

## CERTIFICAÇÃO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA CARACTERIZADO PELO SISTEMA PRIMÁRIO DE MEDIÇÃO DE pH

Alberto P. Ordine, Renata M. H. Borges, Paulo P. Borges, Isabel C. S. Fraga, Vanderléa de Souza,  
Júlio C. Dias, Bianca S. R. Marques e Náthaly B. C. de Souza

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - Inmetro  
Diretoria de Metrologia Científica e Industrial - Dimci  
Divisão de Metrologia Química - Dquim  
Av. Nossa Senhora das Graças 50, Xerém, Duque de Caxias, RJ  
e-mail: [ppborges@inmetro.gov.br](mailto:ppborges@inmetro.gov.br)

**Resumo:** A Divisão de Metrologia Química do Inmetro implantou, em 2003, o sistema primário de medição de pH. Este sistema tem a finalidade de fornecer rastreabilidade e confiabilidade às medições de pH no País, uma vez que a medição é uma das mais realizadas nos mais diversos laboratórios. Para alcançar estes objetivos, faz-se necessário o uso de material de referência certificado (MRC), porém este tipo de material apresenta uma grande carência no Brasil. Este trabalho visa apresentar os estudos necessários à certificação de uma solução tampão de pH no valor de 4,00 a 25° C. Na caracterização deste MRC, empregou-se o sistema primário de medição de pH e nos estudos de homogeneidade e estabilidade, foi utilizado um medidor de pH acoplado ao eletrodo combinado de pH. Algumas ferramentas estatísticas como análise de variância (ANOVA), teste de Cochran, de Grubbs e análise de resíduos foram usadas na avaliação dos resultados dos estudos de homogeneidade e estabilidade do material de referência. O material de referência foi certificado com o valor de pH igual a  $4,007 \pm 0,022$ , ( $k = 2$ ; para um nível de confiança de aproximadamente 95%), com prazo de validade de um ano.

**Palavras-chave:** Material de Referência, Certificação, Sistema primário de pH.

### 1. INTRODUÇÃO

A medição de pH é uma das técnicas mais utilizadas nos laboratórios do País, pois é fundamental em diferentes áreas, tais como: saúde, meio ambiente, biotecnologia e no controle de diversos processos industriais. A medição está baseada em princípios físico-químicos e é realizada em grande parte através da técnica potenciométrica. O método potenciométrico é o mais simples, exato e é utilizado nas medições em nível terciário (com eletrodos de vidro), secundário (célula potenciométrica com junção líquida) e primário (célula Harned). Para a correta medição de pH, utilizam-se medidores devidamente calibrados e materiais de referência certificados (MRC), isto é, soluções tampão certificadas. Um material de referência (MR) é, por definição, “um material, suficientemente homogêneo e

estável com relação a uma ou mais propriedades específicas, considerado adequado ao seu uso pretendido em um processo de medição”. O MRC é “um material de referência, caracterizado por um procedimento metrologicamente válido para uma ou mais propriedades específicas, acompanhado de um certificado que fornece o valor da propriedade específica, sua incerteza associada, e uma declaração da rastreabilidade metrológica” [1].

Há tempos atrás, no País, não havia produção de MRC para medição de pH que garantisse a sua rastreabilidade [2]. Com o objetivo de reverter essa situação, a Divisão de Metrologia Química (Dquim) do Inmetro implantou, em 2003, o sistema primário de medição de pH no Laboratório de Eletroquímica [3]. A relevância do sistema primário de medição de pH está em certificar material de referência primário (soluções tampão). A técnica empregada na medição primária de pH leva em consideração as recomendações estabelecidas pelo Grupo de Trabalho em pH da IUPAC [4].

A certificação de um MR é o “procedimento que estabelece o(s) valor(es) de uma ou mais propriedades de um material ou substância por um processo que assegura a rastreabilidade à realização exata das unidades nas quais os valores são expressos, e que levam à emissão de um certificado” [2]. As soluções tampão certificadas através do sistema primário de pH garantirão a rastreabilidade e fornecerão confiabilidade às medições de pH, contribuindo para a melhoria da qualidade de diversos produtos industrializados, o que aumentará a competitividade do País, assegurando uma melhor qualidade de vida aos cidadãos.

Este trabalho tem por objetivo apresentar o processo de certificação de um material de referência para a medição de pH 4,005, a 25,0 °C, bem como avaliação estatística dos dados de homogeneidade e estabilidade do MR realizados de acordo com a *ISO Guide 35* [1] e os procedimentos desenvolvidos no Laboratório de Eletroquímica da Divisão de Metrologia Química do Inmetro.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Preparação do material de referência

Foi utilizada uma balança analítica (AG 285 Mettler Toledo, resolução de 0,01 mg) na pesagem de 51,050 g do sal hidrogenoftalato de potássio (Merck); lote: A297274 126; pureza: 99,5%, que foi inicialmente seco em estufa a 110 °C por 2 horas, e diluído em 5 L de água deionizada purificada pelo sistema Milli-Q (condutividade de 0,054  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ), cuja solução foi pesada em uma balança eletrônica de 12 kg (Toledo, resolução de 2 g).

A seguir, a solução foi colocada em num barrilete de vidro de 5 L e homogeneizada durante 12 horas usando-se um agitador magnético e barra de teflon. Após homogeneização, a solução foi envasada usando-se 25 frascos de polietileno de alta densidade com volume de 200 mL cada. Os frascos receberam rótulos indicando-se a data e uma numeração correspondente à ordem de envase. Os frascos foram bem fechados com tampa de rosca, selados com filme de parafina e estocados em armário, na temperatura do laboratório de aproximadamente 22,0 °C  $\pm$  0,1 °C.

### 2.2. Métodos de medição

O pH das soluções foi determinado utilizando-se o sistema primário de medição de pH, para os estudos de caracterização do MR, e a contribuição da incerteza devido à caracterização foi o valor medido através do sistema primário de medição de pH.

Para os estudos de homogeneidade e estabilidade, o pH da solução foi medido utilizando-se um medidor de pH (Metrohm) acoplado a um eletrodo combinado de pH (Metrohm) e um termômetro de resistência Pt 100 (Metrohm). As medições foram realizadas a 25,0 °C, em um recipiente de vidro encamisado, com circulação externa de água fornecida por um banho termostatizado, responsável pela manutenção da temperatura de medição. Os frascos a serem medidos foram escolhidos de acordo com a tabela de aleatoriedade da norma ASTM E 826 [6] e durante os estudos de homogeneidade e estabilidade, foram selecionadas 4 amostras e realizadas 5 medições em cada amostra, sendo que em cada medição a ordem da leitura das amostras também foi aleatória. Antes de cada medição, a solução do frasco foi homogeneizada manualmente, por agitação, durante 30 segundos. Após a retirada da alíquota a ser medida, o frasco foi bem fechado e estocado no armário. A alíquota a ser medida foi homogeneizada com agitação magnética até que a temperatura atingisse 25 °C e após a medição, a alíquota usada foi descartada.

### 2.3. Avaliação estatística dos dados

Foi realizado um estudo de homogeneidade de modo a dispor de uma análise crítica dos resultados obtidos [7, 8]. Um número superior a 10 garrafas foi estipulado como satisfatório aos testes de homogeneidade realizados de acordo com a norma *ISO Guide 35* [1]. Uma vez que as amostras apresentaram-se homogêneas, realizou-se um

estudo de estabilidade, cujas medições foram conduzidas durante 6 meses. A estabilidade do material foi determinada através da “Análise de Resíduos” dos valores de pH obtidos ao longo do tempo [9].

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, para a caracterização do MR, foi utilizado o sistema primário de pH, cujo método de medição foi apresentado em trabalho anterior [3]. A Tabela 1 apresenta os resultados dos estudos de caracterização realizados no sistema primário de medição de pH, cuja incerteza, referente à caracterização do material, será utilizada como parte da incerteza total necessária à certificação do MR, segundo a norma *ISO Guide 35* [1].

Tabela 1 - Resultados de caracterização do MR.

pH	$U (k = 2; 95\%)*$
4,0079	0,0076
4,0061	0,0075
4,0074	0,0076

\*U = incerteza expandida

Foram utilizados alguns testes estatísticos para a avaliação dos resultados referentes aos estudos de homogeneidade e estabilidade do MR a ser certificado, destacando-se entre eles o teste de Análise de Variância (ANOVA), o de Cochran para verificar a homogeneidade das variâncias, teste de Grubbs para aceitação dos dados, e de análise de resíduos para a estabilidade [9].

O estudo da homogeneidade da amostra é um dos fatores preponderantes para a garantia das propriedades físico-químicas do material estudado. Isto pode ser demonstrado através da homogeneidade do grupo de frascos (unidades) e também através da homogeneidade em cada frasco, pois esta é uma componente a ser incluída na estimativa da incerteza do valor de propriedade do MR.

Os resultados de análise de variância para o estudo de homogeneidade são mostrados na Tabela 2, onde se verifica que o valor encontrado de  $F_{\text{calculado}}$  foi menor que o  $F_{\text{tabelado}}$  para 95% de confiança, o que confirma que não há diferença significativa entre as amostras (garrafas), o que comprova que o material é homogêneo [7].

Tabela 2 - Análise de variância para verificação da homogeneidade do MR.

	SQ*	GL <sup>†</sup>	MQ <sup>#</sup>	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabelado</sub>
Entre garrafas	2,32E-06	3	7,72E-07	0,032	2,839
Nas garrafas	9,63E-04	40	2,41E-05		
Total	9,65E-04	43			

\*SQ = Soma quadrática

†GL = Graus de liberdade

#MQ = Média quadrática

Na norma *ISO Guia 30* [5], a estabilidade está definida como sendo a capacidade do MR em manter o valor de uma determinada propriedade dentro de limites especificados por

um período de tempo pré-estabelecido, quando estocado nas condições especificadas. O estudo de estabilidade visa identificar se há uma repetitividade nas determinações da amostra ao longo do tempo. Esta avaliação pode ser realizada utilizando-se a análise de variâncias em conjunto com a análise de resíduos.

A estabilidade do material foi determinada através da análise de variância dos resíduos dos valores de pH obtidos ao longo do tempo. Este teste consiste em observar se a regressão linear dos valores de concentração apresenta alguma tendência, observada através da inclinação da reta. Se não houver mudança significativa neste parâmetro, o material é considerado estável.

A Tabela 3 apresenta os resultados da análise de variância dos resíduos realizados ao longo de 161 dias nas garrafas escolhidas aleatoriamente. Observa-se que o valor de P da regressão linear é não-significativo, isto é, maior que 0,05, para um nível de confiança de 95%, o que comprova a estabilidade do material

Tabela 3 - Análise de variância dos resíduos para verificar a estabilidade do MR.

	SQ	GL	MQ	F	P
Regressão	7,59E-07	1	7,59E-07	0,04059	0,84543
Residual	0,00015	8	1,87E-05		
Total	0,00015				

Os valores de medição de pH obtidos durante o estudo de estabilidade estão mostrados na Tabela 4, por outro lado, a Figura 1 apresenta em forma gráfica a distribuição dos resíduos. Verifica-se que os resíduos se distribuem aleatoriamente, o que confirma a estabilidade do MR.

Tabela 4 - Resultados de pH obtidos durante o estudo de estabilidade.

Tempo (dia)	Média	Desvio padrão
0	4,0076	0,0003
7	4,0049	0,0002
15	4,0017	0,0004
21	4,0159	0,0007
35	4,0072	0,0003
49	4,0072	0,0003
63	4,0103	0,0012
84	4,0044	0,0013
105	4,0028	0,0007
161	4,0084	0,0010

Observou-se que os valores das medições de pH com eletrodo de vidro (Tabela 4) foram equivalentes aos obtidos pelo sistema primário de medição de pH (Tabela 1), porém com incerteza de 0,0103 mais elevada do que a referente ao sistema primário de medição de pH, de 0,0038 (Tabela 5 a seguir).

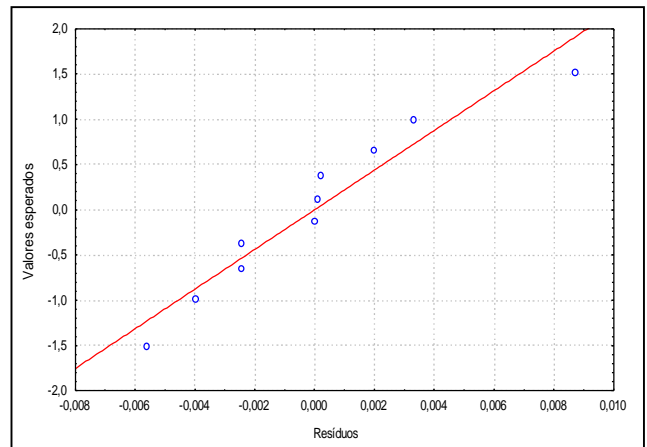


Figura 1 - Gráfico dos valores esperados contra os resíduos obtidos durante o estudo de estabilidade do MR.

A declaração da incerteza no certificado MR está baseada na incerteza combinada multiplicada pelo fator de abrangência,  $k = 2$ , para um nível de confiança de, aproximadamente, 95 % [10]. A Tabela 5 apresenta a planilha do cálculo da estimativa de incerteza para o material de referência certificado estudado, solução tampão pH 4,00, com as principais fontes de incertezas consideradas pelos estudos de homogeneidade, estabilidade (dos certificados do MRC, do certificado de calibração do Pt 100 e da repetitividade das medições) e caracterização pelo sistema primário de medição de pH.

Tabela 5 - Planilha de cálculo da estimativa de incerteza do MRC de pH 4,00 a 25,0 °C.

Fontes de incerteza	Incerteza padrão	Coefficiente de sensibilidade	Contribuição da incerteza
Homogeneidade	0,0028	1	0,0028
Estabilidade	0,0103	1	0,0103
Caracterização	0,0038	1	0,0038
Incerteza combinada			0,011
Incerteza expandida			0,022 ( $k=2$ ; 95%)

#### 4. CONCLUSÕES

A partir dos estudos de estabilidade e homogeneidade do material de referência em pH 4,00 produzido, pode-se considerar o material homogêneo e estável. Estimou-se uma incerteza com base nestes estudos e também na sua caracterização pelo sistema primário de medição de pH. Foi elaborado um certificado para este material e seu valor de referência foi determinado como  $4,007 \pm 0,022$  a 25°C, com validade de um ano. Os estudos de estabilidade continuam a ser realizados no Laboratório de Eletroquímica e este certificado poderá ser revalidado, dada a estabilidade do MR, ampliando o seu prazo de validade. Com a disseminação futura deste MRC, o Inmetro garantirá a rastreabilidade e a confiabilidade das medições de pH realizadas nos laboratórios do País.

## AGRADECIMENTOS

Os autores deste trabalho agradecem ao Inmetro e ao CNPq pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- [1] ISO Guide 35, “Reference materials – General and statistical principles for certification”, ISO, 2006.
- [2] Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia – VIM, Portaria Inmetro 029 de 1995, 3ª edição, Rio de Janeiro, 2003.
- [3] Souza, V., Fraga, I. C. S., Getrouw, M. A., Borges P. P., “Implantação do Sistema Primário de Medição de pH na Divisão de Metrologia Química do INMETRO”. *CD do Metrologia-2003 – Metrologia para a Vida, Sociedade Brasileira de Metrologia (SBM)*, Recife, 2003.
- [4] Buck, R.P. *et al.*, “Measurement of pH. Definition, Standards, and Procedures (IUPAC Recommendations 2002)”, *Pure Appl. Chem.*, v.76, nº 11, pp. 2169-2200, 2002.
- [5] ISO Guia 30, “Termos e definições relacionados a material de referência”, ABNT, 2000.
- [6] ASTM E 826, “Standard Practice for Testing Homogeneity of Materials for Development of Reference Materials”, 1985.
- [7] ISO 5725 - 1 e 2, “Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results”, 1994.
- [8] Linsinger, T.P.J. *et al.*, “Homogeneity and Stability of Reference Materials”, *Accred. Qual. Assur.* v.6, pp.20-25, 2001.
- [9] Souza, N. B. C., “Certificação de Material de Referência para Medição de pH 4,005 a 25 °C”, Monografia do Curso Técnico em Metrologia – Inmetro/SEE-RJ/CECO, Duque de Caxias, 2005.
- [10] Guia para a Expressão da Incerteza de Medição, 3ª edição brasileira – ABNT / Inmetro. SERIFA comunicação, Rio de Janeiro, 2003.