

VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO TOTAL NAS MATRIZES PEIXE E SEDIMENTO

ANALYTICAL METHOD VALIDATION FOR TOTAL MERCURY IN FISH AND SEDIMENT MATRIXES DETERMINATION

Evellyn Juvêncio Conceição Ortega

Aluno de Graduação do 4º período de Bacharel em química, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Período PIBIC ou PIBITI/CETEM: 01/10/2023 a 31 agosto de 2024

@evellynjco@gmail.com

Zuleica Carmem Castilhos

Orientador, Bioquímica, D.Sc.

zcastilhos@cetem.gov.br

Lillian M. Domingos

Co-orientadora, Química Industrial, M.Sc.

ldomingos@cetem.gov.br

RESUMO

Esse trabalho é parte do esforço da equipe do Laboratório de Especiação em Mercúrio Ambiental (LEMA), no atendimento aos requisitos da ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017 (Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração) e tem por objetivo atender ao requisito 7.2.2 que diz respeito à validação de métodos, de forma a garantir que o laboratório forneça resultados confiáveis. A validação foi realizada seguindo as orientações do documento DOQ-CGCRE-008 INMETRO, onde foram validados os critérios: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão, onde estão incluídas tendência e repetitividade. O método analítico foi validado para a técnica de espectrometria de absorção atômica por decomposição térmica (AAS TD) para análise de mercúrio total em amostras ambientais e biológicas. Os resultados obtidos atenderam aos critérios e pode-se comprovar que o método analítico usado pelo laboratório é confiável. Estes resultados são de grande importância na meta de acreditação do LEMA.

ABSTRACT

This work is part of the effort of the Environmental Mercury Speciation Laboratory (LEMA) team, in meeting the requirements of ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017 (General requirements for the competence of testing and calibration laboratories) and aims to meet requirement 7.2.2 regarding the validation of methods, in order to ensure that the laboratory provides reliable results. The validation was carried out following the guidelines of the document DOQ-CGCRE-008 INMETRO, where the following criteria were validated: selectivity, linearity, working range, detection limit, quantification limit and accuracy, which include trend and repeatability. The analytical method was validated for the technique of thermal decomposition atomic absorption spectrometry (AAS TD) for total mercury analysis in environmental and biological samples. The results that were obtained could meet the criteria and it can be proven that the analytical method used by the laboratory is reliable. These results are of great importance in the accreditation goal of LEMA.

1. INTRODUÇÃO

Validar um método analítico é confirmar experimentalmente sua validade para um uso específico, sendo um requisito fundamental em um sistema de gestão de um laboratório de análise química (OLIVARES, 2012; RAMOS, 2018). O Laboratório de Especiação em Mercúrio Ambiental (LEMA) analisa teores de mercúrio total em diferentes matrizes ambientais e biológicas e preza pela qualidade dos resultados analíticos. Para tanto, busca atender aos requisitos da ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017, como forma de implementar um sistema de gestão, garantindo que o laboratório ofereça máxima confiança em suas análises quantitativas de mercúrio.

2. OBJETIVO

O trabalho tem o objetivo de validar o método analítico usando a técnica para a técnica de espectrometria de absorção atômica por decomposição térmica (AAS TD) para análise de mercúrio total em amostras ambientais e biológicas, evidenciando a capacidade do laboratório em realizar resultados confiáveis.

3. METODOLOGIA

A metodologia utilizada para validar o método analítico de espectrometria de absorção atômica com decomposição térmica (AAS TD) no equipamento Lumex RA-915+ na determinação de mercúrio total foi baseada no documento INMETRO DOQ-CGCRE-008 Revisão 09 Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos (2020), fornecido pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) e se utilizou materiais de referência certificados (MRC's). Os critérios usados foram seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão, no qual se incluem tendência e repetitividade. Os experimentos foram realizados a partir do protocolo de validação previamente elaborado.

3.1 Seletividade

Foram criadas duas curvas de calibração utilizando-se dois MRC's: NRPACS-2 (matriz sedimento), com concentração de mercúrio de 3,04 mg/kg e IAEA 436 (matriz peixe), com concentração de mercúrio de 4,19 mg/kg. Esse experimento busca demonstrar se há ou não efeito de matriz interferindo no método. Caso não tenha efeito de matriz, as curvas resultantes devem ter igual inclinação, o que foi testado utilizando o Teste T de Student.

3.2 Linearidade e Faixa de Trabalho

Para esse critério, deve-se demonstrar que quanto maior a massa de mercúrio maior será a área do sinal emitido pelo equipamento. Foi então realizada uma curva de calibração utilizando os MRC's IAEA 433 (matriz sedimento) com baixa concentração de mercúrio, de 0,168 mg/kg e NIST 2711 (matriz peixe) com alta concentração de mercúrio em relação a primeira, de 6,25 mg/kg. A homocedasticidade dos resultados obtidos foi testada estatisticamente pelo teste de Cochran.

3.3 Limite de Detecção

Foram utilizados os dados da curva de linearidade para calcular o valor da menor concentração de mercúrio que pode ser detectada na amostra.

3.4 Limite de Qualificação

Os dados da curva de linearidade foram utilizados para calcular o valor correspondente a menor concentração de mercúrio que pode ser quantificada com exatidão na amostra.

3.5 Tendência e Recuperação

Os materiais de referência certificados (BCR 0357, IAEA 452, IAEA 407, BCR 0357, IAEA 158) foram analisados em triplicatas e tem como objetivo testar a exatidão dos resultados por meio do cálculo de recuperação, ou seja, para saber se os valores estão dentro da faixa de aceitação estabelecida no DOQ-CGCRE 008.

3.6 Repetibilidade

As amostras de peixe LEMA 019 e LEMA 007 foram lidos pelo equipamento por 10 vezes com o objetivo de testar a precisão, ou seja, se os resultados lidos pelo equipamento são estatisticamente iguais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Seletividade

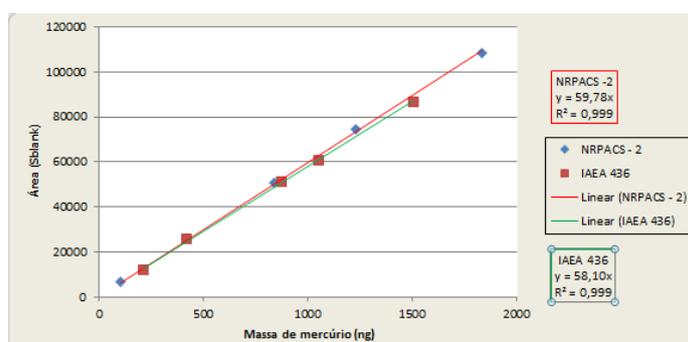


Figura 1: Gráfico de resultados das curvas compostas pelos MRC's NRPACS-2 e IAEA 436.

O coeficiente linear da curva é zero e os coeficientes angulares referentes aos materiais de referência certificados NRPACS-2 e IAEA 436 são, respectivamente, 58,19 e 59,78.

O Teste T de Student foi feito para comprovar estatisticamente que as curvas são iguais baseando se em duas hipóteses: hipótese 1 (diferença entre os pares = 0) e hipótese 2 (diferença entre os pares \neq 0) e teve como resultado 0,003, um valor abaixo do T tabelado que é 2,4, dessa maneira, comprovando a hipótese 1.

4.2 Linearidade e Faixa de Trabalho

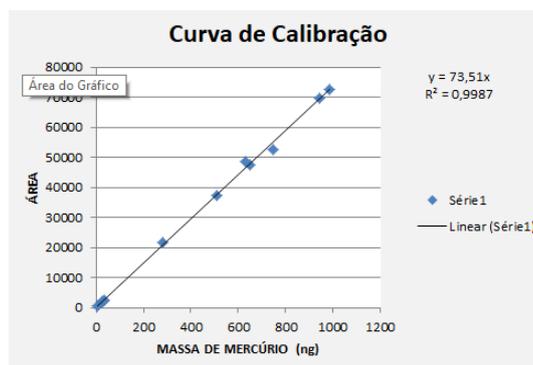


Figura 2: Gráfico de resultados das curvas compostas pelos MRC's IAEA 433 e NIST - 2711.

O gráfico comprova que quanto maior a massa de mercúrio, maior é a área do sinal emitido pelo equipamento.

Também foi realizado o teste de Cochran para verificar se a variância dos dados é constante, ou seja, se os dados são homocedásticos. Para isso foi feito o cálculo de C, baseando-se em duas

hipóteses: hipótese 1 (se C calculado $<$ C tabelado os dados são homocedásticos) e hipótese 2 (se C calculado $>$ C tabelado os dados são heterocedásticos). Ao final, verificou-se a veracidade da hipótese 1. Concluiu-se que, dentro da faixa apresentada no gráfico pode-se trabalhar com segurança, pois os dados são lineares e homocedásticos.

4.3 Limite de Detecção

Com os dados da curva de linearidade, foram feitos cálculos para descobrir qual a menor quantidade de mercúrio que pode ser detectada pelo equipamento e o resultado obtido foi 0,001 mg/kg.

$$LD = \frac{3,3 \times s}{b} \quad (1)$$

Onde, s é o desvio padrão do menor nível da curva analítica e b é a inclinação da curva analítica construída para avaliar a linearidade.

4.4 Limite de Quantificação

Com os dados da curva de linearidade, foram feitos cálculos para descobrir qual a menor quantidade de mercúrio que pode ser detectada e quantificada com exatidão pelo equipamento e o resultado obtido foi 0,002 mg/kg.

$$LQ = \frac{10 \times s}{b} \quad (2)$$

Onde, s é o desvio padrão do menor nível da curva analítica e b é a inclinação da curva analítica construída para avaliar a linearidade.

4.5 Tendência e Recuperação

De acordo com valores tabelados no DOQ-CGCRE 008 para os critérios de aceitação para recuperação, observou-se que a faixa de aceitação para recuperação dos valores lidos era de 80% a 110% e obteve-se os resultados mostrados na Tabela 1, todos dentro da faixa de aceitação.

Tabela 1: Resultados obtidos para recuperação de cada amostra.

Amostra	Recuperação
BCR 0357	105,27
IAEA 452	93,83
IAEA 452	92,67
BCR 0357	103,94
IAEA 452	92,67
IAEA 407	101,17
BCR 0357	97,07
IAEA 158	98,03

4.6 Repetibilidade

Com base em valores tabelados no DOQ-CGCRE 008 para os critérios de aceitação para repetibilidade, comparou-se o desvio padrão relativo com o valor máximo permitido e observou-se que os resultados estavam dentro da faixa de aceitação, sendo aproximadamente metade do valor máximo, demonstrando baixa dispersão dos dados.

Tabela 2: Resultados obtidos para repetibilidade de cada amostra de peixe.

Amostra	Desvio padrão relativo	Valor máximo para o desvio padrão relativo
LEMA 019	13,53	21
LEMA 007	3	7,3

5. CONCLUSÕES

A validação baseada nos critérios definidos pelo DOQ-CGCRE 008 do INMETRO tornou possível a análise experimental da segurança do método que é utilizado para as análises quantitativas de mercúrio total realizadas no Laboratório de Especificação de Mercúrio Ambiental (LEMA) e pode-se provar que o método é válido.

6. AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPQ pela bolsa de iniciação científica, a minha orientadora Zuleica Carmen Castilhos pela minha primeira oportunidade científica na jornada acadêmica e por todo aprendizado e carinho, a minha co-orientadora Lilian Maria Borges Domingos pela disponibilidade em me ajudar no trabalho, com toda compreensão e carinho, e por fim, a Jéssica Zickwolf Ramos por ter me ajudado ao longo de toda pesquisa.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 17025:2017 – Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro: ABNT 2017.

INMETRO DOQ-CGCRE-008 Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos. Revisão 09. 2020. RJ. Brasil.

OLIVARES, I.R.; LOPES, F.A. Essential steps to providing reliable results using the Analytical Quality Assurance Cycle. Trends in Analytical Chemistry, vol. 35, p109-121, 2012.

RAMOS, J.Z., DOMINGOS, L.M.B., CASTILHOS, Z.C. Diretrizes básicas para avaliação da qualidade de resultados analíticos, Rio de Janeiro: CETEM/MCTIC, 2018. (Série estudos e Documentos, 97).