

DETERMINAÇÃO DE FIGURAS DE MÉRITO PARA A METODOLOGIA DE ANÁLISE DE FERRO TOTAL EM ÁGUA

Gabriela Rodrigues Câmara Moura – INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E
TECNOLOGIA/UFAM

Alex Martins Ramos – INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA/UFAM

Valdomiro Lacerda Martins – INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA/UFAM

João Ferreira Reis Neto – INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA/UFAM

E-mail para contato: mouragabi22@gmail.com

Agência Financiadora: FAPPEAM

Eixo Temático: 2.1.1 Ciências Exatas e da Terra

Categoria: comunicação oral

RESUMO

Um método de determinação quantitativo precisa garantir a confiabilidade dos seus resultados. Isto pode ser feito pelo uso de figuras de mérito como linearidade, limites de detecção e quantificação. O objetivo deste trabalho é avaliar a linearidade, os limites de detecção e quantificação da metodologia de determinação de ferro total, visando aplicação em água. Uma solução padrão de sulfato de ferro(II) a 11,0 mg/L foi usada para elaborar uma curva analítica nas concentrações de 0,330 a 1,320 mg/L. Cada réplica foi analisada no comprimento de onda de 510 nm. Os resultados mostraram que o método é linear na faixa de concentração estudada. Os valores dos limites de detecção e quantificação foram de 0,0829 mg/L e 0,251 mg/L, indicando uma sensibilidade razoável, muito embora, seja possível obter valores menores.

Palavras-chave: Água. Figuras de mérito. Ferro.

1. INTRODUÇÃO

A validação é uma etapa fundamental quando se deseja usar uma determinada técnica analítica para realização de medidas químicas, cujo objetivo principal é garantir a confiabilidade instrumental e estatística dos resultados, além de atestar sua eficiência.

Os indicadores de confiabilidade, alcance e eficiência de um método analítico são chamados, na literatura especializada, de figuras de mérito. Nesta categoria estão a seletividade, a linearidade, os limites de detecção e quantificação, a precisão, a exatidão e a robustez (RIBEIRO *et al.*, 2008; PASCHOAL *et al.*, 2018; SKOOG *et al.*, 2014).

A linearidade de um método corresponde a faixa na qual o sinal analítico (no caso deste trabalho, será a absorvância) é proporcional à concentração da substância presente, tanto nas soluções padrão quanto nas amostras. Matematicamente, essa dependência é dada pela curva analítica que, em última análise, é a equação da reta, conforme a Equação 1 (CUSTODIO et al 1997; ICH, 2005; RIBEIRO et al. 2008).

$$y_i = ax_i + b \quad (1)$$

onde y_i é variável dependente, a é o coeficiente angular, x_i é variável independente e b é o coeficiente linear. Um dos métodos mais usados para encontrar os parâmetros a e b é o método dos quadros mínimos (CUSTÓDIO et al., 1997). O ajuste do modelo matemático dado pela Equação 1 a um conjunto de dados experimentais pode ser avaliado pelo coeficiente de correlação (r). Um ajuste ideal fornecerá um valor o mais próximo possível da unidade. A ANVISA(2003) recomenda um valor da ordem de 0,99, mas Cassiano et al. 2009 sugere uma valor de 0,98. Outra maneira de verificar a linearidade é por meio do gráfico dos resíduos, ou seja, a diferença entre o valor calculado e medido da variável y . Caso o gráfico apresente tendências, como por exemplo, os pontos se distribuam em forma de parábola, a relação entre o sinal analítico e quantidade medida não é linear, mesmo que o coeficiente de correlação seja próximo da unidade. O esperado é que ocorra distribuições aleatórias (PASSARI et al., 2011).

O limite de detecção (LD) diz respeito a menor quantidade ou concentração de uma substância presente na amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. Esta figura de mérito pode ser obtida pelo método visual, pelo método da relação sinal/ruído e o pelo método baseado nos parâmetros da curva analítica. Este último será adotado neste trabalho. Matematicamente, o limite de detecção pode ser calculado pela Equação 2 (TAGLIARI et al., 2012; RIBANI et al., 2004):

$$LD = 3,3 \frac{s}{a} \quad (2)$$

onde s é o desvio padrão do sinal analítico (que pode ser o desvio padrão do branco, da regressão linear ou do coeficiente linear) e a o coeficiente angular da curva analítica (ARAGÃO et al., 2009, RIBANI et al., 2004).

O limite de quantificação (LQ) corresponde a menor quantidade ou concentração de um analito que pode ser medida dentro de certo intervalo de precisão e exatidão. A Equação 3 é a expressão matemática do limite de quantificação (ICH, 2005; HAGE e CARR, 2012):

$$LQ = 10 \frac{s}{a} \quad (3)$$

onde os parâmetros **s** e **a** são identificados com os mesmos nomes e mesmos critérios de cálculo que aqueles para o limite de detecção.

A substância a ser quantificada é o elemento químico ferro em amostras de água subterrânea. Este elemento é encontrado em baixas concentrações nesse tipo de matriz de amostra analisadas na região (SILVA e SILVA, 2007) e a técnica analítica normalmente empregada é a espectrofotometria de absorção molecular. Essa técnica é governada pela lei de Lambert-Beer, em que a concentração de uma substância é proporcional a sua absorbância. Na prática, isto é representado pela aparição de cor que vai se intensificando à medida que a concentração aumenta (SKOOG et al., 2014).

Normalmente, a etapa de validação é aplicada às novas metodologias. Porém, se a metodologia for submetida a uma adaptação ou aplicação para qual o seu alcance ainda não foi verificado, é necessário validar (RIBEIRO *et al.*, 2008). Assim sendo, o objetivo deste trabalho é avaliar a linearidade, os limites de detecção e quantificação da metodologia de determinação de ferro total visando sua aplicação em amostras de água subterrânea.

2. METODOLOGIA

2.1 Preparo das soluções

2.1.1. Solução de 1,10-fenantrolina a 0,50%(m/v)

Pesou-se 0,550 g de 1,10-fenantrolina monoidratada (198,22 g/mol) em um becker e adicionou-se 50 mL de água destilada, aquecendo-se até a dissolução completa. Após o resfriamento, transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 100 mL e ajustou-se o volume com água destilada.

2.1.2. Solução estoque de 100 mg/L de Fe(II)

Pesou-se 0,0498 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (278,01 g/mol) em um Becker e dissolveu-se, colocando pequena quantidade de água destilada e 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Transferiu-se para um balão de 100 mL e ajustou-se o volume com água destilada.

2.1.3. Solução tampão de acetato de sódio (1,0 mol/L)/ácido acético (1,0 mol/L)

Pesou-se 34,02 g de $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (136,08 g/mol) em um becker e dissolveu-se, adicionando-se pequenas quantidades de água destilada. Transferiu-se o conteúdo para um balão de 250 mL, acrescentou-se 14,3 mL de ácido acético, ajustando-se o volume da solução com água destilada.

2.1.4. Solução de Cloridrato de Hidroxilamina a 10% (m/v)

Pesou-se 10 g $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (69,49 g/mol) em um Becker e dissolveu-se colocando pequena quantidade de água destilada. Transferiu-se o conteúdo para um balão volumétrico de 100 mL, ajustando-se o volume da solução com água destilada.

2.1.5. Solução padrão de 11,0 mg/L de Fe(II)

Em um balão volumétrico de 25 mL, adicionou-se 3,75 mL da solução estoque de ferro(II), 5,0 mL da solução tampão de acetato de sódio/ácido acético, 5,0 mL da solução de cloridrato de hidroxilamina e 2,5 mL da solução 1,10-fenantrolina, ajustando-se o volume com água destilada.

2.2. Preparo e medição da curva analítica

A partir da solução padrão de Ferro(II) descrita no subsecção 2.1.5, preparou-se a curva analítica, retirando-se alíquotas de volume desta solução e transferindo-se para balões volumétricos de 10 mL nas seguintes concentrações: 0,33; 0,55; 0,77; 0,99 e 1,32 mg/L. Cada solução foi preparada em cinco réplicas. A concentração de cada réplica foi medida no espectrofotômetro UV-5200S, da marca Trade Technology, no comprimento de onda de 510 nm. Por ser na região visível do espectro eletromagnético, utilizou-se cubetas de vidro caso fosse na região do ultravioleta seria necessário cubetas de quartzo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Linearidade

Os resultados da resposta do sinal analítico (absorbância) *versus* concentração de ferro são apresentados na Tabela 1.

A Tabela 1 mostra que alguns valores relativos ao sinal analítico que estão destacados em negrito fornecem um desvio padrão relativamente alto. Estes desvios podem ser resultados de erros sistemáticos, como por exemplo, a medida de um dado padrão em um nível diferente, como é o caso do último valor em negrito

Tabela 1. Medidas de absorvância dos padrões

Nível	Concentração (mg/L)	Absorvância
1	0,33	0,0524
1	0,33	0,0471
1	0,33	0,0489
1	0,33	0,0478
1	0,33	0,0512
2	0,55	0,0684
2	0,55	0,0859
2	0,55	0,0933
2	0,55	0,0916
2	0,55	0,0902
3	0,77	0,1454
3	0,77	0,1377
3	0,77	0,1326
3	0,77	0,1293
3	0,77	0,2002
4	0,99	0,1702
4	0,99	0,1898
4	0,99	0,1889
4	0,99	0,1903
4	0,99	0,1884
5	1,32	0,2530
5	1,32	0,2432
5	1,32	0,2573
5	1,32	0,2423
5	1,32	0,0527

Uma vez que estes desvios podem afetar o ajuste da equação da reta aos dados experimentais e comprometer a linearidade do método, foram descartados dois valores de

cada nível que forneceram as maiores estimativas do desvio padrão do sinal analítico, ou seja, valores que contribuíram para uma maior dispersão dos dados. Assim sendo, a Tabela 1 foi atualizada na Tabela 2.

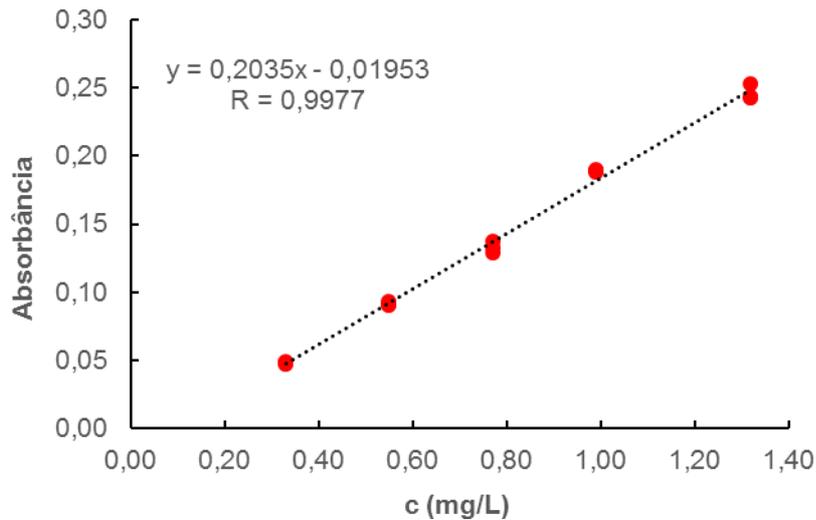
Tabela 2. Medidas de absorvância tratadas

Nível	Concentração (mg/L)	Absorvância
1	0,33	0,0471
1	0,33	0,0489
1	0,33	0,0478
2	0,55	0,0933
2	0,55	0,0916
2	0,55	0,0902
3	0,77	0,1377
3	0,77	0,1326
3	0,77	0,1293
4	0,99	0,1898
4	0,99	0,1889
4	0,99	0,1884
5	1,32	0,2432
5	1,32	0,2530
5	1,32	0,2423

Fonte: Os autores(2018).

Com as informações da Tabela 2, foi possível obter os parâmetros da Equação 1, na qual a variável independente (x_i) é a concentração e variável dependente (y_i) é o sinal analítico dado em unidades de absorvância. Os resultados são apresentados na Figura 1. Por inspeção dessa Figura, nota-se que o modelo descreve razoavelmente bem os dados experimentais, indicando que a relação entre a concentração e o sinal analítico é linear evidenciada pelo coeficiente de correlação de 0,9977. Vários estudos sobre validação de metodologia têm mostrado que um coeficiente linear dessa magnitude é, de fato, resultante de curvas analíticas lineares, ou seja, que a resposta analítica é linearmente proporcional à quantidade de substância (ARAGÃO *et al.*, 2009, RIBANI *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.* 2008; LIMA e FROTA, 2007).

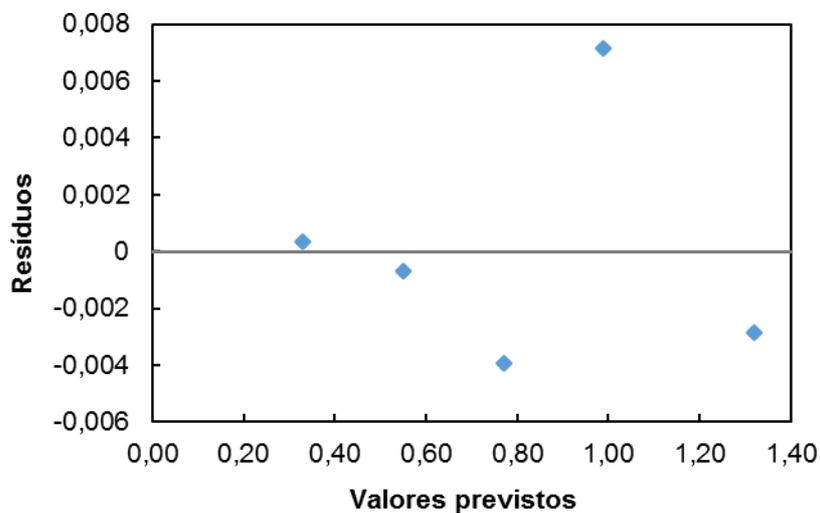
Figura 1. Resultado do ajuste



Fonte: Os autores (2018).

Outra forma de verificar a linearidade é por meio do gráfico dos resíduos apresentados na Figura 2.

Figura 2. Resíduos do modelo linear ajustados aos dados da Tabela 2



Fonte: Os autores(2018).

Segundo Passari *et al.* (2011) nem sempre um ajuste que fornece um coeficiente de correlação próximo à unidade, a relação entre as variáveis será linear. Segundo os autores, o gráfico dos resíduos pode auxiliar no apoio às evidências mostradas pelo coeficiente de correlação. No caso deste trabalho, e por inspeção da Figura 2, confirma-se a linearidade do método pela distribuição aleatória dos resíduos acima e abaixo da linha zero.

3.2. Limites de detecção e quantificação

Esses parâmetros foram calculados a partir das Equações 2 e 3, considerando os resultados do tópico 3.1. Uma informação indispensável nessas duas equações é o desvio padrão da resposta. No caso deste trabalho foi utilizado o desvio padrão da regressão, cujo valor foi de 0,00511 no nível de confiança de 95%. Assim sendo, substituiu-se esse valor nas Equações 2 e 3, que resultou num valor de limite de detecção de 0,0829 mg/L e limite de quantificação de 0,251 mg/L. Nota-se que estes valores estão abaixo da menor concentração da curva analítica, porém, é possível obter valores ainda menores. Por questões de margem de segurança na determinação da concentração de uma substância, principalmente de substâncias reguladas por legislação, recomenda-se que o limite de quantificação seja 5% menor que o teor máximo permitido (MAYNARD, 1990). Sabendo que o teor máximo permitido de ferro em água potável é de 0,300 mg/L conforme a Portaria de Consolidação No. 05/2017- Ministério da Saúde, logo o valor do limite de quantificação encontrado neste trabalho está de acordo com este critério.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O processo de validação de metodologia é fundamental em análise química, não somente em relação a métodos novos, mas também para métodos estabelecidos em situações novas. Quanto ao trabalho apresentado e discutido, os resultados mostraram, no que se refere às figuras de mérito analisadas, que o método de determinação de ferro em água é linear na faixa de concentração estudada, que os limites de detecção e quantificação foram de 0,0829 mg/L e 0,251 mg/L. Embora estes valores sejam adequados do ponto de vista da validação de uma metodologia, acredita-se que valores menores desses limites podem ser obtidos, tornando, portanto, a técnica de espectrofotometria de absorção molecular mais sensível à quantificação de ferro.

Apesar deste trabalho não ter avaliado outras figuras de méritos como a precisão e a robustez, os resultados são promissores e ensejarão determinações mais abrangentes e detalhadas dentro do campo da validação de metodologias analíticas.

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); **Resolução RE nº 899**, de 29 de maior de 2003

ARAGÃO, N. M.; VELOSO, M. C. C.; ANDRADE, J. B. Validação de métodos cromatográficos de análise – um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os princípios da “química verde” na determinação de

metilxantinas em bebidas. **Química Nova**, Vol. 32, No. 9, 2476-2481, 2009.

CASSIANO, N. M.; BARREIRO, J. C.; MARTINS, L. R. R.; OLIVEIRA, R. V.; CASS, Q. B. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**, Vol. 32, No. 4, 1021-1030, 2009.

CUSTÓDIO, R.; ANDRADE, J. C.; AUGUSTO, F. O Ajuste de funções matemáticas a dados experimentais. **Química Nova**, Vol. 20, No. 2, p. 219-225, 1997.

FONSECA, S. G. C.; SILVA, L. B. L.; CASTRO, R. F.; SANTANA, D. P. Validação de metodologia analítica para doseamento de soluções de lapachol por CLAE. **Química Nova**, Vol. 27, No. 1, 157-159, 2004.

HAGE, D. S.; CARR, J. D. **Química Analítica e Análise quantitativa**. São Paulo: Pearson, 2011.

ICH - International Conference on Harmonisation of Technical requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. **Validation of Analytical Procedures: text and methodology**. p. 1 – 13, 2005.

LIMA, I. M. H.; FROTA, M. N. O enfoque da metrologia química em análises toxicológicas na atividade turfística: validação de método analítico para determinação de cafeína em matrizes biológicas. **Química Nova**, Vol. 30, No. 8, 1820-1829, 2007.

Maynard, A. W. Environmental tests: area they valid? **Chemtech**. Vol. 20, p. 151-155, 1990.

PASCHOAL, J. A. R.; RATH, S.; AIROLDI, F. P. S.; REYES, F. G. R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, Vol. 31, No. 5, 1190-1198, 2008.

PASSARI, L. M. Z. G.; SOARES, P. K.; BRUNS, R. E. Estatística aplicada à Química: dez dúvidas comuns. **Química Nova**, Vol. 34, No. 5, 888-892, 2011.

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, Vol. 31, No. 1, 164-171, 2008.

SILVA, M. L.; SILVA, M. S. R. Hidrogeoquímica das águas subterrâneas da cidade de Iranduba (AM), Brasil. **Caminhos de Geografia**, v. 8, n. 22, p. 87-96, 2007.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 9ª Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

SOBRINHO, T. J. S. P.; SILVA, C. H. T. P.; NASCIMENTO, J. E.; MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. vol. 44, n. 4, out./dez., 2008.

TAGLIARI, M. P.; GRANADA, A.; KUMINEK, G. STULZER, H. K.; SILVA, M. A. S. Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação de ácido glicirrízico, ácido salicílico e cafeína em nanopartículas de quitosana e alginato. **Química Nova**, Vol. 35, No. 6, 1228-1232, 2012.