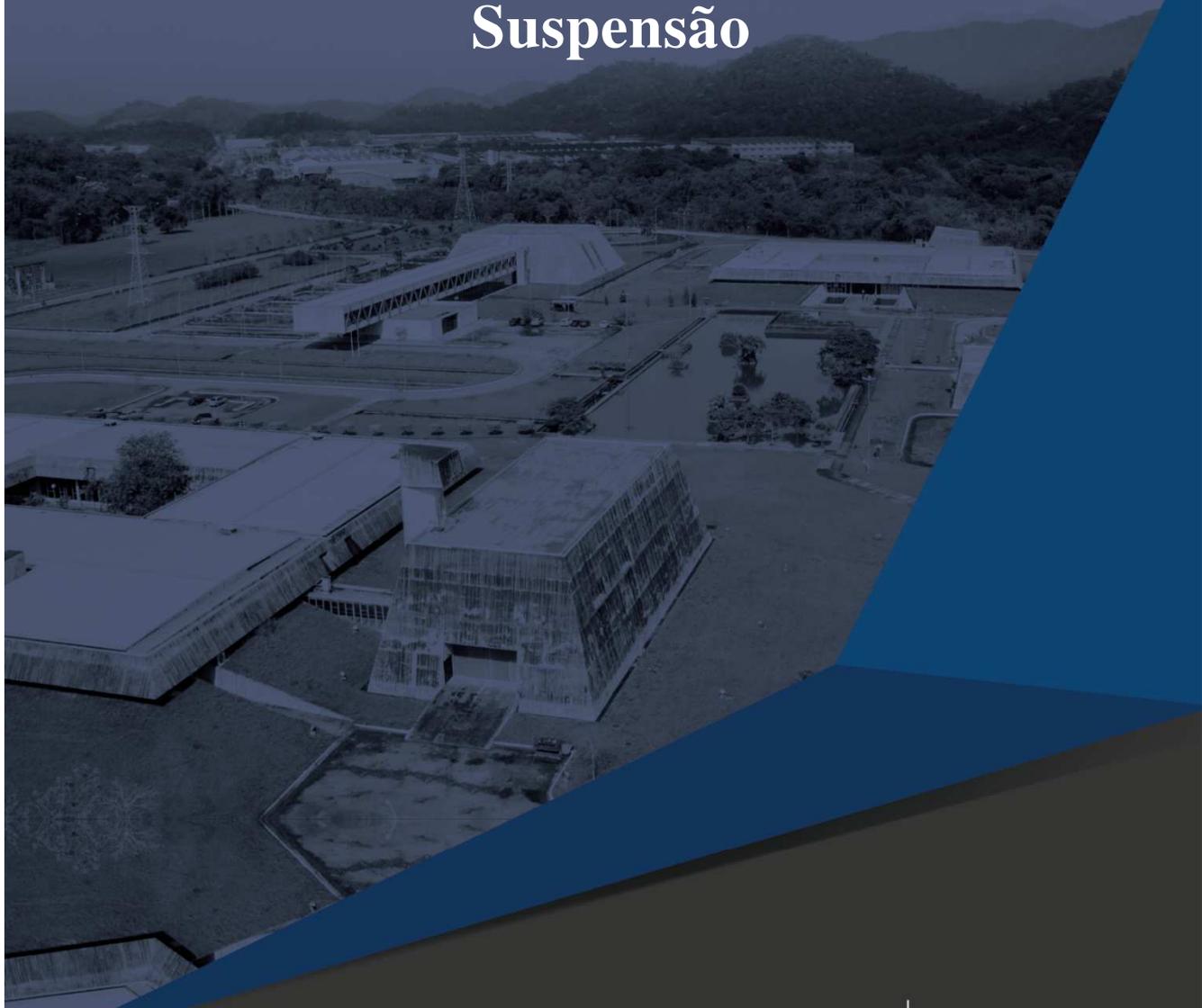


Relatório Final do Ensaio de Proficiência em Medição de Nanopartículas

1^a Rodada – Dimensão de Nanopartículas de Ouro em Suspensão



PEP-Inmetro

PROGRAMA DE ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA DO INMETRO



INMETRO

ENSAIO DE PROFICIÊNCIA EM MEDIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

1ª RODADA – DIMENSÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO EM SUSPENSÃO

Período de Realização: 05/08/19 a 05/03/20

RELATÓRIO FINAL Nº 001/2020

ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO PROMOTORA DO ENSAIO DE PROFICIÊNCIA



Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia - Inmetro

Diretoria de Metrologia Científica e Tecnologia - Dimci

Endereço: Av. Nossa Senhora das Graças, 50 – Xerém – Duque de Caxias

RJ – Brasil – CEP: 25250-020

E-mail para contato: pep-inmetro@inmetro.gov.br – Telefone: (21) 2145-3002

COMITÊ DE ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO

Adelcio Rena Lemos (Inmetro/Dimci/GT-PEP)

Carla Thereza Coelho (Inmetro/Dimci/GT-PEP)

Jailton Carreteiro Damasceno (Inmetro/Dimci/Dimat)

Jose Ricardo Bardellini da Silva (Inmetro/Dimci/GT-PEP) - Coordenador PEP-Inmetro

Lucas Dias Barros (Inmetro/Dimci/GT-PEP) – sob supervisão

Oleksii Kuznetsov (Inmetro/Dimci/Dimat)

Paulo Roberto da Fonseca Santos (Inmetro/Dimci/GT-PEP)

Sandra Marcela Landi (Inmetro/Dimci/Dimat)

COMITÊ TÉCNICO

Sandra Marcela Landi (Inmetro/Dimci/Dimat)

Jailton Carreteiro Damasceno (Inmetro/Dimci/Dimat)

Eveline de Robertis (Inmetro/Dimci)

SUMÁRIO

1. Introdução	3
2. Materiais e Métodos	3
2.1. Preparação do Item de Ensaio	3
2.2. Caracterização, Homogeneidade e Estabilidade do Item de Ensaio	4
2.2.1. Estudo de Homogeneidade	4
2.2.2. Estudo de Estabilidade	5
2.2.3. Caracterização por DLS	7
2.2.4. Caracterização por MET	9
2.3. Análise Estatística dos Resultados dos Participantes	10
2.3.1. Índice z	10
2.3.2. Índice Zeta (ζ)	11
2.3.3. Valores designados neste EP	12
3. Resultados e Discussão	12
3.1. Caracterização, Homogeneidade e Estabilidade do Item de Ensaio	12
3.2. Resultados dos Participantes	12
3.2.1. Métodos Utilizados pelos Participantes	12
3.2.2. Resultados Reportados pelos Participantes	12
3.2.3. Avaliação de Desempenho dos Participantes	13
3.2.3.1. Índice z	14
3.2.3.2. Índice Zeta (ζ)	15
4. Confidencialidade	17
5. Conclusões	17
6. Participantes	19
7. Referências Bibliográficas	20

1. Introdução

Para a criação de um marco regulatório na área da nanotecnologia é preciso estabelecer métodos padrão de medição de nanomateriais. A realização deste EP coordenado pelo Inmetro visou contribuir para a disseminação de métodos padronizados de medição de tamanho de nanopartículas (NP) utilizando as técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espalhamento de luz dinâmico (DLS). Os participantes tiveram a oportunidade de executar as medições e comparar seus resultados com os valores designados pelo Inmetro, lembrando também que a participação em EP é um requisito da ABNT NBR ISO/IEC 17025 [1].

As nanopartículas de ouro utilizadas no EP apresentaram-se como material ideal para uma primeira rodada de medição nanodimensional por seu formato esferoidal, ótimo para medição com DLS. Além disso, o alto contraste exibido em relação aos filmes usuais para suporte do MET convencional foi outro fator relevante. Os métodos de medição escolhidos para este EP permitem avaliar tanto a qualidade da suspensão das NP no meio líquido, como a qualidade de dispersão das mesmas numa superfície.

Este EP teve como objetivos:

- Avaliar o desempenho de laboratórios para os ensaios propostos;
- Identificar eventuais problemas de medição de tamanho de NP por MET e DLS;
- Contribuir para o aumento da confiança nos resultados das medições de tamanho de NP por MET e DLS nos laboratórios nacionais;
- Contribuir para a melhoria contínua das técnicas de medição de cada laboratório.

2. Materiais e Métodos

2.1. Preparação do Item de Ensaio

Os itens de ensaio foram preparados pela Divisão de Metrologia de Materiais do Inmetro (Dimat). A Dimat também foi responsável pelo envase e pelos estudos de homogeneidade, estabilidade e caracterização das amostras (conforme ABNT ISO GUIA 35:2012 [2]) que foram fornecidas como item de ensaio.

Os itens de ensaio foram envasados em frascos de vidro transparente, contendo aproximadamente 5 mL de uma suspensão de nanopartículas de ouro em suspensão, de cor vermelho claro, identificado com um rótulo com o nome do EP.

2.2 Caracterização, Homogeneidade e Estabilidade do Item de Ensaio

2.2.1 Estudo de Homogeneidade

Para o estudo da homogeneidade foram escolhidas aleatoriamente 13 unidades do lote produzido. A homogeneidade das amostras foi avaliada por análise de variância (ANOVA). As amostras foram analisadas por DLS em condições de repetibilidade (mesmos analistas, condições de laboratório, equipamentos e insumos). As amostras foram analisadas em ordem aleatória. Cada amostra foi analisada em 3 alíquotas.

A incerteza da homogeneidade (u_h) foi obtida considerando-se o maior valor entre o desvio-padrão entre as amostras (s_{entre}) calculado pela equação 1, e a incerteza associada ao método de medição calculada pela equação 2.

$$u_h = s_{\text{entre}} = \sqrt{\frac{MQ_{\text{entre}} - MQ_{\text{dentro}}}{n}} \quad (1)$$

$$u_h = \sqrt{\frac{MQ_{\text{dentro}}}{n}} \cdot \sqrt{\frac{2}{df_{\text{dentro}}}} \quad (2)$$

Onde:

MQ_{entre} é a média quadrática obtida entre os frascos;

MQ_{dentro} é a média quadrática obtida dentro dos frascos;

n é o número de replicatas das amostras;

df_{dentro} representa o número de graus de liberdade de MQ_{dentro} .

Os parâmetros MQ_{entre} , MQ_{dentro} e df_{dentro} foram obtidos por meio da análise de variância (ANOVA) de fator único.

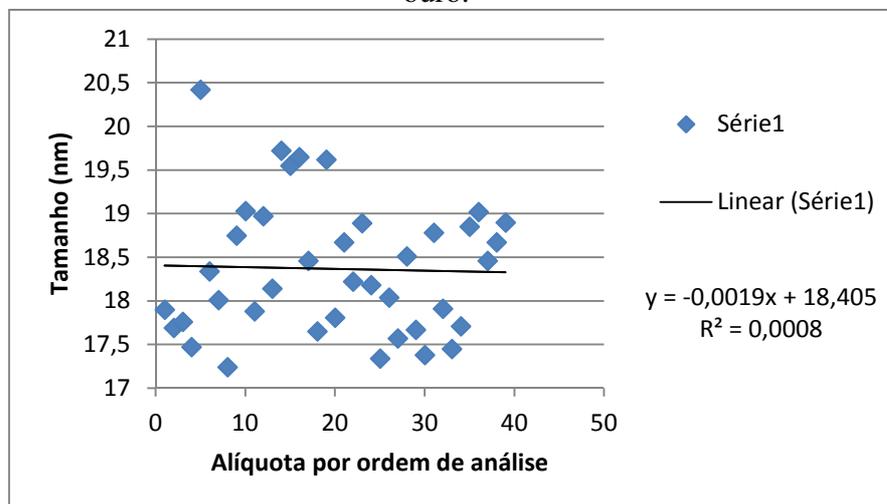
A partir do cálculo da incerteza inerente à homogeneidade do lote é necessário se fazer uma avaliação percentual dessa incerteza de modo a se obter o grau de não homogeneidade (% H), que é expresso pela equação 3.

$$(\% H) = \frac{u_h}{\bar{x}} 100 \quad (3)$$

Onde \bar{x} é o valor médio das medições no estudo da homogeneidade.

Na figura 1 é apresentada a dispersão dos resultados do estudo de homogeneidade.

Figura 1 – Dispersão dos resultados do estudo de homogeneidade da suspensão de nanopartículas de ouro.



Fonte: Dimci/Dimat

A homogeneidade do material apresentou grau adequado para o parâmetro atribuído. A contribuição da incerteza da homogeneidade foi de 1,3 %.

A regressão linear aplicada à dispersão dos resultados resultou em um valor $p = 0,86$, indicando que, para um nível de confiança de 95 % ($\alpha = 0,05$), a inclinação não é estatisticamente significativa ($p > \alpha$).

2.2.2 Estudo de Estabilidade

Os testes de estabilidade foram realizados sob condições de transporte (4 °C e 50 °C) e armazenamento (22 °C). O modelo clássico foi aplicado ao estudo de estabilidade de curta duração. No estudo de longa duração somente a temperatura de armazenamento foi estudada. A estabilidade das amostras foi avaliada por análise de variância (ANOVA).

Para o estudo de estabilidade de curta duração as amostras foram selecionadas aleatoriamente. Oito frascos foram colocados na geladeira e mantidos na temperatura de (4 ± 5) °C. Oito frascos foram colocados na estufa e mantidos na temperatura de (50 ± 5) °C. Oito frascos foram selecionados aleatoriamente do restante do estoque que estavam mantidos na temperatura de armazenamento (22 ± 5) °C. Dois frascos armazenados em cada condição eram escolhidos aleatoriamente a cada 15 dias

para serem analisados por DLS após estabilização na temperatura ambiente. Na figura 2 estão apresentados os resultados do estudo de estabilidade de curta duração com os valores das medições.

Como pode ser observado na equação ajustada pelo método dos mínimos quadrados, o coeficiente angular indica que a variação ao longo do tempo não apresenta uma tendência de aumento significativa.

A incerteza referente à estabilidade de curta duração foi calculada de acordo com a equação 4.

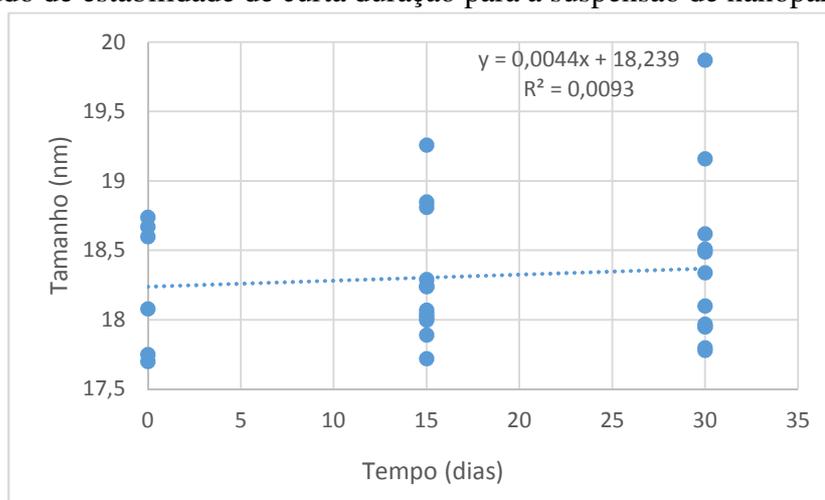
$$u_{ec} = e_{tempo} \cdot tempo(estudo) \quad (4)$$

Onde:

u_{ec} é a contribuição de incerteza do estudo de estabilidade;

e_{tempo} é o erro-padrão referente ao coeficiente angular.

Figura 2 – Estudo de estabilidade de curta duração para a suspensão de nanopartículas de ouro.

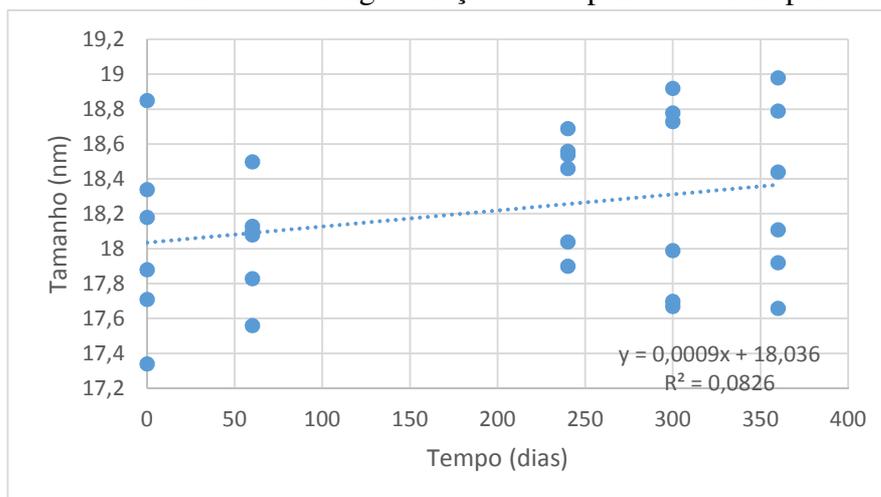


Fonte: Dimci/Dimat

Para o estudo de estabilidade de longa duração foram analisadas três alíquotas de duas amostras a cada 2 meses a partir do sexto mês da produção do material. Os frascos estavam armazenados em uma temperatura de aproximadamente 22 °C. Na figura 3 são apresentados os resultados referentes ao estudo de estabilidade de longa duração.

Como pode ser observado na equação ajustada pelo método dos mínimos quadrados, o coeficiente angular indica que a variação ao longo do tempo não apresenta uma tendência de aumento significativa. O valor p encontrado para a regressão ($p = 0,12$) indica que a mesma não é estatisticamente significativa (para um nível de confiança de 95 %, ou $\alpha = 0,05$), de modo que a inclinação é insignificante ($p > \alpha$).

Figura 3 – Estudo de estabilidade de longa duração da suspensão de nanopartículas de ouro.



Fonte: Dimci/Dimat

A incerteza referente à estabilidade de longa duração foi calculada de acordo com a equação 5.

$$u_{el} = e_{tempo} \cdot tempo(estudo) \quad (5)$$

Onde:

u_{el} é a contribuição de incerteza do estudo de estabilidade;

e_{tempo} é o erro-padrão referente ao coeficiente angular.

A contribuição da incerteza referente aos estudos de estabilidade curta e longa duração e a incerteza combinada está apresentada na tabela 1.

Tabela 1 - Contribuição da incerteza referente aos estudos de estabilidade.

Parâmetro	Valor	Unidade
u_{ec}	0,32	nm
u_{el}	0,21	nm
Incerteza Combinada u_e	0,38	nm
Contribuição estabilidade de curta duração	1,7	%
Contribuição estabilidade de longa duração	1,2	%

Fonte: Dimci/Dimat

2.2.3 Caracterização por DLS

O valor atribuído de tamanho por DLS foi obtido por meio do cálculo efetuado a partir da equação 6. O valor da taxa de decaimento, Γ , foi obtido a partir dos dados de coeficiente de difusão fornecidos pelo *software* do equipamento. Para esse estudo foram analisadas 4 amostras em três tipos de cubeta

diferentes em triplicata (para cada cubeta). A incerteza referente à caracterização foi calculada segundo procedimento descrito no ISO Guia 35 usando uma metodologia *bottom-up*.

$$x = \frac{k_B T \left[4\pi n \left(\frac{\text{sen}\theta}{2} \right) \right]^2}{3\pi\Gamma\eta\lambda_0^2} \quad (6)$$

Onde:

k_B é a constante de Boltzmann;

T é a temperatura absoluta (K);

n é o índice de refração do meio da dispersão;

θ é o ângulo de espalhamento com respeito à luz incidente (graus);

η é a viscosidade dinâmica do meio da dispersão (Pa.s);

λ_0 é o comprimento de onda da luz incidente (m);

Γ é a taxa de decaimento.

A incerteza-padrão combinada (u_{VR}) do valor de referência foi avaliada pela combinação quadrática obtida nos estudos de homogeneidade, estabilidade e caracterização, conforme apresenta a equação 7.

$$u_{VR} = \sqrt{u_c^2 + u_h^2 + u_e^2} \quad (7)$$

A incerteza expandida (U) foi expressa como o produto entre a incerteza-padrão combinada e o fator de abrangência (k), para um probabilidade de abrangência de 95 %. Dessa forma, a incerteza expandida é expressa conforme a equação 8.

$$U = k u_{VR} \quad (8)$$

Na tabela 2 estão apresentados o valor atribuído para tamanho por DLS e as respectivas incertezas.

Tabela 2 – Valores atribuídos e suas respectivas incertezas para tamanho por DLS.

Mensurando	Tamanho
Valor médio [nm]	18,2
Incerteza da caracterização u_c [nm]	0,08
Incerteza homogeneidade u_h [nm]	0,23
Incerteza estabilidade u_e [nm]	0,38
Incerteza combinada do mensurando u_{VR} [nm]	0,45

Fonte: Dimci/Dimat

2.2.4 Caracterização por MET

A caracterização por MET foi realizada usando um equipamento *Tecnai G² Spirit* fabricado pela *FEI Company*. As imagens foram adquiridas com uma câmera CCD *SIS Megaview III* (de 1376 × 1032 pixels), usando uma magnificação de 97 k× e uma abertura na lente objetiva de 20 μm.

Os ensaios de MET foram realizados nas partículas depositadas em filmes de carbono suportados em grades de cobre pré-tratadas da seguinte forma:

- Limpeza com plasma na mistura 25 % O e 75 % Ar durante 70 s, utilizando o acessório de blindagem no Plasma *Cleaner* modelo 1020 da *Fischione*.
- Pré-tratamento com *Alcian blue*: cada grade foi deixada sobre uma gota de solução de *Alcian blue* 1 % durante uns cinco minutos e depois limpa em cinco gotas de água ultrapura.

A deposição das NP foi feita usando o método grade sobre gota, e deixando interagir durante cerca de 6 minutos, após o qual a grade era colocada sobre uma gota de água ultrapura durante 30 s.

O mensurando selecionado para a distribuição do tamanho das NP de ouro (Au) foi o diâmetro circular equivalente (ECD), que é calculado a partir das medições das áreas projetadas das NP. As incertezas foram avaliadas usando uma metodologia *Top-Down*. Nesse esquema, a incerteza associada ao valor medido se obtém combinando a incerteza associada à veracidade da medição, que é uma medida da tendência do método, a incerteza associada ao termo aleatório e a incerteza da calibração do instrumento. A incerteza da tendência do método foi avaliada a partir das medições realizadas no MRC FD100–0070 durante o *Inter-laboratory round-robin testing and method comparison* do NANoREG.

Na tabela 3 estão os valores medidos para a média, mediana e moda do ECD (diâmetro circular equivalente) e as incertezas.

Tabela 3 - Valores atribuídos e suas respectivas incertezas expandidas para tamanho por MET.

Mensurando	Média ECD	Mediana ECD	Moda ECD
Valor médio medido [nm]	14,53	14,48	14,47
Desvio padrão [nm]	0,30	0,29	0,30
Incerteza combinada da tendência u_{δ} [nm]	0,72	0,73	0,74
Incerteza da repetição u_r [nm]	0,07	0,07	0,07
Incerteza da precisão intermediária u_{ip} [nm]	0,09	0,08	0,09
Incerteza da calibração u_{cal} [nm] do MET	0,15	0,14	0,14
Incerteza combinada do mensurando u_c [nm]	0,74	0,75	0,76

Fonte: Dimci/Dimat

2.3 Análise Estatística dos Resultados dos Participantes

Para a avaliação de desempenho dos participantes, e seguindo a ABNT ISO/IEC 17043:2011 [3], foi utilizado o teste estatístico *z-score* (z).

Como uma forma de ajudar os participantes a melhorarem os seus procedimentos de avaliação de incerteza de medição, em caráter apenas informativo, também foi avaliado o índice Zeta (ζ) em conjunto com o índice z para os participantes que reportaram a incerteza de medição e o fator de abrangência (ver item 9.6.3, ISO 13528:2015 [4]).

2.3.1. Índice z

O índice z representa uma medida da distância do resultado apresentado por um participante específico em relação ao valor designado do ensaio de proficiência e, portanto, serve para verificar se o resultado da medição de cada participante está em conformidade com o valor designado. O índice z foi calculado conforme a equação 9.

$$z_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sigma_{pt}} \quad (9)$$

Onde,

x_i é o valor resultante das medições do i -ésimo participante. Para o método MET o valor de x_i corresponde à média de 9 (nove) resultados e para o método DLS corresponde à média de 3 (três) valores;

x_{pt} é o valor designado deste EP, considerando-se o valor atribuído pelo Inmetro;

σ_{pt} é o desvio-padrão para o ensaio de proficiência, que nessa rodada equivale a 10% do valor de referência (x_{pt}).

A interpretação do valor do z-score está descrita abaixo:

$|z| \leq 2,0$ - indica desempenho “satisfatório” e não gera sinal;

$2,0 < |z| < 3,0$ - indica desempenho “questionável” e gera um sinal de alerta;

$|z| \geq 3,0$ - indica desempenho “insatisfatório” e gera um sinal de ação.

Nota: O desvio-padrão para o ensaio de proficiência deve ser determinado de acordo com os objetivos do EP. Pode ser extraído, por exemplo, da legislação existente ou do histórico do desvio-padrão dos participantes considerados proficientes em outras rodadas do EP. Como ainda não existe tal histórico no Inmetro, os valores de σ_{pt} serão equivalentes nesta rodada a 10% do valor de referência (x_{pt}).

2.3.2. Índice Zeta (ζ)

O índice Zeta pode ser útil quando um dos objetivos do EP é avaliar a habilidade do participante de produzir resultados próximos ao valor de referência considerando a incerteza declarada [4]. O índice Zeta é calculado de acordo com a equação 10:

$$\zeta_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sqrt{u^2(x_i) + u^2(x_{pt})}} \quad (10)$$

Onde,

x_i é o valor resultante das medições do i -ésimo participante. Para o método MET o valor de x_i corresponde à média de 9 (nove) resultados e, para o método DLS, corresponde à média de 3 (três) valores;

x_{pt} é o valor designado deste EP, considerando-se o valor atribuído pelo Inmetro;

$u(x_i)$ é o valor da incerteza-padrão combinada de x_i obtida pelo i -ésimo participante;

$u(x_{pt})$ é o valor da incerteza-padrão combinada de x_{pt} atribuída pelo Inmetro.

A interpretação do valor do índice Zeta (ζ) para avaliação do desempenho de cada participante é semelhante ao índice z tradicional e está descrita a seguir:

$|\zeta| \leq 2,0$ indica desempenho “satisfatório” e não gera sinal;

$2 < |\zeta| < 3,0$ indica desempenho questionável e gera um sinal de alerta;

$|\zeta| \geq 3,0$ indica desempenho “insatisfatório” e gera um sinal de ação.

2.3.3. Valores designados neste EP

Os valores designados neste EP para as medições de tamanho de NP por DLS e MET estão resumidos na tabela 4 a seguir.

Tabela 4 – Valores designados para as medições de tamanho de NP neste EP por DLS e MET.

Valores	DLS	MET
x_{pt} [nm]	18,2	14,5
σ_{pt} [nm]	1,82	1,45
$u(x_{pt})$ [nm]	0,45	0,8

Fonte: Dimci/Dimat

3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização, Homogeneidade e Estabilidade do Item de Ensaio

Após a caracterização e estudos de estabilidade e homogeneidade descritos na seção 2.2, o item de ensaio foi monitorado periodicamente, analisando-se dois frascos, escolhidos aleatoriamente, em triplicata por DLS. Logo antes do envio do item de ensaio aos participantes, foi realizada uma nova medição por DLS em dois frascos, também escolhidos aleatoriamente entre os vidros destinados ao EP. Depois das medições essas suspensões foram descartadas e os frascos retirados do lote. Os resultados dessas medições foram considerados satisfatórios, pois atenderam às condições de estabilidade do lote.

3.2. Resultados dos Participantes

3.2.1. Métodos Utilizados pelos Participantes

Os participantes do EP utilizaram seus métodos rotineiros de medição.

O protocolo do EP apresentou instruções específicas para os dois métodos de medição, DLS e MET, tais como análise dos dados de tamanho DLS, preparação das grades de MET, aquisição e avaliação das imagens por MET e avaliação da incerteza.

3.2.2. Resultados Reportados pelos Participantes

As tabelas 5 e 6 apresentam, respectivamente para as técnicas de DLS e MET, os valores médios informados pelos participantes para tamanho de NP, bem como as incertezas expandidas e fatores de abrangência, quando informados.

Nota: **Os participantes são identificados nos gráficos, tabelas e textos deste relatório pelos dois últimos algarismos do seu código de identificação.**

Tabela 5 – Resultados dos participantes para a técnica de DLS.

Código do participante	Valor medido [nm]	Incerteza expandida [nm]	Fator de abrangência (k)
04	18,25	–	–
14	20,2	–	–
17	18,41	–	–
27	18,78	–	–
34	18,54	–	–
37	18,27	1,62	2
41	27,43	1,38	2,07
43	17,76	–	–
44	18,76	–	–
48	20,1	2,3	2
51	20,07	–	–
55	18,67	0,68	2,26
57	18,54 ± 0,4 ¹	–	–

¹ O participante 57 declarou o resultado final como 18,54 ± 0,4. Uma vez que não foi especificado o significado do intervalo 0,4 (desvio-padrão, incerteza-padrão, incerteza expandida, outro), além da ausência do fator de abrangência, conforme estabelece o formulário de apresentação de resultados, o comitê técnico optou por não considerar este intervalo.

Fonte: Dimci/GT-PEP

Tabela 6 – Resultados dos participantes para a técnica de MET.

Código do participante	Valor medido [nm]	Incerteza expandida [nm]	Fator de abrangência (k)
29	15,597 ± 0,46 ¹	–	–
53	32,78	–	–
59	14,8	1,8	1,09

¹ O participante 29 declarou o resultado final como 15,597 ± 0,46. Uma vez que não foi especificado o significado do intervalo 0,46 (desvio-padrão, incerteza-padrão, incerteza expandida, outro), além da ausência do fator de abrangência, conforme estabelece o formulário de apresentação de resultados, o comitê técnico optou por não considerar este intervalo.

Fonte: Dimci/GT-PEP

3.2.3. Avaliação de Desempenho dos Participantes

Para a avaliação de desempenho dos participantes, e seguindo a ABNT ISO/IEC 17043:2011, foi utilizado o teste estatístico *z-score* (*z*). Para os participantes que também informaram a incerteza de medição do resultado e o fator de abrangência (*k*), que eram opcionais, também foi utilizado o índice Zeta (ζ) para a avaliação de seu desempenho.

3.2.3.1. Índice z

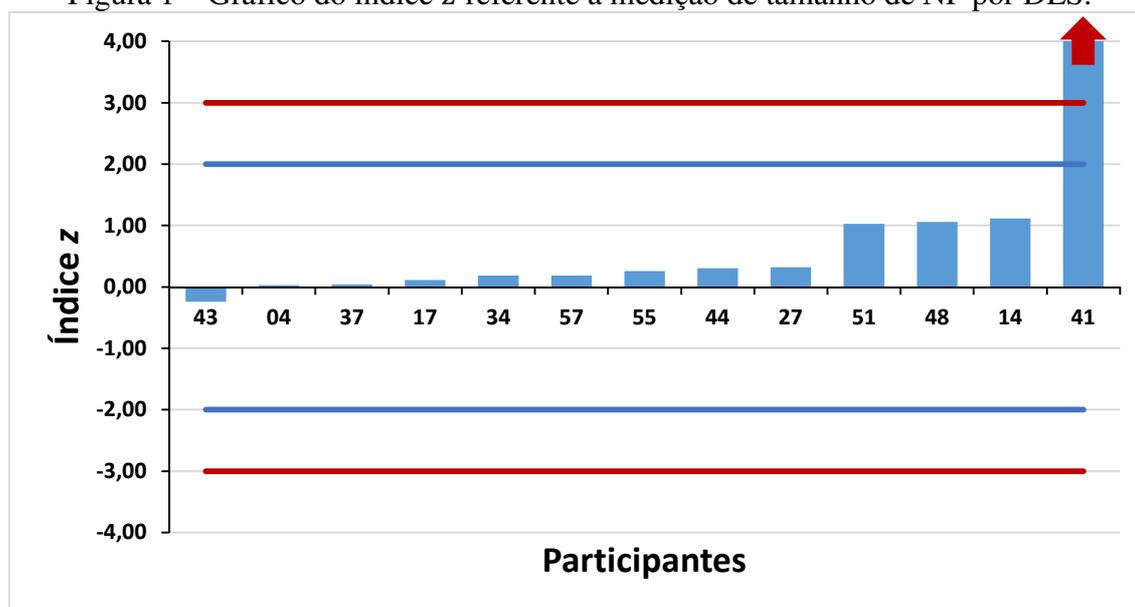
As tabelas 7 e 8, e as figuras 1 e 2, apresentam os resultados do índice z, respectivamente para as técnicas de DLS e MET, para os participantes que tiveram seus desempenhos avaliados por meio deste índice.

Tabela 7 – Resultados do índice z referente à medição de tamanho de NP por DLS.

Código do participante	Índice z
04	0,03
14	1,1
17	0,1
27	0,3
34	0,2
37	0,04
41	5,1
43	-0,2
44	0,3
48	1,1
51	1,0
55	0,3
57	0,2

Resultado satisfatório
 Resultado questionável
 Resultado insatisfatório
 Fonte: Dimci/GT-PEP

Figura 1 – Gráfico do índice z referente à medição de tamanho de NP por DLS.



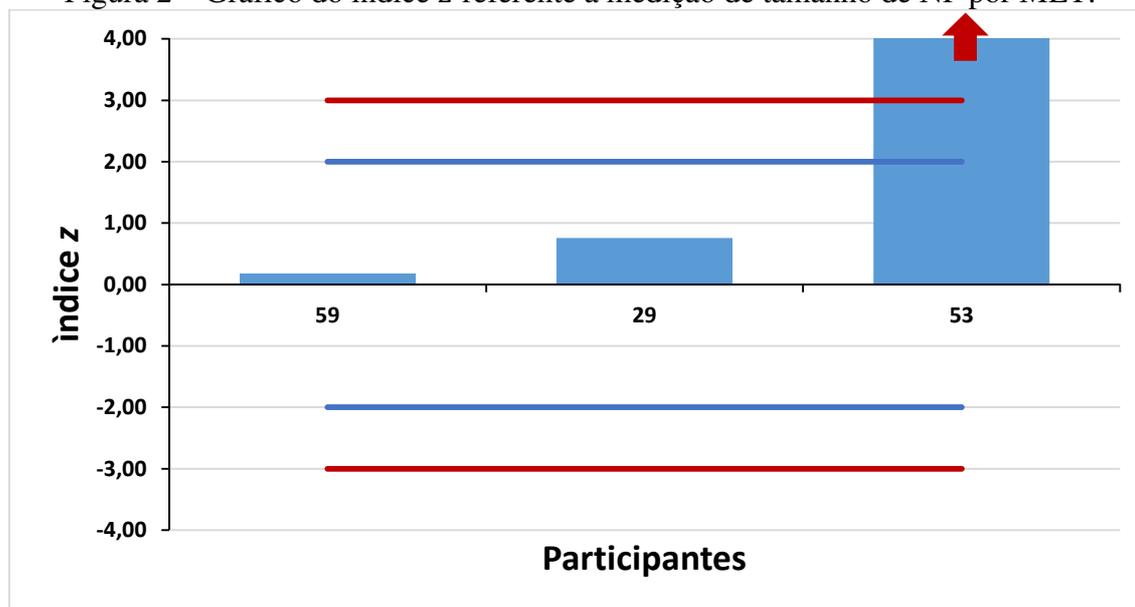
Fonte: Dimci/GT-PEP

Tabela 8 – Resultados do índice z referente à medição de tamanho de NP por MET.

Código do participante	Índice z
29	0,8
53	12,6
59	0,2

Resultado satisfatório
 Resultado questionável
 Resultado insatisfatório
 Fonte: Dimci/GT-PEP

Figura 2 – Gráfico do índice z referente à medição de tamanho de NP por MET.



Fonte: Dimci/GT-PEP

Por meio da análise do gráfico do índice z, pode-se observar que, para a técnica de DLS:

- 1 participante (aproximadamente 8 %) apresentou resultado insatisfatório, ou seja, $|z| \geq 3$;
- Nenhum participante apresentou resultado questionável, ou seja, $2,0 < |z| < 3,0$; e
- 12 participantes (aproximadamente 92 %) apresentaram resultado satisfatório, ou seja, $|z| \leq 2,0$.

Para a técnica de MET:

- 1 participante (aproximadamente 33 %) apresentou resultado insatisfatório, ou seja, $|z| \geq 3$;
- Nenhum participante apresentou resultado questionável, ou seja, $2,0 < |z| < 3,0$; e
- 2 participantes (aproximadamente 67 %) apresentaram resultado satisfatório, ou seja, $|z| \leq 2,0$.

3.2.3.2. Índice Zeta (ζ)

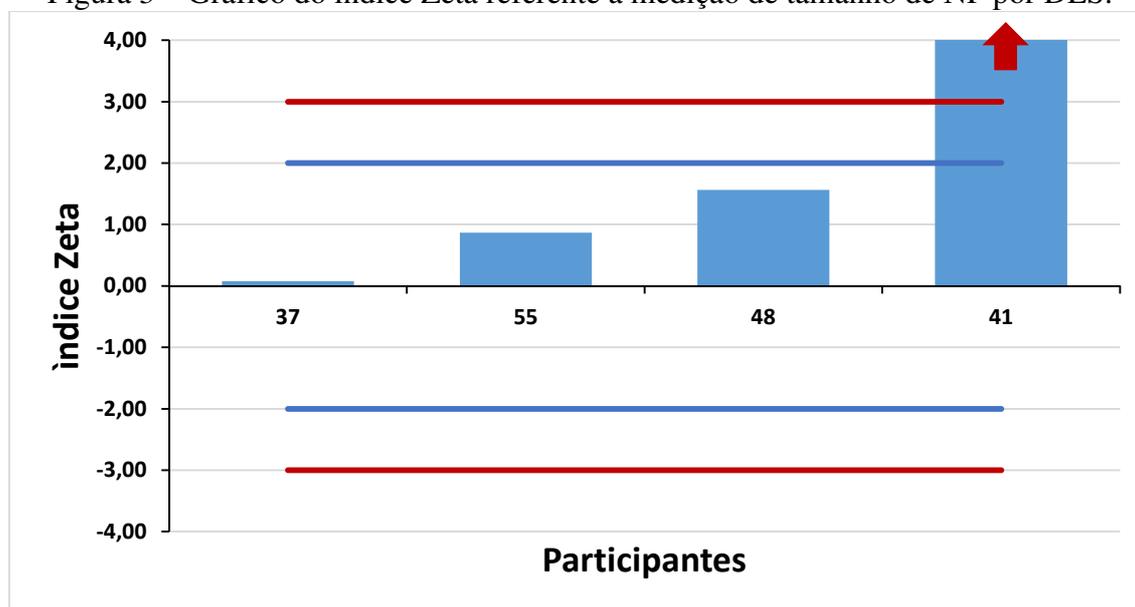
A tabela 9 e a figura 3 apresentam os resultados do índice Zeta para a técnica de DLS obtidos para os participantes que informaram a incerteza de medição do resultado e o fator de abrangência.

Tabela 9 – Resultados do índice Zeta referente à medição de tamanho de NP por DLS.

Código do participante	Índice Zeta
37	0,1
41	11,5
48	1,6
55	0,9

Resultado satisfatório
 Resultado questionável
 Resultado insatisfatório
 Fonte: Dimci/GT-PEP

Figura 3 – Gráfico do índice Zeta referente à medição de tamanho de NP por DLS.



Fonte: Dimci/GT-PEP

Por meio da análise dos gráficos do índice Zeta, pode-se observar que, para a técnica de DLS:

- 1 participante (aproximadamente 25 %) apresentou resultado insatisfatório, ou seja, $|\zeta| \geq 3$;
- Nenhum participante apresentou resultado questionável, ou seja, $2,0 < |\zeta| < 3,0$;
- 3 participantes (aproximadamente 75 %) apresentaram resultado satisfatório, ou seja, $|\zeta| \leq 2,0$.

No caso das medidas pela técnica de MET, apenas um único participante (59) informou a incerteza de medição e o fator de abrangência, obtendo-se neste caso um valor de índice Zeta de 0,1, sendo, portanto, considerado satisfatório.

4. Confidencialidade

Cada participante foi identificado por código individual que é conhecido somente pelo próprio participante e pela coordenação do EP. O participante recebeu, via e-mail, o seu código de identificação correspondente à sua participação no EP. Este código foi utilizado como identificação do participante no preenchimento do formulário de registro de resultados. Os resultados poderão ser utilizados em trabalhos e publicações pelo Inmetro respeitando-se a confidencialidade de cada participante.

Conforme estabelecido no item 4.10.4 da ABNT ISO/IEC 17043:2011, em circunstâncias excepcionais, uma autoridade reguladora pode requerer os resultados do EP ao provedor.

5. Conclusões

Este foi o primeiro ensaio de proficiência em medições dimensionais em nanomateriais realizado pelo Inmetro. Para a técnica de DLS, houve um número razoável de participantes (total de 13). Já para os ensaios realizados pela técnica de MET, a adesão ao EP foi muito baixa (5 inscritos com apenas 3 resultados enviados). Esse fato mostra que possivelmente algum dos fatores como: insegurança na medição, complexidade do método, indisponibilidade de instrumentos ou falta de interesse do participante, ainda pareceu prevalecer. Desta forma, fica evidente que é ainda necessária uma disseminação mais ativa dos métodos padronizados de medição e das vantagens de se ter os laboratórios com a sua competência evidenciada.

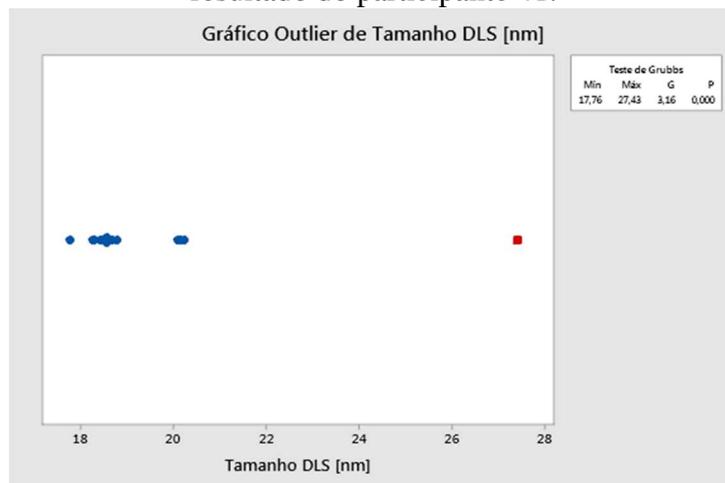
5.1. DLS

Dos treze laboratórios inscritos para a técnica de DLS, todos enviaram seus resultados, dentre os quais apenas 3 não utilizaram equipamentos da Malvern.

O resultado informado pelo participante 41 ficou relativamente discrepante em relação ao valor designado pelo Inmetro e aos resultados dos outros participantes. Um teste estatístico de Grubbs para identificação de valor discrepante (*outlier*) foi aplicado aos dados de todos os participantes e o resultado do participante 41 apresentou-se como valor discrepante com um valor-*p* menor que 10^{-3} , ou seja, com discrepância de valor muito significativa. A figura 4 apresenta graficamente o resultado obtido no teste.

Os participantes 37, 48 e 55 apresentaram os valores das incertezas e descreveram o cálculo das mesmas.

Figura 4 – Gráfico dos valores de tamanho de NP apresentados pelos participantes que usaram a técnica de DLS com o resultado da estatística de Grubbs. O ponto destacado em vermelho representa o resultado do participante 41.



Fonte: Dimci/Dimat

5.2. MET

Dos cinco inscritos para os ensaios utilizando MET, apenas 3 participantes apresentaram resultados. O resultado apresentado pelo participante 57 ficou relativamente discrepante em relação ao valor designado pelo Inmetro. Uma análise realizada pelo comitê técnico deste EP, tomando por base os valores do diâmetro de Feret apresentados na planilha de dados complementares enviada pelo participante, sugere que pode ter havido algum problema com o cálculo do ECD. Recomenda-se nesse caso que seja feita uma revisão desses cálculos. Sugere-se também que o participante realize uma análise crítica de seus resultados, lembrando que os valores de ECD e do diâmetro de Feret geralmente não diferem muito.

O participante 59 foi o único que fez uma avaliação da incerteza de medição e apresentou os valores medidos por dois operadores diferentes e a correspondente contribuição para a incerteza. Este participante informou um valor para o fator de abrangência de 1,09. No entanto, o mínimo valor para o fator de abrangência que pode ser obtido em uma distribuição t para uma probabilidade de abrangência de 95 % é de 1,96 (com um número de graus de liberdade muito elevado). Recomenda-se assim a revisão desses cálculos.

Nenhum dos participantes indicou o método de seleção do marco de medição de acordo com o protocolo do EP (anexo C, parágrafo C3) evidenciando um desvio de protocolo não informado. O participante 59 usou o recurso do programa FIJI/Image J “*exclude on edge*” para excluir da análise as nanopartículas que tocam as bordas das imagens. O marco de medição serve não apenas para excluir as nanopartículas cortadas pelas bordas das imagens, mas também impede uma tendência (viés) no resultado, pois existe

uma probabilidade de que nanopartículas maiores sejam eliminadas, como está explicado na ISO 13322-1 [5].

Os participantes 29 e 59 analisaram *exatamente* 500 e 1000 partículas por grade, respectivamente. Sendo muito improvável obter imagens mantendo um número fixo de partículas, acredita-se que esses participantes tenham seguido algum critério de seleção (ou truncamento de dados), o qual não foi explicado. Ressalta-se que, dependendo qual seja o critério usado, pode-se estar introduzindo uma tendência no resultado final da medição.

Outro desvio de protocolo evidenciado, foi o uso da função *watershed* (participantes 53 e 59) para separar as partículas em contato, embora esteja indicado explicitamente não fazê-lo (anexo C, seção C5). O procedimento solicitado era excluir essas partículas das análises.

Recomenda-se assim aos participantes que mantenham uma maior atenção às instruções de procedimentos e formulários. As explicações apresentadas no formulário ao clicar nas células para digitar os resultados foram muitas vezes ignoradas.

Um equívoco que foi observado em todos os resultados apresentados foi o cálculo da moda usando o algoritmo do Excel e não a partir do gráfico da distribuição como solicitado. Possivelmente, este detalhe poderia ter sido explicado com maior detalhe no protocolo.

O estabelecimento de ações corretivas e a contínua participação em ensaios de proficiência desta natureza são ferramentas de grande contribuição para o aprimoramento das medições realizadas pelos participantes.

Finalmente, deve-se ressaltar a importância da participação dos laboratórios em exercícios de EP, por constituir uma ferramenta útil para monitorar os procedimentos de análises usados na rotina e avaliar os resultados das medições dos laboratórios, tornando-os capazes de desempenhar medições com maior confiabilidade.

6. Participantes

Dezesseis laboratórios se inscreveram na 1ª Rodada do Ensaio de Proficiência em Medição de Nanopartículas, sendo que 1 (um) laboratório informou desistência à coordenação.

A lista dos participantes que enviaram os resultados à coordenação desse EP é apresentada na tabela 10. É importante ressaltar que a numeração da tabela é apenas indicativa do número de participantes no EP, não estando, em hipótese alguma, associada à identificação dos participantes na apresentação dos resultados.

Tabela 10 – Participantes.

Organização	
1.	Associação Pró-Ensino Superior em Novo Hamburgo
2.	Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear - CDTN
3.	Diretoria de Metrologia Aplicada às Ciências da Vida - Inmetro
4.	Embrapa Instrumentação - Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio – LNNA
5.	Fundação Universidade Federal do ABC - UFABC
6.	Instituto de Física de São Carlos
7.	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN/CNEN
8.	Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S /A - IPT
9.	Instituto de Tecnologia em Fármacos
10.	Laboratório de Caracterização de Materiais Instituto SENAI de Inovação em Materiais Avançados e Nanocompósitos - ISI SP
11.	Núcleo Multiusuário de Microscopia da COPPE
12.	Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial - Departamento Regional de Minas Gerais – SENAI DRMG
13.	Universidade Federal de Minas Gerais
14.	Universidade Federal de Pernambuco
15.	Universidade Federal de Santa Catarina

Fonte: Dimci/GT-PEP

Total de participantes: 15.

7. Referências Bibliográficas

[1] ABNT NBR ISO/IEC 17025, Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração, ABNT, Rio de Janeiro, 2005.

- [2] ABNT ISO GUIA 35, Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação, ABNT, Rio de Janeiro, 2012.
- [3] ABNT NBR ISO/IEC 17043, Avaliação de conformidade — Requisitos gerais para ensaios de proficiência, ABNT, Rio de Janeiro, 2011.
- [4] ISO 13528, Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons, ISO, Geneva, 2005.
- [5] ISO 13322-1:2014. Particle size analysis – Image analysis methods – Part 1: Static image analysis methods. 2014, ISO: Geneva, Switzerland.
-



Programa de Ensaio da Proficiência do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – PEP-Inmetro
Av. Nossa Senhora das Graças, 50 – Xerém – Duque de Caxias – RJ – Brasil – CEP: 25250-020
Tel.: +55 21 2679-9745 – www.inmetro.gov.br – E-mail: pep-inmetro@inmetro.gov.br