

## CÁLCULO DE INCERTEZAS nas GRANDEZAS DE INFLUÊNCIA em ENSAIOS BIOLÓGICOS

Pierre Morel<sup>1</sup>, Tatiana Langbeck de Arruda<sup>2</sup>, Maria Beatriz C. Bohrer-Morel<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Consultor, PAJ MOREL, Vinhedo (SP), Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Análise de Impacto Ambiental, Rhodia Brasil Ltda., Paulínia (SP), Brasil.

<sup>3</sup>Laboratório de Ecologia e Ecotoxicologia, Centro de Química e Meio Ambiente, IPEN, São Paulo (SP), Brasil.

**Resumo:** Devido à necessidade de demonstrar a confiabilidade dos resultados de ensaios biológicos como, por exemplo, nas áreas de saúde e ambiental, os laboratórios vêm implementando sistemas da qualidade, em especial a ABNT NBR ISO/IEC 17025 [1], que inclui como um dos requisitos o cálculo da incerteza dos resultados dos ensaios.

É reconhecidamente difícil de se estimar a incerteza de ensaios que utilizam organismos, como espécies animais e vegetais, impedindo, conseqüentemente, o atendimento deste requisito da norma.

O trabalho apresenta o cálculo de incerteza das grandezas de influências nestes ensaios como uma ferramenta que permite validar o processo de medição, utilizando como exemplos àqueles realizados pelos Laboratórios de Análise de Impacto Ambiental da Rhodia e de Ecologia e Ecotoxicologia do IPEN.

**Palavras chave:** incerteza, grandezas de influência, ensaios biológicos.

### 1. INTRODUÇÃO

A Norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 [1] foi desenvolvida especificamente para laboratórios de ensaios e calibração que desejam implantar um sistema da qualidade. Estabelece mecanismos para promover a confiabilidade dos ensaios realizados evidenciando que os laboratórios operam de acordo com os requisitos estabelecidos pela norma, o que atesta competência técnica na realização de ensaios.

No Brasil, especificamente na área ambiental, verifica-se uma grande lacuna na realização de ensaios adotando sistemas da qualidade. A adequação de análises químicas e biológicas, incluindo ensaios ecotoxicológicos, empregadas em estudos ambientais em conformidade ABNT NBR ISO/IEC 17025 [1] vem permitindo ampliar e fortalecer a infra-estrutura dos serviços tecnológicos realizados por laboratórios prestadores de serviço.

### 2. INCERTEZA DAS GRANDEZAS DE INFLUÊNCIA

O comportamento dos organismos é altamente dependente das condições ambientais do laboratório, ou seja, das grandezas de influência no sistema-teste, lembrando que, no Vocabulário Internacional de Metrologia [2], são definidas como “grandezas que não são o mensurando, mas que afetam o resultado da medição deste.”

Em ensaios ecotoxicológicos com algas e microcrustáceos, parâmetros como temperatura, pH, oxigênio dissolvido, dureza e luminosidade, podem ser considerados como grandezas de influência. Normas internacionais e nacionais estabelecem intervalos para estes parâmetros que devem ser obedecidos quando da realização dos ensaios. A Tabela 1 apresenta alguns exemplos.

Tabela 1. Exemplos de Grandezas de Influência estabelecidas em normas OECD [3,4] e ABNT [5,6] para ensaios ecotoxicológicos com algas e microcrustáceo (*Daphnia*).

ALGAS		
Grandeza de Influência/Norma	OECD	ABNT
Temperatura	23°C (+2)	24°C (+2)
Luminosidade	8000 (± 20%)	5000 (± 10%)
MICROCRUSTÁCEO ( <i>Daphnia</i> )		
Temperatura	18 a 22°C (+1)*	20°C (+1)
Oxigênio	≥60% do valor de saturação	1mg/L

(\*) a partir da temperatura selecionada entre 18 a 22°C é aceitável a variação de ±1°C.

Propõe-se neste estudo avaliar as incertezas sobre as estas grandezas de influência, de maneira que, comparando estas incertezas com as tolerâncias normativas, seja possível validar o processo de medição destas grandezas.

## 2.1. Cálculo de Incertezas

O cálculo de incertezas das grandezas de influência é realizado exatamente da mesma forma que para o resultado de uma medição analítica, conforme o Guia EURACHEM/CITAC e o Guia para a Expressão da Incerteza de Medição [7,8].

Como etapas sucessivas do cálculo tem-se:

- 1) Especificação do “mensurando”, neste caso a grandeza de influência;
- 2) Identificação das fontes de incerteza, como base no diagrama de Ishikawa;
- 3) Quantificação dos componentes de incerteza;
- 4) Cálculo da incerteza combinada;
- 5) Cálculo da incerteza expandida

## 2.3. Instrumentação

A Tabela 2 apresenta a instrumentação utilizada nos Laboratórios da Rhodia e do IPEN referente às grandezas de influência. Esta se apresenta semelhante para os dois laboratórios, diferenciando-se somente no que diz respeito à medição de temperatura e luminosidade.

Tabela 2. Instrumentação referente às grandezas de influência utilizada nos Laboratórios da RHODIA e do IPEN.

Grandeza de Influência	Laboratório RHODIA	Laboratório IPEN
Temperatura	Registrador multipontos Yokogawa e Sondas PT-100	Termômetros Max/min
pH	pHmetro TECNAL TEC-2	pHmetro ORION 420 A
Oxigênio dissolvido	Oxímetro YSI 550 DO	Oxímetro YSI 51000
Condutividade	Condutímetro Metrohm 712	Condutímetro ORION 250
Dureza	Complexometria: Titulação com solução EDTA padronizada	Complexometria: Titulação com solução EDTA padronizada
Luminosidade	Luxímetro Minipa MLM 1010	Luxímetro

## 2.4. Especificação do mensurando e Identificação das fontes de incerteza

Os procedimentos de medição são extremamente simples, entrando como fontes de incerteza somente fontes referentes aos próprios instrumentos e padrões, quando existentes.

Uma exceção é representada pela medição de dureza para a qual o método complexométrico requer maior atenção na elaboração do diagrama de Ishikawa. Neste caso, a medição é composta de 2 fases distintas, a saber: padronização da solução de EDTA e medição da dureza.

Conseqüentemente, o diagrama de Ishikawa é também elaborado em duas etapas e, pelo fato de que as duas fases do método utilizam os mesmos métodos e equipamentos, deve-se tomar cuidado com a resolução de duplicações apresentadas no diagrama.

## 2.5. Cálculos da incerteza expandida via quantificação dos componentes de incerteza e cálculo da incerteza combinada

Da mesma forma que para o item anterior, o único cálculo relativamente demorado é o da medição da dureza, devendo-se apoiar totalmente no Guia Eurachem.

## 2.6. Validação da Instrumentação

São comparadas as incertezas calculadas com as tolerâncias normativas, permitindo assim a validação do processo de medição da grandeza de influência.

## 3. CONCLUSÃO

O cálculo das incertezas sobre as grandezas de influências de ensaios biológicos é bastante simples, como no caso estudado relativo a ensaios ecotoxicológicos, pois permite a validação do processo de medição destas grandezas.

Embora seja uma medida indireta da incerteza do ensaio biológico é a garantia do cumprimento dos requisitos das normas regulamentadoras.

Portanto, é recomendável a validação da medição das grandezas de influência via cálculo da incerteza destas grandezas para laboratórios que realizam estudos nas áreas da saúde e meio-ambiente.

## REFERÊNCIAS

- [1] ABNT NBR ISO/IEC 17025. Janeiro de 2001.
- [2] Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia. INMETRO. 1995.
- [3] OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals. Algae Growth Inhibition Test. No. 201. 1984.
- [4] OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals. *Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test and Reproduction Test. Test: No. 202. 1984.
- [5] ABNT. Água - Ensaio de toxicidade com *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). NBR 12648. Rio de Janeiro, 1992.
- [6] ABNT. Ecotoxicologia Aquática. Toxicidade Aguda. Método de ensaio de toxicidade com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera) NBR 12713. Rio de Janeiro, 2004.
- [7] Primeira Edição Brasileira do Guia EURACHEM/CITAC – Determinando a Incerteza na Medição Analítica – Segunda Edição, 2002.

- [8] Guia para a Expressão da Incerteza de Medição. Segunda Edição Brasileira do Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. Edição Revisada. Agosto de 1998.

---

**Autores:**

Pierre Morel. Consultor, PAJ MOREL. Av. Jabirú, 252. Vista Alegre. Vinhedo, SP, Brasil. CEP: 13280-000. Tel/Fax: (0xx19) 3846-9490. E-mail: [pierre@uol.com.br](mailto:pierre@uol.com.br)

Tatiana Langbeck de Arruda. Laboratório de Análise de Impacto Ambiental, Rhodia Poliamida Especialidades Ltda, Fazenda São Francisco, s/nº. Paulínia, SP, Brasil. CP.: 07. CEP: 13140-000. Tel: (0xx19) 3874-8570. Fax: (0xx19) 3874-8594. E-mail: [tatiana.arruda@br.rhodia.com](mailto:tatiana.arruda@br.rhodia.com)

Maria Beatriz C. Bohrer-Morel. Responsável pelo Laboratório de Ecologia e Ecotoxicologia, Centro de Química e Meio Ambiente, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)/Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Travessa R, no. 400. Cidade Universitária. Butantã. CEP: 05508-900. São Paulo. SP. Tel.: (0xx11) 3816-9335. Fax: (0xx11) 3816-9325. E-mail: [mbohrer@ipen.br](mailto:mbohrer@ipen.br)