

VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE ANÁLISE PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL EM AMOSTRAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS

Ana Maria Garcia Lima

Aluno de Graduação em Engenharia Química 5º período, UFRJ

Período PIBIC/CETEM: agosto de 2013 a agosto de 2014,

alima@cetem.gov.br

Lillian Maria Borges Domingos

Orientadora, Química Industrial, M.Sc.

ldomingos@cetem.gov.br

1. INTRODUÇÃO

Validar um método analítico consiste em verificar, comprovar e documentar sua validade para um uso definido. O processo de validação é realizado experimentalmente, e sua documentação é guiada pelo Protocolo de Validação. O Laboratório de Especificação de Mercúrio Ambiental (LEMA) do CETEM realiza análises de mercúrio total (HgT) em diversas matrizes ambientais e biológicas, utilizando o método de Espectrometria de Absorção Atômica Zeeman, e sua validação visa atender o item 5.4.5 da norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005.

2. OBJETIVOS

O objetivo do projeto é validar o método de análise para determinação de mercúrio total visando garantir maior confiabilidade aos resultados do laboratório.

3. METODOLOGIA

A validação da metodologia para a determinação de mercúrio total por espectrometria de absorção atômica com destruição térmica utilizando o equipamento Lumex RA-915+ foi realizada com a utilização de material de referência certificado MESS-3 (Marine Sediment) e DORM-4 (Fish), ambos produzidos pela National Research Council Canada. Os critérios usados na validação do método analítico foram: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão, no qual se incluem tendência e repetitividade, seguindo as orientações do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), no DOQ-CGCRE-008 (2011).

3.1. Seletividade

Utilizou-se o MRC MESS-3 (matriz de sedimento) para fazer a curva de calibração, e o MRC, DORM-4 (matriz de peixe) foi avaliado na mesma curva, para demonstrar que o método não sofre efeito de matriz. A concentração certificada do MRC DORM-4 é de (410 ± 55) ng/g.

3.2. Linearidade

Foram realizadas 3 leituras para 5 massas diferentes. Propôs-se um tratamento estatístico através da avaliação dos valores aberrante segundo o teste de Grubs, além a verificação da homocedasticidade dos dados, pelo teste de Cochran, seguida de regressão linear dos dados medidos.

3.3. Faixa de trabalho

Foi aplicado o mesmo procedimento utilizado para validar a Linearidade.

3.4. Limite de detecção

Foi proposta a realização de uma curva inferior à utilizada nos cálculos de linearidade a fim de tentar detectar as menores concentrações de analito.

3.5.Limite de quantificação

Uma curva de valores menores que a usada na linearidade foi feita e seu comportamento foi observado segundo a dependência entre a quantidade de mercúrio e a área lida pelo equipamento.

3.6.Exatidão

É avaliada numericamente através da tendência. Para calculá-la foram utilizados dados de diversas medições feitas dentro da curva analítica da linearidade e foi feita uma média do quanto esses resultados se afastaram do valor do material de referência.

3.7. Precisão

É avaliada pela repetitividade e precisão intermediária.

3.7.1.Repetitividade

Fazendo o uso da curva utilizada para a validação da linearidade, foi calculada a média, a variância, Var; o desvio padrão, DP; o limite de repetitividade, r; assim como o desvio padrão relativo, DPR; para diferentes massas. Este critério é validado se o desvio padrão de cada massa estiver dentro do limite de repetitividade.

3.7.2.Precisão Intermediária

3.7.2.1.Por analistas diferentes

Foram realizadas 3 leituras para cada massa e os valores obtidos foram estatisticamente estudados através do teste de Grubs e pelo método de comparação de amostra em pares.

3.7.2.2.Em diferentes períodos de tempo

O mesmo analista que preparou a curva analítica para a validação da linearidade deve analisar as mesmas massas num dia diferente e no mesmo equipamento para verificar a estabilidade das massas. Os dados obtidos foram avaliados segundo o teste de Grubs e o método de amostra em pares. O critério de aceitação é o mesmo do procedimento acima.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1.Seletividade

Os resultados encontrados para a leitura do MRC DORM-4 encontram-se na Tabela 1:

Tabela 1: Resultados para a leitura do MRC DORM-4

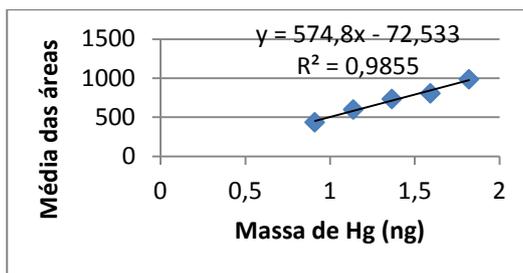
Massa de MRC/ DORM-4 (mg)	Massa de Hg (ng)	C (ng/g)
3,2	1,312	383
3,3	1,353	525
3,5	1,435	398
3,8	1,558	423
3,9	1,599	460
4,5	1,845	333
4,8	1,968	459
4,9	2,009	424

4.2. Linearidade

O método analítico mostrou-se linear, pois além dos resultados positivos para os testes estatísticos, seu R^2 foi de 0,9855, como mostrado no Gráfico 1.

Tabela 2 e Gráfico 2: Resultados do procedimento para linearidade

Massa de MRC	Massa de Hg (ng)	Média das áreas
10,0	0,91	435,67
12,5	1,14	599,00
15,0	1,37	733,67
17,5	1,59	806,00
20,0	1,82	986,00



4.3.Faixa de Trabalho

A faixa de trabalho é de 0,91 ng de Hg até 1,82 ng de Hg.

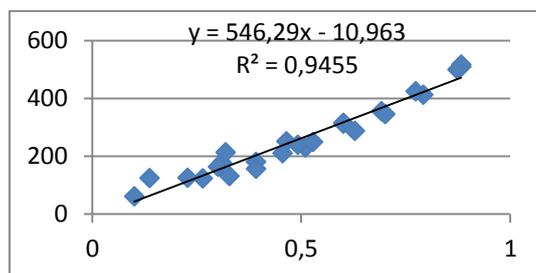
4.4.Limite de Detecção

O limite de detecção encontrado foi de 0,0364ng de Hg, a menor massa que se consegue pesar na balança utilizada é de 0,4 mg.

4.5.Limite de Quantificação

O limite de quantificação é a massa de 0,91 ng de Hg, pois abaixo deste valor, a curva não é linear (Gráfico 2).

Gráfico 2: Resultados do procedimento para Limite de Quantificação. Curva de calibração para valores abaixo de 0,91 ng de Hg



4.6.Exatidão

A recuperação analítica do método foi de 100,29%.

4.7. Precisão

4.7.1.Repetitividade

A Tabela 2 mostra o resultado do procedimento utilizado para avaliação da repetitividade.

Tabela 2: Resultados do procedimento para Repetitividade

massa (mg)	área	Massa (mg)	área	massa (mg)	Área	massa (mg)	área	Massa (mg)	Área
10	436	12,5	597	15	692	17,5	826	20	1020
10	431	12,5	637	15	700	17,5	859	20	938
10	440	12,5	563	15	809	17,5	733	20	1000
Média:	435,67	Média:	599	Média:	733,67	Média:	806	Média:	986
Var:	20,33	Var:	1372	Var:	4272,33	Var:	4269	Var:	1828
DP:	4,51	DP:	37,04	DP:	65,36	DP:	65,34	DP:	42,76
DPR:	1,04	DPR:	6,18	DPR:	8,91	DPR:	8,11	DPR:	4,34
r:	8,77	r:	25,13	r:	33,39	r:	33,38	r:	27,00

4.7.2.Precisão Intermediária

De acordo com as Tabelas 3 e 4, o desempenho dos analistas foi estatisticamente equivalente, assim como em períodos de tempos diferentes.

Tabela 3: Resultados do procedimento para Precisão Intermediária por analistas diferentes.

Massa	Analista 1	Analista 2	Diferença
10	87,00	102,67	-15,67
12,5	95,33	113,33	-18,00
15	97,33	91,33	6,00
17,5	91,67	91,33	0,33
20	98,33	95,67	2,67
Média das diferenças:			-4,93
Desvio Padrão:			15,67
$ t _{\text{calc}} = X_d - 0 \cdot \text{raiz}(n) / S_d$			0,54
Ttab			4,303

Tabela 4: Resultados do procedimento para Precisão Intermediária em períodos de tempo diferentes

Massa	Dia 13/05	Dia 15/05	Diferença
10	87	89	-2
12,5	95,33	102	-6,67
15	97,33	84,33	13
17,5	91,67	86,67	5
20	98,33	92,67	5,67
Média das Diferenças:			3
Desvio Padrão			7,58
$ t _{\text{calc}} = X_d - 0 \cdot \text{raiz}(n) / S_d$			0,69
Ttab			4,303

5. CONCLUSÕES

A validação permitiu quantificar e avaliar experimentalmente a confiança do método analítico usado no Laboratório de Especificação de Mercúrio Ambiental (LEMA), seguindo os critérios do protocolo definidos pelo INMETRO e mostrou-se válido para a determinação de mercúrio total em amostras ambientais e biológicas.

6. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida, à minha orientadora Lillian Maria Borges Domingos pela disponibilidade em ensinar sempre, a minha co-orientadora Zuleica Carmen Castilhos pela oportunidade de aprendizagem e a técnica laboratório Patrícia Araujo por toda ajuda.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 17025:2005 – Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro: ABNT 2005, 31p.

FARIAS, Luciana Aparecida. **Avaliação do conteúdo de Mercúrio, Metilmercúrio e outros elementos de interesse em peixes e em amostras de cabelos e dietas de pré-escolares da Região Amazônica**. 2006. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear - Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-24052007-161122/>>. Acesso em: 2013-07-04.

INMETRO DOQ-CGCRE-008 **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**. 2002. RJ. Brasil.

SÁNCHEZ RODRÍGUEZ, Luz Helena. **Comparación de dos métodos de determinación de mercurio total em cabelo por espectroscopías de absorción atómica com generador de hidruros y diferencial de efecto zeeman com pirolizador**. 2009. Maestría em Toxicología – Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2009. Disponível em: <<http://www.bdigital.unal.edu.co/2524/1/597592.2009.pdf>>. Acesso em: 2014-06-13.