Artigos técnicos

Cálculo e avaliação da incerteza estimada de medição de ensaios de análise de tamanho de partículas por espalhamento dinâmico de luz (DLS)

Calculation and evaluation of the estimated measurement uncertainty of particle size analysis by - dynamic light scattering (DLS)

Cyntia Matteucci[a*], Aline Cotta Dinis[b], Kleber Lanigra Guimarães[c]

a Gerência de Gestão da Qualidade, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., São Paulo-SP, Brasil.

b Pesquisadora Visitante do Laboratório de Processos Químicos e Tecnologia de Partículas, Núcleo de Bionanomanufatura, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., São Paulo-SP, Brasil

c Laboratório de Processos Químicos e Tecnologia de Partículas, Núcleo de Bionanomanufatura, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A., São Paulo-SP, Brasil.

*E-mail: cyntiamt@ipt.br

Palavras-chave:
estimativa de incerteza; tamanho de partícula; espalhamento dinâmico de luz; DLS

Keywords: luncertainty estimate; particle size; dynamic light scattering

Resumo

A análise de tamanho de partículas por espalhamento dinâmico de luz é uma técnica aplicada na caracterização de nanodispersões, microemulsões e soluções coloidais. O resultado do ensaio deve ser apresentado com a incerteza estimada de medição, a falta dessa informação poderá ser relevante para a validade ou aplicação dos resultados do ensaio ou, até mesmo afetar a conclusão sobre a conformidade com um limite especificado. Este artigo tem como objetivo apresentar a estimativa e a avaliação da incerteza de medição para os ensaios de análise de tamanho de partículas, por meio da técnica de espalhamento de luz (DLS). O método para a estimativa foi baseado em um Guia para a expressão de incerteza de medição, que emprega a "lei de propagação de incertezas" e foram identificadas 14 possíveis fontes de incerteza. O resultado da incerteza expandida é de 4,0 % com probabilidade de abrangência de 95 % para um material de 101,8 nm de diâmetro, atendendo as expectativas do laboratório, com base nas informações encontradas na literatura. A repetibilidade obtida foi de 1,0 %, dentro da faixa de valores estipulada na norma de referência (menor que 2 %). A partir da avaliação da contribuição de cada fonte de incerteza, foram selecionadas as que terão maior impacto se implementadas ações para diminuí-las.

Abstract

Particle size analysis by dynamic light scattering is a technique applied in the characterization of nanodispersions, microemulsions and colloidal solutions. The test results should be presented with the estimated measurement uncertainty. The lack of such information may be relevant to the validity or the application of the test results or even may affect the conclusion on conformity with a specified limit. The aim of this paper is to present the estimation and the evaluation of the measurement uncertainty of particle size - light scattering (DLS) assays. The method for estimating was based on a guide to measurement uncertainty expression which employs the "Uncertainty Propagation Law" and identified 14 sources of uncertainty. The result of the expanded uncertainty is 4.0 % with 95 % coverage probability for a material of 101.8 nm in diameter, meeting the expectations of the laboratory, based on information found in the literature. The repeatability obtained was 1.0 %, within the range of values stipulated in the reference standard (less than 2 %). From the evaluation of the contribution of each source of uncertainty the ones that will have the greatest impact if actions were implemented to reduce them were selected.

1 Introdução

A análise de tamanho de partículas por espalhamento dinâmico de luz é uma técnica aplicada na caracterização de (nano) dispersões, (micro) emulsões e soluções coloidais. O tamanho das partículas dispersas em um meio líquido pode influenciar em propriedades como reatividade, cinética de dissolução, estabilidade de dispersões coloidais, eficácia de entrega em sistemas carreadores de fármacos, entre outras.

A metodologia para realização desta análise é estabelecida na norma ISO 22412 da *International Organization for Standardization*, inicialmente publicada em 2008 e substituída pela versão atual, publicada em 2017 (ISO 22412:2017 (E) – *Particle size analysis – Dynamic light scattering* (DLS)).

A técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), também chamada de espectroscopia de correlação de fótons (PCS) ou ainda de espalhamento de luz quasi elástico (QELS) é baseada na avaliação de luz visível resultante da diferença no índice de refração entre partículas dispersas em um meio e o índice de refração do meio de dispersão. O método é aplicado para partículas suspensas em um líquido na faixa de 0,6 nm a 10360 nm, dependendo do equipamento utilizado, das propriedades ópticas do material, do meio de dispersão e do software (NANOREG, 2017).

Na análise de tamanho de partículas por DLS, partículas submicrométricas suspensas em um fluido estão em constante movimento aleatório (movimento Browniano), resultante da interação com as moléculas que compõem o meio dispersante. Na teoria de Stokes-Einstein do movimento Browniano, o movimento da partícula numa concentração muito baixa pode ser determinado pela viscosidade e temperatura do meio dispersante e pelo tamanho da partícula. No caso de baixas concentrações de sólido em suspensão, trata-se de um diâmetro hidrodinâmico (RÓZ, 2015).

Varenne, Botton e Merlet (2015) estudaram a padronização e a validação do protocolo de determinação de tamanho de partículas por espalhamento dinâmico de luz para caracterização de dois nanomateriais monodispersos estáveis, realizando medições a 20 °C e 25 °C, utilizando materiais de referência certificados e avaliando os valores de incerteza estimados para a robustez, repetibilidade, precisão intermediária e exatidão. As incertezas expandidas obtidas nesse estudo foram de 7,0 % e 3,8 % para os padrões de 60 nm e 203 nm, respectivamente, a 20 °C e 6,8 % e 3,8v% para os padrões de 60 nm e 203 nm, respectivamente, a 25 °C (VARENNE; BOTTON; MERLET, 2015).

Em 2016, o protocolo estudado por Varenne, Botton e Merlet (2015) foi aplicado para avaliação de nanomateriais com diâmetros de 100 nm e 400 nm e as incertezas expandidas obtidas foram 4,4 % e 3,6 %, respectivamente, ambos a 20 °C. Nesse estudo, foram consideradas as incertezas oriundas da repetibilidade, precisão intermediária e exatidão, considerando influências da temperatura e do volume de amostra utilizado (VARENNE et al. 2016).

Apesar das recentes publicações sobre a metodologia de análise de tamanho de partículas por DLS e validações do método, as informações sobre a estimativa de incerteza de medição para essa técnica de caracterização ainda são escassas. Se o resultado do ensaio for apresentado sem a incerteza estimada de medição, a falta dessa informação poderá ser relevante para validade ou aplicação dos resultados do ensaio ou, até mesmo, afetar a conclusão sobre a conformidade com um limite especificado. Conhecer a incerteza do resultado do ensaio de análise de tamanho de partículas é importante para apresentar aos clientes um resultado completo com a qualidade de medição quantificada. Além disso, para o Laboratório de Processos Químicos e Tecnologia de Partículas (LPP), do Núcleo de Bionanomanufatura (BIONANO) /IPT possibilita um aprofundamento do conhecimento do ensaio, inclusive das contribuições de cada fonte de incerteza para o controle e busca de melhorias.

Em vista da importância e das justificavas de se conhecer a incerteza estimada de medição de um ensaio, este artigo tem como objetivo apresentar a estimativa e avaliação da incerteza dos ensaios de análise de tamanho de partículas por meio da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS).

2 Procedimento metodológico

2.1 Método de ensaio

A análise de tamanho de partículas por espalhamento dinâmico de luz foi realizada conforme a norma ISO 22412 da *International Organization for Standardization* (2017). Nessa análise, foi utilizado o equipamento analisador de tamanho de partículas *Nanoplus, Particulate System*.

Conforme a norma ISO 22412 da *International Organization for Standardization* (2017) o princípio deste ensaio é que as partículas em suspensão recebem um feixe de luz e o espalhamento da luz é dependente da interação deste feixe (radiação eletromagnética) com as partículas em suspensão e também da mobilidade dessas partículas, ou seja, da velocidade com que elas se movem. A luz espalhada pelas partículas é detectada por um ângulo (θ) em relação à luz incidente (a posição do detector em relação à luz incidente depende do equipamento utilizado na análise).

A qualificação do equipamento foi realizada utilizando medições em Materiais de Referência Certificados (MRC) para construção de uma curva analítica, relacionando os diâmetros nominais dos MRCs (abscissa) com os valores médios obtidos em três determinações (ordenada). Foram utilizados os MRCs de valores nominais 19 nm, 60 nm e 100 nm de diâmetro .para construção da curva analítica.

As principais etapas da preparação da amostra estão representadas na **Figura 1**:

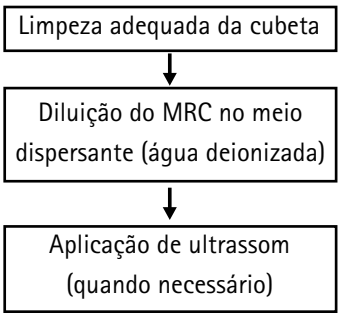

Figura 1 – Principais etapas da preparação da amostra.
Fonte: Elaboração própria.

As principais etapas da análise de tamanho de partículas estão representadas na **Figura 2**:

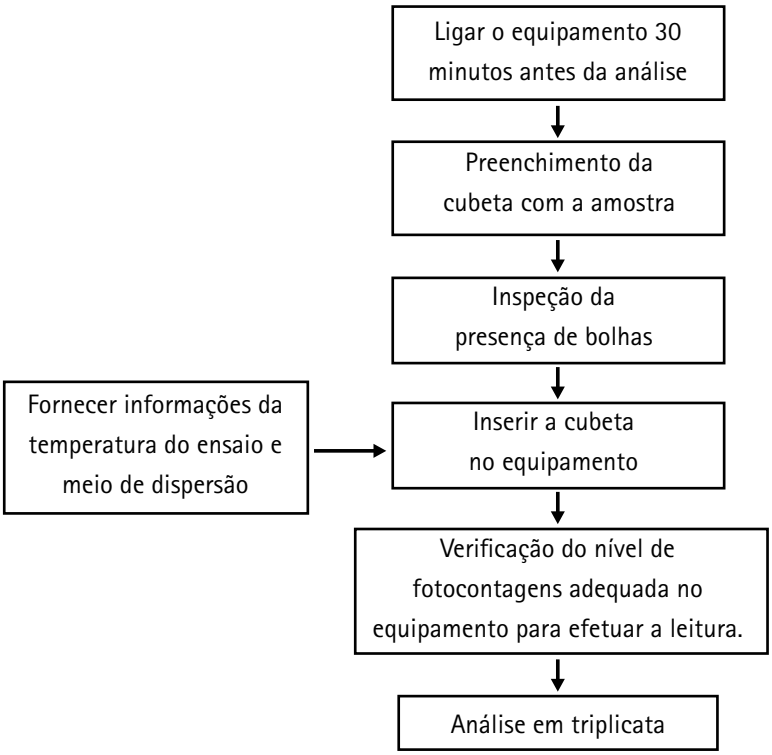

Figura 2 – Principais etapas da preparação da amostra.
Fonte: Elaboração própria.

As medições foram realizadas utilizando um equipamento analisador de tamanho de partículas *Nanoplus, Particulate System*, com laser diodo de comprimento de onda de 663,5 nm e ângulo de espalhamento de 165°. A temperatura adotada para as medições foi 25 °C e foi utilizado como meio dispersante, a água deionizada. Nessas condições, o índice de refração foi de 1,3328 e a viscosidade 0,8878 cP (mPa·s), conforme dados registrados no software *Nanoplus Version* 5.22.

No preparo das amostras, 4 gotas de Material de Referência Certificado NIST SRM1963a 100 nm *Diameter Polystyrene Spheres*, de 06.10.2014 (validade 15.05.2017), foram diluídas em 20 mL de água deionizada e filtrada em membrana de 0,2 µm. Para cada amostra, realizou-se 70 acumulações (*runs*), o procedimento foi realizado em triplicata.

2.2 Método para calcular a estimativa de incerteza de medição

O método para a estimativa de incerteza de medição foi baseado no Guia para a expressão de incerteza de medição (BARATTO et al., 2012) que aplica a "lei de propagação de incertezas". A sequência do procedimento é definir o mensurando, o modelo matemático de medição, identificar as fontes de incerteza, quantificar as fontes de incerteza, calcular o coeficiente de sensibilidade, verificar se existe correlação entre as componentes de incerteza, calcular a incerteza combinada e calcular a incerteza expandida.

2.2.1 Definição do mensurando

O mensurando do ensaio é o diâmetro hidrodinâmico, valor expresso em nanometro (nm).

2.2.2 Determinação do modelo matemático de medição

A norma ISO 22412 da International Organization for Standardization (2017) estabelece o modelo matemático (**Equação 1**) para o cálculo do diâmetro hidrodinâmico como:

$$d = \frac{k \cdot (T)}{3 \cdot \pi \cdot \eta \left(\frac{\Gamma}{q^2} \right)} \qquad (1)$$

Em que:

d = Diâmetro hidrodinâmico, em nm
k = Constante de Boltzman em JK^{-1}
T = Temperatura em K
η = Viscosidade do meio dispersante em Pa·s
Γ = Taxa de decaimento em 1/s
q = Vetor dispersão em m^{-1} (**Equação 2**)

$$q = \frac{(4 \cdot \pi \cdot \eta)}{\lambda} \cdot sin\left(\frac{\theta}{2} \right) \qquad (2)$$

Em que:

q = Vetor dispersão em m^{-1}
n = Índice de refração do meio de dispersão (adimensional)
θ = Ângulo de espalhamento em rad
λ = Comprimento de onda em m

2.2.3 Busca das possíveis fontes de incerteza

A partir do modelo matemático foram listadas as variáveis de entrada para o cálculo do mensurando, através do acompanhamento do ensaio em auditoria técnica e com as informações do *Good Practice Guide* N° 119 (BOYD et al., 2011)foi elaborado o diagrama de causa e efeito (Espinha de peixe) apresentado na **Figura 3**, com objetivo de identificar as fontes de incerteza relacionadas a essas variáveis.

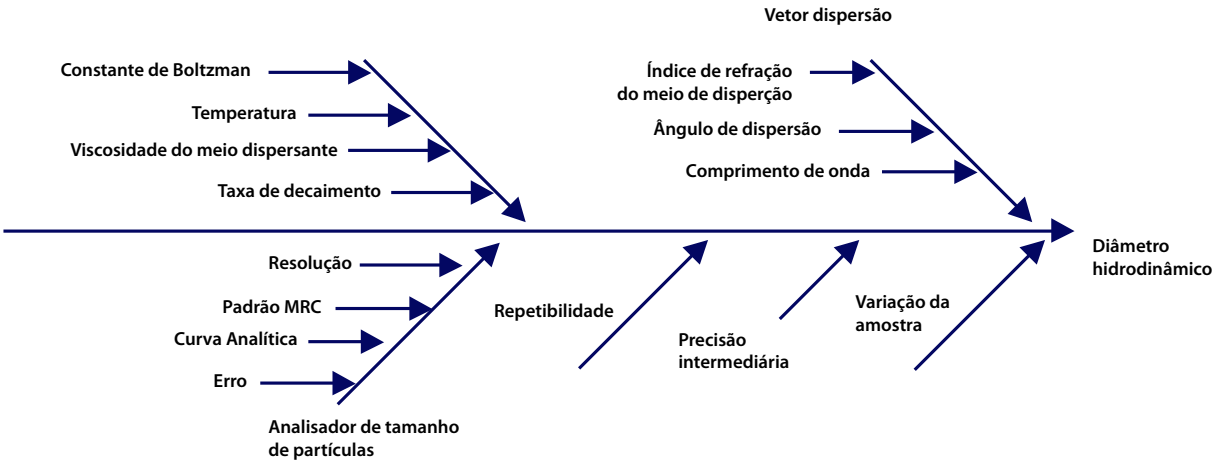

Figura 3 – Diagrama de causa e efeito (Espinha de peixe).
Fonte: Elaboração própria.

2.2.4 Fontes de incerteza

Foram identificadas como possíveis fontes de incertezas:

- Índice de refração do meio de dispersão;
- Comprimento de onda;
- Ângulo de espalhamento;
- Vetor dispersão;
- Constante de Boltzman;
- Temperatura;
- Viscosidade do meio dispersante;
- Taxa de decaimento;
- Resoluções do Analisador de tamanho de partículas;
- Curva analítica;
- Material de Referência Certificado;
- Erro;
- Repetitibilidade de medição;
- Precisão intermediária.

2.2.5 Quantificação dos componentes de incerteza

Baseado no Guia Eurachem/CITAC (ELLISON; ROSSLEIN; WILLIAMS, 2002), *Good Practice Guide* nº 119 (BOYD et al., 2011) e Guia para a expressão de incerteza de medição (BARATTO et al., 2012) foram obtidas diversas incertezas padrão e as respectivas distribuições de probabilidade.

2.2.5.1 Índice de refração do meio de dispersão

A incerteza padrão do índice de refração do meio de dispersão (água deionizada) foi calculada conforme a **Equação 3**, considerando a diferença entre o valor teórico e o valor lido. A distribuição de probabilidade utilizada foi retangular.

$$u_n = \sqrt{\left(\frac{n_{teórico} - n_{lido}}{\sqrt{3}}\right)^2} \qquad (3)$$

2.2.5.2 Comprimento de onda

A incerteza padrão do comprimento de onda foi calculada conforme a **Equação 4**, considerando a resolução (0,1 nm) do Analisador de tamanho de partículas com uma distribuição de probabilidade retangular.

$$u_\lambda = \sqrt{\left(\frac{\frac{resolução}{2}}{\sqrt{3}}\right)^2} \qquad (4)$$

2.2.5.3 Ângulo de espalhamento

A incerteza padrão do ângulo de espalhamento é 0,008 %. Para determinar essa incerteza padrão foi convertido em porcentagem o valor utilizado no estudo de caso IV do *Good Practice Guide* nº 119 (BOYD et al., 2011).

2.2.5.4 Vetor dispersão

A incerteza padrão do vetor dispersão foi calculada conforme a **Equação 5**. Optou-se por determinar a incerteza padrão do vetor dispersão igual ao valor do vetor multiplicado pela raiz quadrada da soma das incertezas padrão relativas das grandezas de entrada do índice de refração do meio de dispersão, do comprimento de onda e do ângulo de dispersão porque a **Equação 2** inclui produtos e quociente. (ELLISON; ROSSLEIN; WILLIAMS, 2002).

$$uc_q = q \cdot \sqrt{\left(\frac{u_n}{n}\right)^2 + \left(\frac{u_\lambda}{\lambda}\right)^2 + \left(\frac{\sin\left(\frac{u_\theta}{2}\right)}{\sin\left(\frac{\theta}{2}\right)}\right)^2} \qquad (5)$$

2.2.5.5 Constante de Boltzman

A incerteza padrão da Constante de Boltzman é $0{,}00000079 \cdot 10^{-23}$ JK^{-1} (MOHR; NEWELL; TAYLOR, 2016).

2.2.5.6 Temperatura

Para determinar a incerteza padrão da temperatura (**Equação 6**) foi convertido em porcentagem o valor informado no Manual da Qualidade do Equipamento *Nanoplus, Particulate System* (0,2 °C). A distribuição de probabilidade utilizada foi retangular.

$$u_T = \sqrt{\frac{\left((T + 273{,}15) \cdot \left(\frac{0{,}2}{T}\right)\right)}{\sqrt{3}}} \qquad (6)$$

2.2.5.7 Viscosidade do meio dispersante

A incerteza padrão da viscosidade do meio dispersante (solvente) a 25 °C foi calculada (**Equação 7**) combinando a incerteza da água a 20 °C definida pela norma ISO/TR 3666 (*INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION*, 1998), como sendo 1,0016 mPa·s e a diferença entre o valor lido a 25 °C e o valor do banco de dados do equipamento *Nanoplus, Particulate System* a 25 °C. A distribuição de probabilidade foi normal (k = 2) para o valor normalizado e retangular para a diferença entre os valores.

$$u_{\eta 25°C} = \sqrt{\left(\frac{u_{\eta 20°C}}{2}\right)^2 + \left(\frac{Erro_{\eta 25°C}}{\sqrt{3}}\right)} \qquad (7)$$

2.2.5.8 Taxa de decaimento

A incerteza padrão da taxa de decaimento foi calculada (**Equação 8**) de forma conservadora, considerando a diferença entre o maior e menor valor (amplitude) da taxa de decaimento, valores esses registrados no *software* do analisador de tamanho de partículas. A distribuição de probabilidade utilizada foi retangular.

$$u_{\Gamma} = \sqrt{\left(\frac{Maior_{\Gamma} - Menor_{\Gamma}}{\sqrt{3}}\right)^2} \qquad (8)$$

2.2.5.9 Equipamento (Analisador de tamanho de partículas)

A incerteza padrão do equipamento foi obtida de quatro componentes: a resolução do analisador de tamanho de partículas, a curva analítica, o Material de Referência Certificado (MRC) e o Erro.

A incerteza da Curva Analítica foi calculada conforme o Procedimento do Guia Eurachem item A5.4 etapa 3. A distribuição de probabilidade utilizada foi retangular.

A incerteza herdada da produção do MRC foi calculada com os valores do Certificado do Material de Referência (Incerteza expandida e o respectivo fator de abrangência). O Erro foi quantificado (Valor do MRC – Valor lido) com distribuição retangular. A combinação dessas fontes de incerteza estão na **Equação 9**.

$$uc_{Equip} = \sqrt{\left(\frac{\frac{Resolução}{2}}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{U_{padrão}}{k_{padrão}}\right)^2 + (curva)^2 + \left(\frac{Erro}{\sqrt{3}}\right)^2} \qquad (9)$$

2.2.5.10 Repetibilidade

A repetibilidade (Repe), isto é, a precisão de medição foi estabelecida na condição de um único operador utilizar o mesmo procedimento de medição, em um mesmo local (Laboratório LPP/BIONANO/IPT), utilizando um único equipamento e repetição em triplicata de análise do item Material de Referência Certificado. A repetibilidade foi quantificada pelo cálculo de desvio padrão.

2.2.6 Coeficiente de sensibilidade

O coeficiente de sensibilidade é definido como a razão de variação de grandezas de saída em relação à grandeza de entrada e o valor é obtido por derivada parcial. A seguir são apresentadas as equações 10 a 14 para calcular os coeficientes de sensibilidade para a constante de Boltzman, a temperatura, a viscosidade do meio dispersante, a taxa de decaimento e o vetor de dispersão respectivamente.

$$\frac{\partial d}{\partial k} = \frac{(T + 273{,}15)}{3 \cdot \pi \cdot \eta \cdot \left(\frac{\Gamma}{q^2}\right)} \tag{10}$$

$$\frac{\partial d}{\partial T} = \frac{k}{3 \cdot \pi \cdot \eta \cdot \left(\frac{\Gamma}{q^2}\right)} \tag{11}$$

$$\frac{\partial d}{\partial \eta} = \frac{-(k(T + 273{,}15))}{3 \cdot \pi \cdot \eta^2 \cdot \left(\frac{\Gamma}{q^2}\right)} \tag{12}$$

$$\frac{\partial d}{\partial \Gamma} = \frac{-(k \cdot (T + 273{,}15)) \cdot \left(\frac{1}{q^2}\right)}{3 \cdot \pi \cdot \eta \cdot \left(\frac{\Gamma}{q^2}\right)^2} \tag{13}$$

$$\frac{\partial d}{\partial q} = \frac{-(k \cdot (T + 273{,}15)) \cdot \left(3 \cdot \pi \cdot \eta \cdot \Gamma \cdot \left(\frac{-2}{q^3}\right)\right)}{3 \cdot \pi \cdot \eta \cdot \left(\frac{\Gamma}{q^2}\right)^2} \tag{14}$$

2.2.7 Verificação se existe correlação entre as componentes de incerteza

Se constatada a existência de correlação entre as componentes de incerteza, a mesma deve ser considerada como uma contribuição de incerteza de correlação.

Não foi identificado correlação das grandezas de entrada no modelo matemático do diâmetro hidrodinâmico, pois os valores da temperatura e da viscosidade do meio dispersante são dados de entrada do *software*, e o vetor dispersão e a constante de Boltzman são os valores que não se alteram no ensaio. Logo, essas componentes são obtidas de forma independente.

2.2.8 Incerteza combinada

Com a identificação das fontes de incerteza, obtenção das incertezas padrão e dos coeficientes de sensibilidade, é possível calcular a incerteza combinada do diâmetro hidrodinâmico com as **Equações 15 e 16**.

$$uc_d = \sqrt{\left(uc_{Equip}\right)^2 + \left(uc_d\right)^2 + \left(Re\,pe\right)^2} \tag{15}$$

$$uc_d = \sqrt{\left(uk \cdot \frac{\partial d}{\partial k}\right)^2 + \left(uT \cdot \frac{\partial d}{\partial T}\right)^2 + \left(u\eta_25C \cdot \frac{\partial d}{\partial \eta}\right)^2 + \left(u\Gamma \cdot \frac{\partial d}{\partial \Gamma}\right)^2 + \left(uq \cdot \frac{\partial d}{\partial q}\right)^2} \tag{16}$$

2.2.9 Fator de abrangência e Incerteza expandida

O Fator de abrangência (k) é um fator numérico utilizado como um multiplicador da incerteza padrão combinada do diâmetro hidrodinâmico de medição, de modo a obter uma incerteza expandida de medição (**Equação 17**). O fator de abrangência foi determinado para o nível de confiança de 95,45 %, utilizando o valor do grau de liberdade efetivo, calculado a partir da fórmula de Welch-Satterhwaite (**Equação 18**) do Guia para a expressão de incerteza de medição (BARATTO et al., 2012).

$$U_{medição} = uc_{medição} \cdot k \tag{17}$$

$$\gamma_{eff} = \frac{u^4(y)}{\sum_{i=1}^{n} \frac{u_i^4(y)}{\gamma_i}} \tag{18}$$

3 Resultados e discussão

O valor médio do diâmetro das partículas foi calculado pelo *software Nanoplus Version* 5.22, utilizando o método de análise CONTIN. Os valores registrados nas análises realizadas são apresentados na **Tabela 1**.

Amostra	Diâmetro médio (nm)	Índice de Polidispersividade – PI[1]	Taxa de decaimento (1/s)
SRM1963a 100 nm_1	100,7	0,047	3043,9
SRM1963a 100 nm_2	101,9	0,042	3006,0
SRM1963a 100 nm_3	102,8	0,018	2979,9

Tabela 1 – Valores registrados nas análises do SRM 1963a.
Fonte: Elaboração própria.

O valor médio do diâmetro hidrodinâmico, obtido após três determinações foi 101,8 nm. A incerteza expandida do diâmetro hidrodinâmico é de 4,0 %. A incerteza padrão combinada foi multiplicada por um fator de abrangência k = 2,13, para uma distribuição normal correspondente a uma probabilidade de abrangência de aproximadamente 95 %.

Conforme apresentado na **Figura 4**, considerando o desvio padrão da amostra zero, a maior contribuição (53,1 %) vem dos cinco parâmetros do modelo matemático (**Equação 1**), depois a repetibilidade de medição (30,9 %), e a menor contribuição é o analisador de tamanho de partículas (16 %).

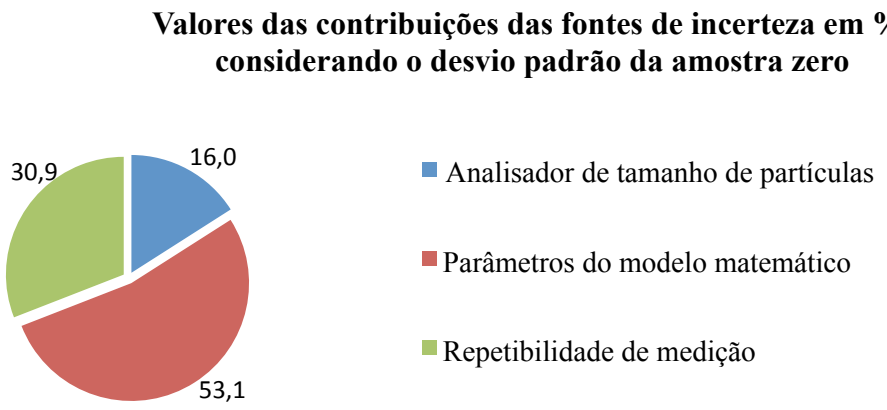

Figura 4 – Valores das contribuições das fontes de incerteza em porcentagem, considerando o desvio padrão da amostra como zero.
Fonte: Elaboração própria.

[1] Valor indicado pela norma ISO 22412:2017: inferior a 0,07.

Conforme apresentado na **Figura 5**, a maior contribuição dos cinco parâmetros do modelo matemático (**Equação 1**) é a taxa de decaimento (87,1 %), depois a temperatura (11,3 %), e viscosidade do meio dispersante. As demais contribuições (constante de Boltzman e vetor dispersão) são desprezíveis.

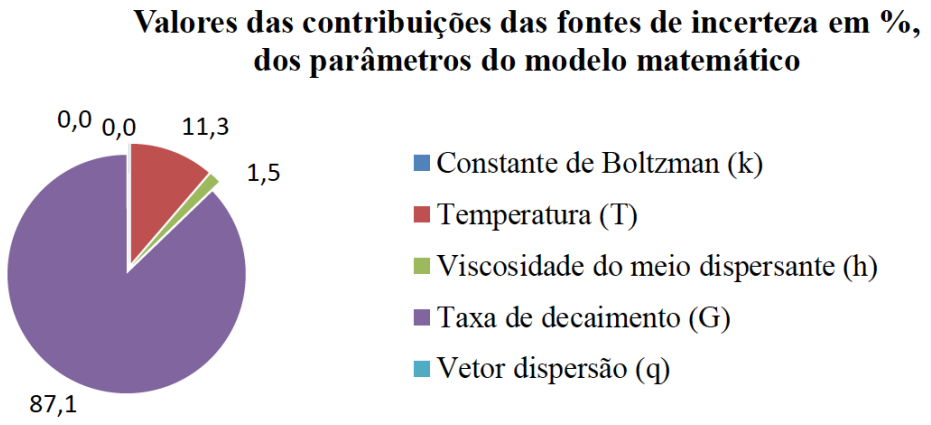

Figura 5 – Valores das contribuições das fontes de incerteza em porcentagem dos cinco parâmetros do modelo matemático (Equação 1).
Fonte: Elaboração própria.

Conforme apresentado na **Figura 6**, a maior contribuição do Analisador de tamanho de partículas é a incerteza herdada do Material de Referência Certificado (52,8 %), depois a incerteza da curva analítica (47,2 %), e as demais contribuições (resolução e erro) são desprezíveis.

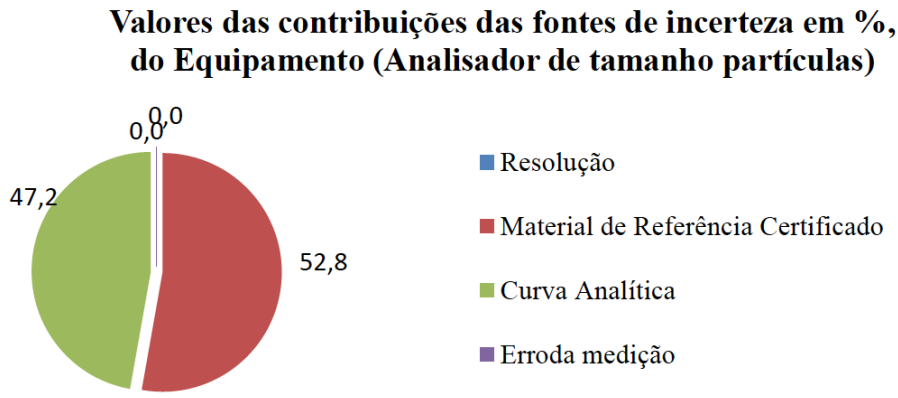

Figura 6 – Valores das contribuições das fontes de incerteza em porcentagem do Analisador de tamanho de partículas.
Fonte: Elaboração própria.

O valor do fator de abrangência (k = 2,13), conforme o documento Avaliação de dados de medição: Guia para a expressão de incerteza de medição – GUM, nota do item 2.3.6, está dentro do esperado, isto é tipicamente na faixa de 2 a 3.

O valor da repetibilidade de medição do ensaio (1,0 %), segundo a norma ISO 22412 da *International Organization for Standardization* (2017), está dentro do esperado (< 2,0 %).

Comparando o valor da incerteza relativa (1,87 %) apresentada no IV estudo de caso do *Good practice Guide* n° 119 (BOYD et al., 2011) com o LPP/BIONANO/IPT (4,0 %), o valor do laboratório é maior. Nos cálculos, o laboratório considerou treze fontes de incerteza: todas as fontes de incerteza do *Good practice Guide* n° 119 (BOYD et al., 2011) e também as incertezas associadas ao equipamento utilizado e a herdada do Material de Referência.

A fonte de incerteza da Precisão Intermediária não foi considerada, pois está em estudo, uma vez que a condição a ser avaliada contemplará dois equipamentos *Nanoplus, Particulate System*, o mesmo procedimento de medição, o mesmo técnico, o mesmo laboratório e medições repetidas no mesmo MRC.

Comparando o valor da incerteza relativa (4,4 %) apresentada no protocolo estudado por Varenne, Botton e Merlet (2015) para avaliação de nanomateriais com diâmetros de 100 Para o nível de confiança de 95,45 %, nm com o do LPP/BIONANO/IPT (4,0 %), o valor do laboratório é menor. No protocolo estudado por Varenne, Botton e Merlet (2015) foram consideradas as incertezas oriundas da repetibilidade, precisão intermediária e exatidão, considerando influências da temperatura e do volume utilizado na cubeta.

4 Conclusões

O cálculo da estimativa de incerteza possibilitou quantificar a qualidade da medição dos ensaios de análise de tamanho de partículas (4,0 %). Esse valor poderá variar, em função da amostra.

A partir da análise de contribuição das fontes de incertezas, que possibilita ao grupo concentrar-se nas fontes que terão maior impacto se diminuídas, estão identificadas as fontes curva analítica, taxa de decaimento e repetibilidade de medição.

O LPP/BIONANO/IPT tem condições de apresentar o resultado com uma declaração sobre a incerteza de medição (item 5.10.3.1.c da norma NBR ISO/IEC 17025 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005).

Recomenda-se que, em trabalhos futuros, seja feito um esforço para a diminuição da incerteza, explorando as fontes identificadas de maior impacto, para obtenção de melhoria contínua e do aprofundamento nas variáveis do ensaio.

5 Agradecimentos

Pelo empenho de Thaís Aragão Horoiwa ao cumprimento de sua missão junto ao IPT.

6 Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC 17025**: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro: ABNT, 2005.

BARATTO, A. C. et al. (Coord.) **Avaliação de dados de medição**: guia para a expressão de incerteza de medição: GUM 2008. Rio de Janeiro: INMETRO, 2012. 141 p. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/inovacao/publicacoes/gum_final.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2017.

BOYD, R. D. et al. **Good practice guide for the determination of the size and size distribution of spherical nanoparticle sample**. Teddington, UK: NPL, 2011. (Measurement Good Practice Guide, n. 119). Disponível em: <http://www.npl.co.uk/publications/Good-practice-guide-for-the-determination-of-the-size-distributions-of-spherical-nanoparticle-samples.>. Acesso em: 20 jun. 2017.

ELLISON, S. L. R.; ROSSLEIN, M.; WILLIAMS, A. (Ed.). **Guia EURACHEM/CITAC determinando a incerteza na medição analítica**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Metrologia, 2002. Disponível em: <http://allchemy.iq.usp.br/pub/metabolizando/Beta021115.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2017.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 22412**: Particle size analysis - Dynamic light scattering (DLS). Geneve: ISO, 2017. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/65410.html>. Acesso em: 20 jun. 2017.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/TR 3666**: Viscosity of water. Geneve: ISO, 1998. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/28607.html>. Acesso em: 20 jun. 2017.

MOHR, P. J.; NEWELL, D. B.; TAYLOR, B. N. CODATA recommended values of the fundamental physical constants: 2014. **Reviews of Modern Physics**, Minneapolis, v. 88, p. 1-77, July/Sept. 2016.

NANOREG. **NRCWE SOP for measurement of hydrodynamic Size– Distribution and Dispersion Stability by Dynamic Light Scattering (DLS)**. 2017. 11 p. Disponível em: <http://rivm.nl/en/About_RIVM/International_Affairs/International_Projects/Completed/NANoREG/deliverables/NANoREG_D2_08_SOP_02_For_measurement_of_hydrodynamic_Size_Distribution_and_Dispersion_Stability_by_DLS.org>. Acesso em: 20 jun. 2017.

RÓZ, A. L. D. , LEITE, F. De L. , FERREIRA, M. , OLIVEIRA JR,O. N. De. **Técnicas de Nanocaracterização: Princípios e aplicações**. Rio de Janeiro: Elsevier Editora, v. 3, 2015.

VARENNE, F., BOTTON, J., MERLET, C. Standardization and validation of a protocol of size measurements by dynamic light scattering for monodispersed stable nanomaterial characterization. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 486, p. 124-138, 2015. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.08.043.

VARENNE, F.; BOTTON, J.;MERLET, C.; HILLAIREAU, H.; LEGRAND, F. X.; BARRAT, G.; VAUTHIER, C. Size of monodispersed nanomaterials evaluated by dynamic light scattering: Protocol validated for measurements of 60 and 203nm diameter nanomaterials is now extended to 100 and 400nm. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 515, n. 1-2, p. 245-253, 2016. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.10.016.