de confiança)

Geralmente é feito em uma única faixa de concentração, mas pode ser feito em várias.

Para interlaboratorial ao invés de analistas se usarão laboratórios com supervisões independentes.

Utilidade

O objetivo da reprodutibilidade é definir limites de aceitação de duplicatas feitas nas mesmas condições do teste de reprodutibilidade. Exemplo, quanto se aceita de diferença entre análises feitas por analistas diferentes ou por laboratórios diferentes? Que influência isto pode ter quando um cliente compara nossos resultados com limites ou especificações?

Execução

Geralmente cada analista ou laboratório faz entre 4 e 7 replicatas e se avalia a precisão e a exatidão de cada participante após eliminar-se resultados muito imprecisos ou muito inexatos e se faz o cálculo de reprodutibilidade. Os testes podem ser feitos em uma ou mais faixas de concentração.

Cálculos

- Obtém-se a média de cada participante, a média das médias e o desvio padrão destas médias.
- Com base no teste de Grubbs eliminar dos cálculos seguintes os participantes com valores de Grubbs para suas médias " $(\text{Média do participante} - \text{Média dos participantes}) / \text{Desvio padrão das médias}$ ", maiores que o valor tabelado.
- Realizam-se os cálculos descritos no item ANOVA e obter DP Entre participantes e DP dos participantes.
- Calcula-se o desvio padrão de Reprodutibilidade $DP \text{ R} = \text{Raiz} (DP \text{ Entre participantes}^2 + DP \text{ dos participantes}^2)$.
- Calcula-se o valor de Reprodutibilidade $R = DP \text{ R} \times 2,772$
- Calcula-se o valor de F de cada participante e compara-se com o valor de F tabelado. $F = DP \text{ do participante}^2 / DP \text{ Entre participantes}^2$. O valor de F tabelado deve ser procurado na tabela de 95% ($\alpha=0,05$) onde graus de liberdade do numerador = $N^\circ \text{ replicatas} - 1$ e graus de liberdade do denominador = $N^\circ \text{ participantes} - 1$. Se o valor de F for maior que o tabelado a precisão do participante é considerada ruim.
- Calcula-se o valor de t de cada participante e compara-se com o valor de t tabelado (a 95% com graus de liberdade = $N^\circ \text{ de participantes} - 1$). $t = (\text{Média do participante} - \text{Média das médias}) / (DP \text{ dos Participantes} \times \text{Raiz} (N^\circ \text{ Participantes}))$. Se o valor de t for maior que o tabelado o participante tem exatidão considerada ruim.
- Calcula-se o valor de Z-Score de cada participante: $Z = (\text{Média do Participante} - \text{Média das médias}) / DP \text{ Participantes}$. Os valores absolutos de Z maiores que 2 indicam advertência, enquanto valores absolutos de Z maiores que 3 indicam exatidão ruim do participante.

Método	EPA 524.2	Analito	Benzeno
Unidade	µg/L	Editado por	=>29/05/04
Descrição do Teste	Intralaboratorial	Período	12/05/04 a 13/05/04

Recomendações

A reprodutibilidade é a maior diferença, no nível de confiança de 95%, que pode ocorrer em resultados obtidos em condições de reprodutibilidade. É a combinação dos desvios padrão (repetitividades) dos participantes com o desvio padrão entre as médias dos participantes. Digite os dados de cada participante, sendo um participante por linha. Será calculada a média de cada participante e seu desvio padrão. O Teste de Grubbs eliminará da média final os participantes com valores extremos.

Teste	Analista	Res. 1	Res. 2	Res. 3	Res. 4	Res. 5	Res. 6	Res. 7	Média	Dsv. Pd.	F	t	Z-Score	Observações
1	Fernando	10,2	9,9	9,5	11,0	9,5			10,02	0,6221	0,88	0,32	0,63	
2	Carlos	9,0	5,2	6,5	7,4	6,2			6,860	1,431	4,65	2,06	-4,13	Outlier
3	José	9,8	10,0	9,0	8,8	9,5			9,420	0,5118	0,59	0,14	-0,27	
4	Antônio	9,0	8,8	10,2	10,5	9,5			9,600	0,7382	1,24	0,00	0,00	
5	Mary	10,0	11,0	9,0	9,5	10,2			9,940	0,7536	1,29	0,26	0,51	

Valor de Referência 9,600 **Mediana**

Média s/ Outliers=9,745; Mediana=9,600

Desvio Padrão alvo para cálculos de F, t e Z-Score 0,664 **DP Dentre**

DP dos Partic.=0,664; DP entre Partic.=0,283; Holwitz=2,14; F Tab.=6,39; t Tab.=2,78

Notas e informações para rastreabilidade

Reprodutibilidade

Intralaboratorial (5 partic.)
Conc.=9,745; DP=0,722; Limite de R=2.

Valor de k para cálculo de limite de repetitividade

☒ k=2,772 (1,96 * raiz(2)). Distr. normal a 95% para duplic.
☐ k=(t 95%) X raiz(1+1/n)

Análise ANOVA com fator único e dados agrupados em linhas

Em linhas: Replicatas

Em colunas: Participantes. Para intralaboratoriais, Analistas. Para interlaboratoriais Laboratórios. Para Teste de Homogeneidade Data.

MQ dentro: É a média das variâncias (soma das variâncias dos participantes / número de participantes)

DP dentro: É o desvio padrão médio dos participantes (raiz de MQ dentro)

MQ entre: É a variâncias das médias dos participantes.

DP entre: É o desvio padrão entre participantes = Raiz((MQ entre – MQ dentro)/número de replicatas)

Para saber se os participantes têm variância semelhante (ou se as execuções são homogêneas) calcula-se $F = \text{MQ entre} / \text{MQ dentro}$ que deve ser menor ou igual ao valor de F tabelado (F 95%, GL entre, GL dentro), onde GL entre = N° participantes – 1 e GL dentro = N° participantes X (N° replicatas – 1).

Com fazer ANOVA em Excel

As ferramentas de análises de dados deverão estar instaladas.

No menu “Ferramentas” escolha “Análise de Dados” e “ANOVA: Fator único”.

Selecione os dados (somente os números) com replicatas em colunas e um participante por linha.

Escolha “Dados agrupados por” “Linhas”

Alfa: 0,05

OK.

Serão dados os valores de MQ entre e MQ dentro. Com base nestes valores calcule DP entre e DP dentro, conforme mostrado acima.

1.10 Exatidão (Accuracy)

A exatidão visa verificar o quanto os resultados obtidos são próximos dos reais ao se analisar amostras com valores conhecidos. Cada amostra geralmente é analisada 1 a 3 vezes e a média obtida é avaliada.

Geralmente não há um teste inicial de exatidão, mas sim um acompanhamento rotineiro de 2 formas principais:

- Controle da Qualidade Interno através da análise rotineira de Spikes, Amostras/Formulações feitas em laboratórios ou de Materiais de Referência, geralmente a cada 20 amostras rotineiramente analisadas. Para indústrias, em frequência diária/semanal/mensal de modo equivalente a aproximadamente "a cada 20 amostras".
- Participação em Interlaboratoriais, geralmente 1 a 2 vezes por ano para cada ensaio;

A exatidão é avaliada com base no Z-Score (índice-Z):

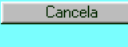
$$z = (x - x_D) / \sigma$$

Onde	
x	Resultado médio (ou único) obtido no teste
x _D	Valor designado
σ	Desvio padrão alvo

A interpretação do índice z é baseada na propriedade do desvio padrão normal. Cerca de 5% dos resultados deverão situar-se fora do limite de ±2, e apenas cerca de 0,3% dos resultados deverão situar-se fora do limite de ±3. A classificação que segue é aplicada:

z ≤ 2	Resultado satisfatório
2 < z < 3	Resultado questionável (Advertência)
z ≥ 3	Resultado não satisfatório

Interlaboratoriais: Os resultados de interlaboratoriais normalmente são avaliados com base nos valores de Z-Score, embora outras avaliações como Elipse e Erros normalizados possam complementar. O valor designado pode ser a média de todos os participantes (sem outliers), a mediana, o valor de formulação ou outro valor confiável. O desvio padrão alvo pode ser o desvio padrão dos participantes (sem outliers), a Amplitude Interquartil Normalizada, o valor de Holwitz ou outro valor confiável. Estes resultados podem ser lançados neste software na parte de exatidão, como forma de ter-se um acompanhamento sistemático.

Método	EPA 524.2	Análito	Benzeno		
Unidade	µg/L	Criado por	Fernando=>04/06/04	Editado por	Fernando=>04/06/04
Tipo de Testes	Formulação por Adição (Spike)	Período			

Recomendações

A exatidão visa verificar o quanto os resultados são próximos dos reais ao se analisar amostras com valores conhecidos. As amostras geralmente devem ser analisadas 1 a 3 vezes.

Para produtos técnicos diluídos, pode-se utilizar um produto com teor definido (analisado ao menos em duplicata) ao qual se adiciona uma quantidade de produto puro de preferência equivalente à existente. O valor de Desvio Padrão de repetitividade deverá ser utilizado como desvio padrão alvo.

O valor de Desvio Padrão de repetitividade deverá ser utilizado como desvio padrão alvo.

Exemplo de produto diluído em massa por massa: a 50g de produto a 5,10% (média de análise em duplicata) se adiciona 2,5g de produto a 99% (Adição de 4,95%). Teor Total = ((50gX5,10%) + (2,5gX99%))/52,5g = 9,571%. Teor adicionado = 4,95%. Resultado = (Teor obtidoX52,5/50 - 5,10).

Exemplo de produto diluído em massa por volume: Em uma proveta de 1,0L com 0,500L de produto a 52,2g/L (média de análise em duplicata) se adiciona 25g de produto a 99% (Adição de 49,5g/L) e mede-se o volume final igual a 0,520L. Teor Total = ((0,5LX52,2g/L) + (25gX99/100))/0,520L = 97,79g/L. Teor

Repetitividade: Desvio Padrão = Concentração X 0.0764 - 0.420

Teste	Origem do material	Data	Val. Refer.	DP Alvo	Res. 1	Res. 2	Res. 3	Média	Erro	Z-Score	Obs.
1	CAEAL	12/01/04	78,5	2,0	78,2	78,2	77,8	78,07	-0.433	-0,22	Aceitável
2	CAEAL	14/06/04	2,22	0,3	1,8	1,7	1,3	1.600	-0.620	-2,07*	Advertência
3											
4											
5											

Notas e informações para rastreabilidade

Exatidão

CAEAL em 12/01/04: Z-Score=-0,22(Aceitável)
CAEAL em 14/06/04: Z-Score=-2,07*(Advertência)

1.11 Comparativo de Métodos diferentes com amostras diferentes

Estes testes geralmente quando se quer comparar um método em uso com um novo método ou um aparelho antigo com um novo aparelho.

Estes testes podem ser executados na rotina diária. Basta que cada amostra recebida para análise seja feita simultaneamente pelos 02 métodos que se quer comparar no decorrer de alguns dias ou mais. Recomendado pelo menos 07 vezes.

O exemplo que segue foi feito com amostras com teores semelhantes. Uma vez que o teste é baseado em diferenças, amostras com teores variados também servem para este teste.

Amostra	Teor de Fosfato em água pelo método A	Teor de Fosfato em água pelo Método B	Diferença
AA	0,97	0,92	0,05
BB	0,98	0,94	0,04
CC	0,96	0,90	0,06
DD	1,02	0,96	0,06
EE	0,97	0,90	0,07

Média das diferenças: 0,056

Desvio padrão (n-1) das diferenças: 0,011

t(5 replicatas): 2,776

Varição da diferença a 95%: $2,776 \times 0,011 / \sqrt{5} =$ mais ou menos 0,014 ppm

A diferença entre os resultados é de 0,056 mais ou menos 0,014ppm, ou seja, a diferença pode variar de 0,042 a 0,07, que não inclui o zero, logo os métodos são diferentes (levam a resultados sistematicamente diferentes).

Se a diferença incluísse o valor zero (ou seja variasse de um valor negativo a um valor positivo) os métodos poderiam ser considerados equivalentes.

1.12 Especificidade/Seletividade ou Identificação

Identificação

Identificação aplica-se somente a métodos onde haja alguma dúvida se o composto analisado é realmente o que o método promete analisar. Em cromatografia podem ocorrer coeluições, em métodos espectrofotométricos outros compostos podem absorver radiação no comprimento de onda utilizado, etc. A necessidade do teste é mais comum em fármacos, onde a certeza de que o composto presente é realmente o que o método detecta tem importância crítica. A identificação pode ser feita por métodos como infra-vermelho, espectrometria de massas, etc. O registro consiste nos dados deste trabalho de pesquisa.

Especificidade/Seletividade

Os testes de Seletividade/Especificidade Permitem testar interferências, ou seja, avaliar se um método detecta somente o analito desejado ou se pode sofrer interferências da matriz ou de outras impurezas. Basicamente as análises são feitas em duas séries:

- Na condição padrão (matriz limpa e sem interferentes).
- Na condição problema (matriz problema ou presença do interferente). As duas séries são comparadas quanto a precisão e exatidão definindo-se se há real interferência.

Diversos métodos oficiais (Exemplo Standard Methods da APHA e ASTM) já sofreram este tipo de teste e vêm com indicação de interferentes e a partir de que concentração interferem, dispensando testes de Especificidade/Seletividade.

O tratamento estatístico utilizado é a "Comparação de duas médias".

O teste F verifica se as variâncias dos 2 testes são compatíveis.

Um comparativo pelo Teste t (considerando a média na condição padrão como referência) indica se os resultados são compatíveis nas duas condições. A forma de fazer o teste t depende das variâncias serem compatíveis ou não. O ideal é que se faça em um nível de concentração relativamente baixa da analito de modo que as interferências e outros problemas sejam mais facilmente detectáveis.

Execução

5 a 10 Replicatas de Spikes em condição Padrão (exemplo, água destilada)

5 a 10 Replicatas de Spikes em condição Problema (exemplos, água bruta ou água contendo um possível interferente).

Cálculos

Considerando Pad. = Condição Padrão e Prob. = Condição Problema e que foram feitas 7 replicatas de cada teste.

Análise de variâncias

$F = \text{Variância Prob.} / \text{Variância Pad.}$ Comparar com F Tabelado a 95% (0,05) com 6 graus de liberdade do numerador e 6 graus de liberdade do denominador. Se o valor de F calculado for maior que o de F Tabelado as variâncias são compatíveis.

Se as variâncias são compatíveis (caso mais comum)

Calcula-se a média e o desvio padrão de cada teste (Padrão e Problema).

Calcula-se o Desvio Padrão combinado (Pooled): $(6 \times DP \text{ Prob.}^2 + 6 \times DP \text{ Pad.}^2) / (6 + 6)$.

Calcula-se o valor de t entre os testes: $t = (\text{Média Pad.} - \text{Média Prob.}) / (DP \text{ Comb.} \times \text{Raiz}(1/7 + 1/7))$. Se o valor de t for negativo inverter o sinal.

Obtém-se o valor de t tabelado (t a 95%, com 6 graus de liberdade). Se o valor de t calculado for maior que o de t tabelado o método não é específico/seletivo na condição problema (interferências).

Se as variâncias são incompatíveis

Quando as variâncias diferem o cálculo de t deve levar em conta os graus de liberdade efetivos.

Calcula-se a média e o desvio padrão de cada teste (Padrão e Problema).

Acompanhamento Rotineiro de Especificidade/Seletividade: Se há suspeita de que as amostras possam ter interferentes deve-se ter uma frequência de análise de amostras com Spikes (Spikes de Amostras) geralmente a cada 20 amostras e estas podem ser acompanhadas em cartas de controle de média da mesma forma que em exatidão.

Método	EPA 524.2	Análito	Benzeno
Unidade	µg/L	Editado por	Fernando=>02/06/04
Criado por	Fernando=>02/06/04	Período	12/06/04 a 13/06/04
Descrição do Teste	Interferência de Efluente X		

Recomendações

O comparativo de 2 séries de resultados serve para se verificar 'seletividade/especificidade (interferências)', 'Robustez' e 'Comparar Métodos'.
O ensaio deve ser repetido em uma condição 'Padrão (A)' e em uma condição 'Em teste (B)'. A condição de Teste pode ser na presença de interferente (ou de matriz problema) ou 'com o método sendo executado em condição fora de padrão' ou 'com um método diferente'.
Este comparativo avalia diferenças de variância (precisão) e de exatidão. Recomendado ao menos 07 resultados em cada série.

Teste	Condição - A	Condição - B	Observações
1	1,08	1,15	
2	1,07	1,14	
3	1,06	1,15	
4	1,07	1,13	
5	1,08	1,14	
6	1,09	1,12	
7	1,10	1,11	

Tipo Seletividade

Condição - A Em água ultra-pura
Média=1.078; DP=0.0134; n=7

Condição - B Em Efluente X
Média=1.134; DP=0.0151; n=7

F Calc.=1,26 F Tab.=4,28 => Variâncias semelhantes
DP Combinado (Pooled)=0.0143
t Calc.=7,28 t Tab.=2,20 => Resultados diferentes

Resultado
Interferência de Efluente X=Precisões semelhantes; Resultados diferentes

Notas e informações para rastreabilidade

1.13 Robustez

A robustez procura avaliar se um método pode fornecer bons resultados mesmo quando não é implementado por completo. Implementar por completo significa analistas treinados aparelhos adequados e funcionando perfeitamente, etc.

Pode-se imaginar diversas situações possíveis e testar contra uma situação padrão (analista treinado e experiente, aparelhos funcionando perfeitamente, etc.).

Exemplos de situação problema: Analista realizando o ensaio pela primeira vez, Placa de aquecimento com 50°C abaixo do esperado, placa de aquecimento inadequada, deixar de adicionar um reagente que elimina um interferente, amostra medida com pipeta graduada ao invés de volumétrica, etc.

O tratamento estatístico é o mesmo utilizado em seletividade/especificidade.

Um método de desenvolvimento interno ou de literatura é mais sujeito a falta de robustez (não necessariamente) que um método oficial largamente utilizado e testado.

Não há um acompanhamento rotineiro de robustez, mas apenas testes feitos ao iniciar-se o uso do método ou quando se suspeita de problemas.

1.14 Linearizações de Curvas Analíticas e suas respectivas incertezas

Informações básicas

No software LABWIN, nas telas onde isto se aplica, são feitas automaticamente à medida que os valores são digitados. O uso de zero forçado é opcional. Quando não se usa zero forçado a linearização apresentará 02 incertezas (do coeficiente **a** e do coeficiente **b**), enquanto que forçando-se o zero se terá apenas a incerteza do coeficiente **b** (inclinação). Desta forma é recomendado o uso de zero forçado sempre que for viável para ter-se uma menor incerteza no método analítico ao final.

A linearização, através das técnicas de mínimos quadrados, visa obter uma equação de primeiro grau ($y = bx + a$ ou **Concentração = Medida * b + a**) que melhor defina as séries de pontos de medida e de concentração. O coeficiente **b** é chamado de inclinação e o coeficiente **a** é chamado de intercepto (do eixo das concentrações).

Na química analítica o mais comum é que as curvas interceptem o zero, ou seja o coeficiente **a** seja zero. Mesmo que em grande parte das vezes o valor de **a** calculado não seja zero, o intervalo de confiança de **a** inclui o zero, sugerindo que trabalhar com equações de linearização com zero forçado seja mais vantajoso. A vantagem do uso de uma equação do tipo $y = bx$ é que tem-se apenas a incerteza do coeficiente **b**, o que geralmente resulta em menor incerteza total para o ensaio.

O cálculo do coeficiente **a** e de seu intervalo de confiança, e a demonstração das incertezas dos cálculos com e sem o forçar de zero certamente mostra que a maior parte das equações em química analítica devem ser usadas com zero forçado. No software LABWIN – Incertezas fazer esta comparação é muito fácil, bastando clicar na opção “Forçar Zero”.

As situações em que é necessário o uso do coeficiente **a** (intercepto do eixo das concentrações) normalmente indicam anormalidades nos métodos. Valores de **a** positivos normalmente indicam contaminações do processo (contaminações de reagentes, ruído de fundo anormal, etc.) e valores de **a** negativos normalmente indicam interferentes por reações com o analito (consumo do analito por reações paralelas, adsorção de compostos em colunas cromatográficas, etc.). Os ensaios com curvas que usam o intercepto (coeficiente **a**) apresentam um componente **a** mais de incerteza que é a incerteza do coeficiente **a**.

O Coeficiente de correlação (**r**) indica o quanto as séries de **x** e **y** estão relacionadas. Valores de **r** próximos de 1 indicam boa curva de calibração analítica. Normalmente para métodos em níveis de ppm ou porcentagem os valores de **r** são superiores a 0,99. Em métodos para níveis de ppb ou ppt os valores de **r** costumam ser acima de 0,98. A observação das curvas analíticas e experiência prática podem definir valores mínimos de **r** adequados a cada método analítico. Ter um valor mínimo de **r** como referência pode servir como base para se considerar uma calibração como inválida ou para eliminar-se algum ponto que fuja muito da reta linearizada.

Incertezas da Linearização

Incerteza da concentração (y): Uma estimativa da incerteza associada aos valores de concentração (**y**) calculados com base na equação definida é feita com base na soma dos quadrados das diferenças entre cada valor de **y** calculado e **y** real ($\sum (y_{\text{calc.}} - y_{\text{real}})^2$). O valor de incerteza de **y** é equivalente a um desvio padrão (n-1) nos resultados. O intervalo de confiança de **y** (concentração) pode ser calculado com o valor de **t**(n-2). **Intervalo de confiança da concentração = Concentração $\pm t(n-2) * (\text{incerteza de } y)$** , onde **t** é o valor de **t**(n-2) na tabela bilateral.

Obs.: Para curvas com zero forçado usa-se **t(n-1).**

Incerteza da inclinação (b): Uma estimativa da incerteza associada ao valor do coeficiente **b** (inclinação) calculado é feita com base na soma dos quadrados das diferenças entre cada valor de **y** calculado e **y** real ($\sum (y_{\text{calc.}} - y_{\text{real}})^2$) e na soma dos valores de **x**. O valor de incerteza de **b** é equivalente a um desvio padrão (n-1) no valor de **b**. O intervalo de confiança de **y** (concentração) pode ser calculado com o valor de **t**(n-2). **Intervalo de confiança da inclinação = Concentração $\pm t(n-2) * (\text{incerteza de } b)$** , onde **t** é o valor de **t**(n-2) na tabela bilateral.

Incerteza do intercepto (a) : A incerteza do valor de **a** (intercepto) também é útil para se definir se vale a pena manter seu valor ou fazer a linearização com zero forçado. A incerteza de **a** também equivale a um desvio padrão no valor de **a**. Para saber se o intervalo de confiança de **a** inclui o zero utiliza-se o valor de **t** para o número de pontos de calibração, ou seja, o **intervalo de confiança de **a** = **a** $\pm t(n-2) * (\text{incerteza de } a)$** , onde **t** é o valor de **t**(n-2) na tabela bilateral. Se o intervalo de confiança de **a** inclui o zero, na maioria das vezes a equação deveria ser recalculada com zero forçado.

1.15 Equações de Linearização sem forçar o zero

$$b = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$a = \frac{(\sum y)(\sum x^2) - (\sum x)(\sum xy)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

RSD (Residue Standard Deviation) ou Incerteza das concentrações calculadas = raiz $(\sum (y_{\text{calc.}} - y_{\text{real}})^2 / (n-2))$

Incerteza de b (Coef. angular) = RSD/raiz $(\sum (x - x_{\text{médio}}))$

Incerteza de a (intercepto) = RSD * raiz $((1/(n-2)) + ((x_{\text{médio}})^2 / \sum (x - x_{\text{médio}})))$

1.16 Equações de linearização forçando o zero

$$b = \sum xy / \sum x^2$$

RSD (Residue Standard Deviation) ou Incerteza das concentrações calculadas = raiz $(\sum (y_{\text{calc.}} - y_{\text{real}})^2 / (n-1))$

Incerteza de b (coeficiente angular) = RSD/raiz $(\sum x^2)$

Coeficiente de Correlação

$$r = \frac{n \sum (xy) - (\sum x \sum y)}{\text{raiz}((n \sum y^2 - \sum y \sum y) * (n \sum x^2 - \sum x \sum x))}$$

1.17 Tabela de “t” de Students Unilateral a 99% (uso em LD e LQ)

Número de replicatas	“t” de Students Unilateral (para 99%)
2	31,821
3	6,965
4	4,541
5	3,747
6	3,365
7	3,143
8	2,998
9	2,896
10	2,821
11	2,764
12	2,718
16	2,602
61	2,390

1.18 Tabela de “t” de Students bilateral a 95% (uso para eliminação de “Outliers”, cálculos de limites de confiança, etc.)

Número de replicatas	“t” de Students Bilateral (para 95%)
2	12,706
3	4,303
4	3,182
5	2,776
6	2,571
7	2,447
8	2,365
9	2,306
10	2,262
11	2,228
12	2,201
20	2,093
41	2,021

1.19 Eliminação de Outliers (valores extremos) pelo teste de Grubbs

O objetivo do teste é eliminar outliers (valores extremos), ou seja, números que não fazem parte de uma série de resultados.

n	Valor Crítico a 95% de confiança
3	1,155
4	1,481
5	1,715
6	1,887
7	2,020
8	2,126
9	2,215
10	2,290
15	2,549
20	2,709
30	2,908
40	3,036

Se um resultado é suspeito calcule o valor de Gc

n	número de resultados
M	Média dos resultados
DP	Desvio padrão dos resultados
R	Resultado suspeito
Gc	$G \text{ calculado} = \text{Absoluto}((R - M) / DP)$
Gt	G tabelado
Teste	Se $Gc > Gt$ então o valor é um outlier

2 Demonstração contínua de Competência (DCC)

Também conhecido como:

- a) Amostras de Controle do Laboratório;
- b) Padrões de Controle do Laboratório;
- c) Spikes de Branco do Laboratório.

É usado para garantir que o Laboratório continua sob controle durante o período em que as amostras são analisadas. Define a performance do laboratório, diferenciando da performance do Laboratório para amostras/matrizes. De preferência obtenha estas amostras de fontes externas diferentes das que fornecem os padrões. Analise estas amostras ao menos trimestralmente.

2.1 Controles da Qualidade Analítica Rotineiros

PROVA EM BRANCO (B)

No mínimo inclua a cada batelada ou a cada 20 amostras, o que for mais freqüente. Analise o branco após a calibração diária e após amostras muito contaminadas se houver suspeita de contaminação de amostras por arraste (carryover). Geralmente os resultados são suspeitos se o resultado do branco está acima do LQM e as amostras devem ser re-preparadas.

Se o branco foi maior que o LQM são necessárias “ações corretivas”.

SPIKE DE BRANCO (SB)

Usado para avaliar o desempenho do laboratório e recuperação do analito em matrizes limpas. No mínimo a cada 20 amostras ou por batelada, o que for mais freqüente. Deve ser em uma concentração entre 10 LDMs e o meio da curva de calibração ou outro valor especificado no método. O preparo deve ser com padrão de origem diferente do padrão usado na calibração. O SB deve ser avaliado pela %Recuperação. Se fora de controle tome ações corretivas, como re-preparo e re-análise de amostras. Use cartas de controle.

SPIKE DE AMOSTRAS (SA)

Adições de padrão feitas antes do preparo das amostras. No mínimo a cada 20 amostras ou por batelada, o que for mais freqüente. Deve ser em uma concentração entre 10 LDMs e o meio da curva de calibração ou outro valor especificado no método. De preferência use o mesmo valor do SB a fim de poder diferenciar o desempenho do laboratório dos efeitos de matriz. O preparo deve ser com padrão de origem diferente do padrão usado na calibração. Faça as adições de modo que os teores existentes nas amostras não interfiram de forma adversa nos resultados. Por exemplo, se as amostras contêm o analito de interesse, ajuste a adição para a mesma concentração. Avalie os resultados pela exatidão ou %Recuperação. Se fora de controle tome ações corretivas como retificar o efeito da matriz, ou usar outro método, ou usar o método de adição de padrão. Veja os critérios de aceitação no método, se houver, até que o laboratório desenvolva seus próprios critérios. Tome como base para aceitação de batelada o SB e não o SA, uma vez que a matriz pode afetar de forma adversa os resultados.

DUPLICATA DE SPIKE OU DUPLICATA DE AMOSTRA (DS ou DA)

Se a amostra não contém o analito o mais comum é Duplicata de Spike. No mínimo a cada 20 amostras ou por batelada. Devem ser avaliadas para repetitividade e exatidão (apenas para repetitividade em duplicatas de amostras). O preparo deve ser com padrão de origem diferente do padrão usado na calibração. Faça as adições de modo que os teores existentes nas amostras não interfiram de forma adversa nos resultados. Por exemplo, se as amostras contêm o analito de interesse, ajuste a adição para a mesma concentração. Se fora de controle tome ações corretivas como retificar o efeito da matriz, ou usar outro método, ou usar o método de adição de padrão. Veja os critérios de aceitação no método, se houver, até que o laboratório desenvolva seus próprios critérios. Tome como base para aceitação de batelada o SB e não o DS ou DA, uma vez que a matriz pode afetar de forma adversa os resultados.

PADRÃO INTERNO

Usado em análise orgânica. São compostos adicionados nas amostras e que se assemelham aos compostos analisados e não causem interferências. Os resultados são calculados com base em suas quantidades adicionadas. Devem ter tempo de retenção e espectros diferentes dos analitos e eluir em uma área representativa do cromatograma. Se não se usa Surrogate o padrão interno é adicionado na amostra preparada para análise (para poder avaliar com precisão o Surrogate), do contrário é adicionado na amostra antes do preparo.

(SURROGATE) PADRÃO DE CONTROLE

Usado em análise orgânica. São compostos adicionados nas amostras e que se assemelham aos compostos analisados e não causem interferências. Devem ser compostos incomuns na natureza (geralmente fluorados e deuterados) e são sempre adicionados na amostra antes do preparo para poder monitorar todas as perdas dos processos (extrações, etc.). Se os valores obtidos para o Surrogate estão fora de controle, tome ações corretivas, como re-preparo e re-análise das amostras quando requerido.

2.2 Calibração

- a) **Calibração de Instrumento e Manutenção:** Conforme Manual;
- b) **Calibração Inicial:** Mínimo de 3 pontos para curvas lineares e mínimo de 5 pontos para curvas não lineares. O menor valor deve ser próximo do LQM e o maior valor no final da faixa de calibração. Evite diferenças de mais de duas vezes entre as concentrações. As curvas podem ser “Linear pela origem”, “Linear fora da origem”, ou “Não Linear (passando ou não pela origem)”. Se fatores de Resposta são usados os valores de %CV calculados devem ser menores que os especificados nos métodos e a sensibilidade deve ser verificada também (em GC/MS por exemplo). Se o coeficiente de correlação não for especificado um valor de no mínimo 0,995 é recomendado.
- c) **Verificação de Calibração:** Analisando um padrão próximo do meio da curva de calibração. A frequência deve ser baseada em tempo (por exemplo, a cada 12 horas) ou pelo número de amostras analisadas (por exemplo, a cada 10 amostras).

2.3 Cálculos de CQA

a) Calibração Inicial

A = Área, C= Concentração.

FRR (Fator de resposta relativa para padrão interno para o composto x) = $(A_x / A_{pi}) \times (C_{pi} / C_x)$

FR (Fator de resposta para padrão externo) = A_x / C_x

FC (Fator de calibração) = Área do padrão / Massa injetada

%CV = Desvio padrão X 100 / Média.

b) Verificação de calibração

%D (% Diferença do FR) = $(FR \text{ médio inicial} - FR \text{ médio da verificação}) \times 100 / FR \text{ médio Inicial}$

%D (% Diferença para valores) = $(Valor \text{ verdadeiro} - Valor \text{ achado}) \times 100 / Valor \text{ verdadeiro}$.

%Recuperação = $Valor \text{ achado} \times 100 / Valor \text{ verdadeiro}$

c) Spike de branco (Amostra de Controle do Laboratório) (SB)

%Recuperação = $Valor \text{ achado} \times 100 / Valor \text{ verdadeiro}$

d) Surrogate

%Recuperação = $Valor \text{ achado} \times 100 / Valor \text{ verdadeiro}$

e) Spike de Amostra (SA)

% Recuperação = $(Resultado \text{ do Spike} - Resultado \text{ da Amostra}) \times 100 / Concentração \text{ adicionada}$

f) Duplicata de Amostra

DRP (Diferença Relativa Percentual) = $(Result. \text{ da amostra} - Result. \text{ da Duplicata}) \times 100 / média$

g) Método de Adição de Padrão (para corrigir interferência de matriz)

Concentração = $(Sinal \text{ da amostra} \times Volume \text{ de padrão adicionado} \times Conc. \text{ do Padrão}) / ((Sinal \text{ da amostra com padrão} - Sinal \text{ da amostra}) \times Volume \text{ de amostra inicial})$

2.4 Cartas de Controle

São essenciais para um controle de qualidade e os sistemas computadorizados podem ser uma alternativa para o controle.

Cartas de Exatidão ou de média: Usada para Provas em Branco, Padrões de Controle Laboratório, Padrões de Verificação de Calibração, Spikes de Branco, Spikes de Amostra e Surrogates.

Linha Central: Média

Limites de Advertência: ± 2 desvios padrão (incluem 95% dos resultados)

Limites de Controle: ± 3 desvios padrão (incluem 99% dos resultados)

Pode-se usar valores absolutos para valor fixo de Concentração ou relativos se a concentração varia.

Cartas de Amplitude: Usam %CV para replicatas ou Diferença Relativa Percentual (DRP) para duplicatas.

Linha Central para duplicatas: 1,128CV

Linha de Advertência para Duplicatas: $1,128CV + (2/3) (3,267CV - 1,128CV) = 2,554CV$ (inclui 95% dos resultados)

Linha de Controle para duplicatas: 3,267CV (inclui 99% dos resultados).

Para análises de controles em concentração fixa as cartas de amplitude podem ser bem simples e feitas como descrito acima.

Para concentrações variáveis, mais comumente se traçam curvas de Limites de Controle em função da concentração e lançam-se os resultados em tabelas como abaixo:

>LC				25			
<LC			18				
<LA	3	5			6	7	3
Data	01/04	02/04	04/04	05/04	06/04	10/04	12/04

Análise de Cartas de Média

Segundo “Standard Methods (APHA)”:

- Limite de Controle: Se excede o LC re-analise imediatamente. Se se mantém dentro do LC continue as análises. Se não descontinue e corrija o problema.
- Limites de Advertência: Se dois de três pontos sucessivos excedem o LA, analise outro CQ. Se estiver abaixo de LA continue as análises. Se não, avalie a tendência potencial e corrija o problema.
- 1 desvio padrão: Se 4 de 5 pontos sucessivos excedem 1 desvio padrão ou estão em ordem sempre crescente ou decrescente analise outro CQ. Se este ponto muda a ordem ou está abaixo de 1 desvio padrão continue as análises. Se não pare as análises e corrija o problema.
- Tendências: Se 7 CQs sucessivos estão sempre acima ou abaixo da linha central interrompa as análises e corrija o problema.

Segundo regras gerais de cartas de controle (mais usadas industrialmente)

- Qualquer ponto acima dos limites de controle.
- Sete pontos seguidos acima ou abaixo da média.
- Sete oscilações para cima e abaixo da média.
- Sete pontos seguidos crescendo ou decrescendo.
- 14 pontos alternando subidas e descidas.
- 15 pontos na região de média e 1 desvio padrão
- 2 pontos seguidos nos limites de advertência.

Uma outra utilidade das cartas de controle é mostra melhorias na precisão do método. Se raros pontos excedem os LAs, recalcule os Limites com base nos últimos 10 ou 20 pontos. Tendências indicam erros sistemáticos.

2.5 Avaliação de QC para amostras pequenas

Amostras de pequenos tamanhos como Brancos de Campo e Amostras em duplicatas podem não ser adequados para QC com cartas de controle.

2.6 Ações Corretivas

Quando necessário tome imediatamente ações corretivas para corrigir e eliminar fontes de erros. Não relate os resultados até que as causas de erros tenham sido identificadas e corrigidas ou Identificadas ou “Qualificadas”. “Qualificar” significa relatar os resultados junto com observações sobre alguma irregularidade. “Qualificar” os resultados não elimina a necessidade ações corretivas, mas permite relatar os resultados quando não é possível ou prático re-analisar as amostras.

Mantenha registros de ações corretivas e eventos fora de controle. O objetivo de ações corretivas não é apenas eliminar causas, mas também evitar repetições futuras.

As ações corretivas começam com os Analistas que comunicam os eventos fora de controle aos Supervisores. Tais eventos incluem: Pontos fora de Controle em Cartas, Perdas de tempo excessivas, perdas de amostras, mal-funcionamento de equipamentos e evidências de contaminações de amostras.

Ações corretivas recomendadas quando os QC são inaceitáveis:

- a) Verificar dados para erros de cálculos e transcrição;
- b) Verificar cumprimento dos procedimentos de preparo e análise;
- c) Verificar padrões de calibração contra padrões independentes;
- d) Se o SB falha re-analise outro SB;
- e) Se o segundo SB falha analise um material independente e se for aceitável re-prepare e re-analise as amostras afetadas.
- f) Se um SA falha cheque o SB. Se o SB é aceitável, “qualifique” o resultado da Amostra usada ou analise por outro método ou por adição de padrão.
- g) Se o SA e o respectivo SB falham re-prepare e re-analise as amostras.
- h) Se o Branco falha, re-analise o branco.
- i) Se o segundo Branco falha re-prepare e re-analise as amostras.
- j) Se o Surrogate ou Padrão Interno falham e não há registros de erros de cálculos, re-prepare e re-analise as amostras

3 Referências Bibliográficas

- 1) Oliveira, Fernando Mota: **Guia do Usuário do Software “LABWIN-CQA”**. Labwin Ltda, Junho de 2004
- 2) EURACHEM: **The Fitness for Purpose of Analytical Methods; A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics**. EURACHEM, First Internet version, December 1998, First English Edition 1.0 – 1998; www.eurachem.ul.pt/guides
- 3) Miller, J. C. and Miller, J. N.: **Statistics for Analytical Chemistry**, second edition, Ellis Horwood Ltd, London, 1992, pp-60-62.
- 4) EPA: **Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit - Revision 1.11**, 40 CFR Part 136, Appendix B
- 5) IUPAC: **Nomenclature, symbols, units and their usage in Spectrochemical analysis II**, Spectrochim Acta B 1978, 33B, 242 and **Limit of Detection, A Closer Look at the IUPAC Definition**, Analytical Chemistry 1983, V. 55, No. 7 page 712A;
- 6) APHA / AWWA / WEF: **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20^a. Ed., USA, APHA, 1998.
- 7) Hubaux, A. and Vox, G.: **Decision and detection limits for linear calibration curves**, Analytical Chemistry 42, 849 - 855 (1970).
- 8) ASTM Standard D4885-91: **Standard Practice for Comparing Test Methods, ASTM Standards on Precision and Bias for Various Applications**, 4th Edition, 1992.
- 9) Knoll, J. E., J. Chromat. Sci., 23(9), 1985, 422-425.
- 10) Eurachem Group: **Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement**, Eurachem/CITAC, second Edition, UK, 2000.
- 11) Hoel, Paul G.: **Estatística Elementar**, Atlas, São Paulo, 1981.
- 12) Microsoft Corporation: **Documentação (arquivos de ajuda) do Microsoft Excel 97**, Microsoft, 1997.
- 13) Lapponi, Juan Carlos: **Estatística usando Excel**, Lapponi Treinamento e Editora, São Paulo, 1995.