

4 Resultados e Discussão:

Os resultados obtidos são apresentados e discutidos separadamente a seguir, de acordo com o tipo de amostra objeto de análise:

4.1 Análise de amostras para estudos toxicológicos.

Nos subitens a seguir, o processo de validação do procedimento proposto é descrito detalhadamente; em seqüência, este procedimento é comparado com o procedimento de rotina considerado referência. Além disso, as incertezas estimadas e os resultados experimentais para cada procedimento analítico são apresentados e comparados:

4.1.1 Seleção do comprimento de onda

Para a obtenção da sensibilidade máxima da resposta analítica, ao considerar absorciometria molecular, é recomendado que a medida de sinal seja realizada em comprimento de onda que corresponda à máxima absorvância da substância de interesse. Nesse ponto, a variação em absorvância por unidade de concentração é maior, e, além disso, a curva de absorção em função do comprimento de onda é freqüentemente mais plana em um ponto de máximo, o que proporciona uma menor incerteza oriunda de falhas em reproduzir precisamente o comprimento de onda ajustado no instrumento. Conseqüentemente, uma melhor concordância com a lei de Beer é obtida [32].

A partir do espectro de absorção, apresentado na Figura 4.1, foi selecionado o comprimento de onda de 280 nm para a quantificação do imidacloprid. Este comprimento de onda, apesar de apresentar a segunda maior intensidade de absorção, foi escolhido em detrimento ao máximo da primeira banda espectral. A primeira banda se encontra em região próxima a 200 nm, que é sujeita a influência da absorção da maioria dos solventes e se encontra próxima do limite da faixa espectral de operação do instrumento. O espectro apresentado na Figura 4.1 foi produzido a partir de uma solução aquosa com concentração aproximada de 10 mg/L de imidacloprid. Cubetas de quartzo, do tipo normal com abertura superior e tampa, com caminho óptico de 1 cm, foram utilizadas nas determinações espectrofotométricas.

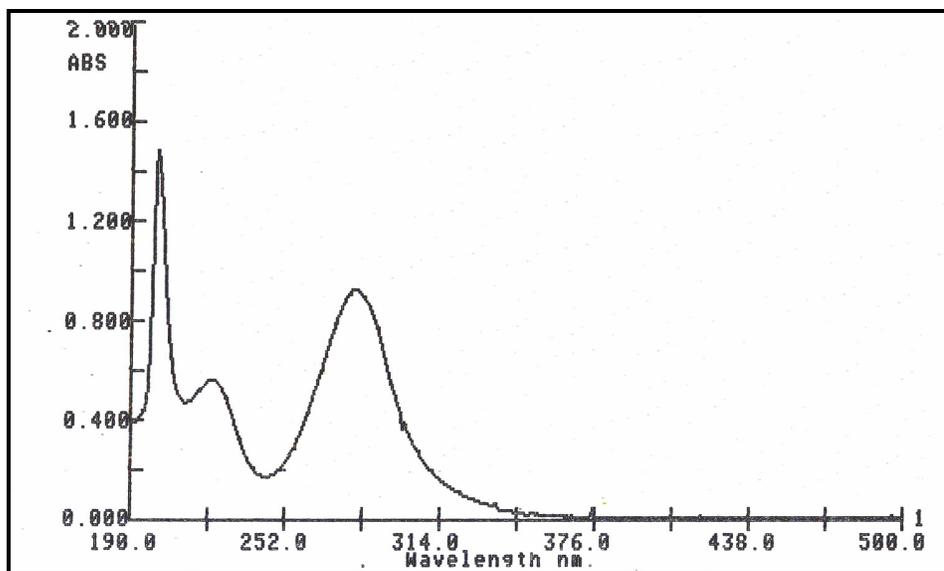


Figura 4.1 Espectro de absorção de imidacloprid (10 mg/L) em solução aquosa.

4.1.2 Estudo de estabilidade do sistema espectrofotométrico.

Para avaliar e comprovar a estabilidade do sistema, uma amostra de imidacloprid em solução, preparada a partir do padrão certificado, com concentração aproximada de 6 mg/L, foi selecionada. A absorvância de alíquotas desta amostra foi determinada, a 280 nm, sendo medida em intervalos regulares ao longo do período de utilização do equipamento. Neste caso utilizou-se água solvente grau 1 na cubeta submetida ao feixe de referência. A avaliação da estabilidade do sistema analítico foi realizada pela construção de gráficos de controle (gráficos de valores individuais - X e de amplitudes variantes - R). Quando o número de dados disponíveis era igual a 15, na data de 11/09/06, os intervalos de controle foram calculados e os respectivos gráficos de controle foram construídos. A partir desta data a estabilidade do sistema analítico foi monitorada sistematicamente. Os resultados são apresentados nas Figuras 4.2 e 4.3.

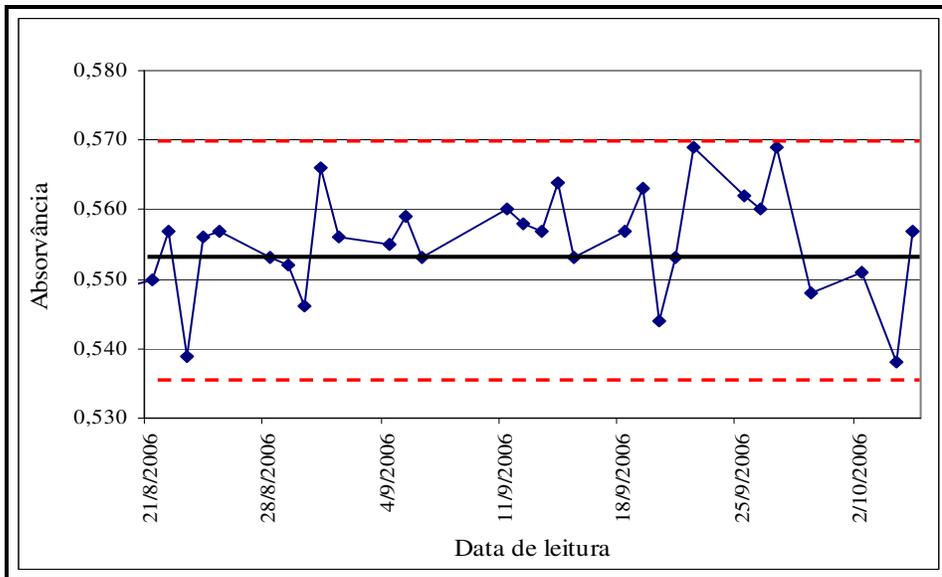


Figura 4.2 Gráfico de controle para valores individuais de absorvância

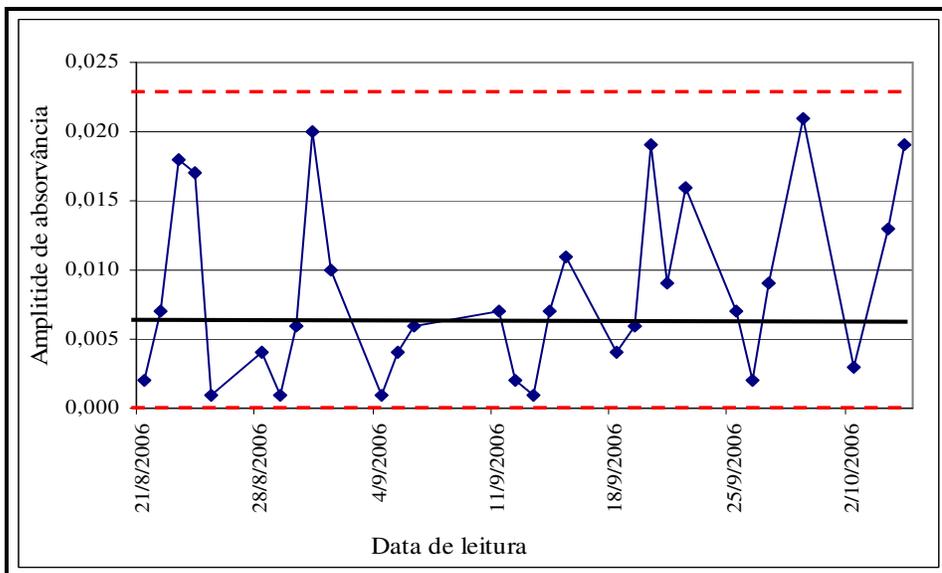


Figura 4.3 Gráfico de controle para amplitudes variantes dos valores de absorvância.

Observando o gráfico de controle para os valores individuais de absorvância, Figura 4.2, é possível notar que durante todo o período de utilização do sistema espectrofotométrico os valores de absorvância obtidos apresentaram-se dentro do intervalo de controle, marcados no gráfico por linhas tracejadas. O valor médio para intensidade de absorvância está representado por uma linha negra contínua e foi estimado em 0,554. Os limites mínimo e máximo de controle foram estimados em respectivamente 0,537 e

0,570, com a utilização da equação 2.1. Pode-se notar também a não ocorrência de qualquer tipo de tendência ou padrão de comportamento, já que todos os pontos parecem estar aleatoriamente dispersos em torno do valor médio estimado.

Da observação do gráfico de controle das amplitudes, Figura 4.3, nota-se que todas as amplitudes variantes observadas apresentam-se dentro do intervalo de controle, representado neste gráfico também por linhas tracejadas. O valor médio estimado para a amplitude de absorvância foi de 0,007. Os limites de controle mínimo e máximo estimados para as amplitudes de absorvância, com a utilização da equação 2.2, foram respectivamente 0,000 e 0,0232. Neste gráfico também notamos a não ocorrência de padrões ou tendências.

A partir destes dados é possível afirmar que o sistema espectrofotométrico apresentou estado de controle estatístico satisfatório durante todo o período no qual foi monitorado.

4.1.3 Linearidade

A absorvância do imidacloprid na faixa de concentração entre 0,5 e 10 mg/L foi avaliada, a partir da utilização de soluções de calibração preparadas a partir de padrão certificado. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.1. A possível existência de valores dispersos foi investigada pela utilização do teste de Grubbs, sendo que nenhum valor disperso foi observado.

Um gráfico preliminar foi construído relacionando a concentração (mg/L) contra a absorvância, Figura 4.4. Pela observação deste gráfico, o ponto de concentração mais elevada parece ainda pertencer à faixa linear. O teste de significância para detecção de curvatura, conceitualmente descrito no item 2.2.5, foi utilizado para confirmar se este ponto pertence à faixa linear.

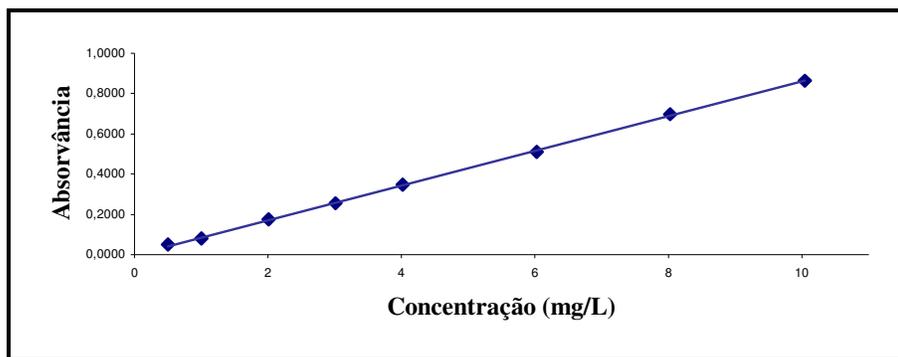


Figura 4.4 Gráfico preliminar para avaliação visual da faixa linear.

Tabela 4.1 Dados obtidos para a curva de calibração do procedimento espectrofotométrico.

Identificação da solução de calibração	Concentração (mg/L)	Absorbância		
		Valores obtidos	Média	Desvio padrão
SPC _A	0,5029	0,047 0,052 0,053 0,052 0,050	0,051	0,0025
SPC _B	1,0036	0,079 0,082 0,080 0,079 0,077	0,079	0,0019
SPC _C	2,0072	0,175 0,174 0,177 0,176 0,174	0,175	0,0014
SPC _D	3,0116	0,256 0,257 0,255 0,252 0,258	0,256	0,0024
SPC _E	4,0154	0,346 0,345 0,344 0,346 0,347	0,346	0,0012
SPC _F	6,0232	0,512 0,517 0,505 0,511 0,510	0,511	0,0045
SPC _G	8,0209	0,690 0,703 0,703 0,698 0,695	0,698	0,0058
SPC _H	10,0386	0,860 0,870 0,858 0,867 0,859	0,863	0,0050

Para calcular o valor do teste estatístico é preciso determinar a equação da reta, pelo método dos mínimos quadrados, excluindo nesta o ponto sob avaliação. Através da utilização da planilha de cálculos do Excel para realização dos cálculos da análise de regressão foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 4.2

Tabela 4.2 Resultados da análise de regressão para a curva de calibração.

<i>Estatística de regressão</i>						
Coeficiente de correlação linear (R)						0,99965
Coeficiente de determinação (R ²)						0,99929
Coeficiente de determinação ajustado						0,99915
Desvio padrão Residual (RSD)						0,00686
Observações (n)						7
<i>ANOVA</i>	<i>ν</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F_{cal}</i>	<i>F significação</i>	
Regressão	1	0,33297	0,33297	7085,59346	4,48443E-09	
Resíduo	5	0,00023	0,00005			
Total	6	0,33321				
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>t</i>	<i>P-Valor</i>	<i>95% inferiores</i>	<i>95% superiores</i>
Coef. Linear (b)	-0,00073	0,00443	-0,16457	0,87573	-0,01213	0,01067
Coef. Angular (m)	0,08626	0,00102	84,17597	0,00000	0,08362	0,08889

Inicialmente, observamos que a relação obtida é estatisticamente significativa por apresentar coeficiente de correlação linear (R) maior que 0,99. A análise de variância confirma também sua significância quando se observa que o valor obtido para estatística F é muito elevado, já que o valor crítico tabelado para esta estatística correspondente, para um nível de significância de 5%, é 6,60789. Foi observado que o coeficiente angular apresentou alta significância estatística (P-Valor << 0,01). Por outro lado, o coeficiente linear não apresentou significância estatística (P-Valor >> 0,05).

A equação estimada da reta foi $Y = 0,08626X - 0,00073$. A partir desta equação calculou-se a estimativa de absorvância para concentração igual a 10 mg/L.

$$\hat{Y} = 0,865$$

A partir desse resultado, o resíduo para o ponto sob avaliação (r_H) foi estimado:

$$r_H = Y - \hat{Y} = 0,863 - 0,865 = -0,002$$

Com a utilização destes valores e da equação 2.8, o teste estatístico foi aplicado.

$$t_{cal} = \frac{r_H}{(RSD) \times \sqrt{\frac{(n+1)}{n}}} = \frac{-0,002}{0,00686 \times \sqrt{\frac{(7+1)}{7}}} = -0,311$$

Trata-se de um teste unilateral, para um nível de significância de 5% e o com número de graus de liberdade igual a cinco ($v = n - 2$); então o valor crítico é: $t_{crit} = 2,015$. O valor calculado para o teste estatístico foi muito menor que o respectivo valor crítico e a hipótese nula, a qual considera a igualdade dos resíduos, não pode ser rejeitada. Conclui-se então que o ponto com concentração igual a 10 mg/L pertence à faixa linear

A repetição do mesmo procedimento foi realizada para testar se o ponto com concentração igual a 20 mg/L pertence à faixa linear da curva. Como o valor obtido para a estatística de teste foi maior que o respectivo valor crítico ($t_{cal} = 21,610$ e $t_{crit} = 1,943$), existe evidência estatística para afirmar que o ponto com concentração de 20 mg/L apresenta resíduos com distribuição significativamente diferente daqueles apresentados pela faixa linear avaliada, e sendo assim, está acima do limite máximo de linearidade.

Por último, o limite inferior da curva foi estimado, mas antes disso, foi preciso avaliar a homogeneidade das variâncias e definir se a passagem da curva pela origem deveria ou não ser forçada. A avaliação da homogeneidade das variâncias foi realizada através do teste de Cochran, definido no item 2.2.4. Ao observar os dados referentes ao desvio padrão para valores de absorvância, na Tabela 4.1, notou-se que o ponto com concentração de 8 mg/L apresenta o maior desvio padrão do conjunto de dados; assim, o teste estatístico foi realizado, utilizando a equação 2.7, para verificar se o modelo linear simples é adequado.

$$H_{cal} = \frac{S_{\max}^2}{\sum S_i^2} = \frac{(0,0057646)^2}{0,0000972} = 0,342$$

O valor crítico de teste foi determinado considerando o nível de significância de 5%, os oito níveis de concentração utilizados na construção da curva de calibração e o número de medidas de absorvância efetuadas em cada nível de concentração, cinco. O valor crítico tabelado é $H_{crit} = 0,391$. Como o valor calculado da estatística é menor que o respectivo valor crítico, a hipótese de igualdade de variâncias não deve ser rejeitada. Sendo assim, pode-se concluir que existe homogeneidade entre variâncias e que o modelo linear simples é adequado.

Como para a relação linear sob avaliação o coeficiente linear não apresentou significância estatística, decidiu-se forçar a passagem da reta pela origem. A curva analítica obtida foi então $Y = 0,0860 X$, onde Y é a absorvância e X é a concentração em mg/L. Na Tabela 4.3 são apresentados os resultados da análise de regressão obtidos pela utilização da planilha de cálculos do Excel.

Tabela 4.3 Resultados da análise de regressão quando a passagem da curva pela origem foi forçada.

<i>Estatística de regressão</i>					
Coeficiente de correlação linear (R)		0,99993			
Coeficiente de determinação (R ²)		0,99986			
Coeficiente de determinação ajustado		0,85700			
Desvio padrão residual (RSD)		0,00583			
Observações (n)		8			
ANOVA	<i>v</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F significação</i>
Regressão	1	1,7169	1,7169	50551,14	5,22367E-13
Resíduo	7	0,0002	3,39E-05		
Total	8	1,7172			
Coeficiente angular (m)	<i>Erro padrão</i>	<i>t</i>	<i>P-valor</i>	<i>95% inferiores</i>	<i>95% superiores</i>
0,0860	0,0004	224,8358	0,00000	0,0852	0,0870

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram estimados, utilizando respectivamente as equações 2.18 e 2.19, a partir do desvio padrão residual da curva de calibração, como detalhado a seguir:

$$L_D = \frac{3 \times RSD}{m} = \frac{3 \times 0,00583}{0,0860} = 0,20 \text{ mg/L}$$

$$L_Q = \frac{10 \times RSD}{m} = \frac{10 \times 0,00583}{0,0860} = 0,68 \text{ mg/L}$$

O limite de quantificação obtido para o procedimento proposto foi considerado aceitável, dada a expectativa de que as amostras de água de concentração mais baixa de imidacloprid estariam na ordem de 1 mg/L.

Ainda pela utilização da lei de Beer, expressa também na forma da equação a seguir, o valor da absorvidade molar do imidacloprid foi obtido:

$$A = \varepsilon C_M b \quad (\text{equação 4.1})$$

Onde A é a absorvância, C_M é a concentração molar (mol L^{-1}), b é o caminho óptico (neste caso igual a 1 cm) e ε é a absortividade molar ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$). As respectivas concentrações molares (C_M) foram calculadas a partir dos dados experimentais apresentados na Tabela 4.1, considerando a massa molar do imidacloprid, que é de 255,7 g, e são apresentadas na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 Concentrações molares de imidacloprid e respectivas absorvâncias.

Concentração (mg/L)	C_M (mol/L)	Absorvância Média
0,5029	2,0E-06	0,051
1,0036	3,9E-06	0,079
2,0072	7,9E-06	0,175
3,0116	1,2E-05	0,256
4,0154	1,6E-05	0,346
6,0232	2,4E-05	0,511
8,0209	3,1E-05	0,698
10,0386	3,9E-05	0,863

A absortividade molar obtida para o imidacloprid, por regressão linear simples, a partir destes dados, foi de $21.945 \text{ L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Observou-se também que o valor experimental calculado para a absortividade molar do imidacloprid é similar ao valor encontrado na literatura ($21.700 \text{ L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) [6].

4.1.4 Estudo de interferências

A existência de interferências espectrais foi avaliada pela comparação dos espectros de varredura de amostras de soluções do material de referência e amostras dos diferentes tipos de matrizes envolvidas. A Figura 4.5 representa simultaneamente os espectros de absorção para estas amostras, obtidos para a faixa de 200 a 350 nm. Observando esta figura, pode-se notar que nenhuma das matrizes apresenta picos de absorção coincidentes com o comprimento de onda selecionado para quantificação do imidacloprid, 280 nm; desta forma, foi confirmada a não existência de interferências espectrais das matrizes.

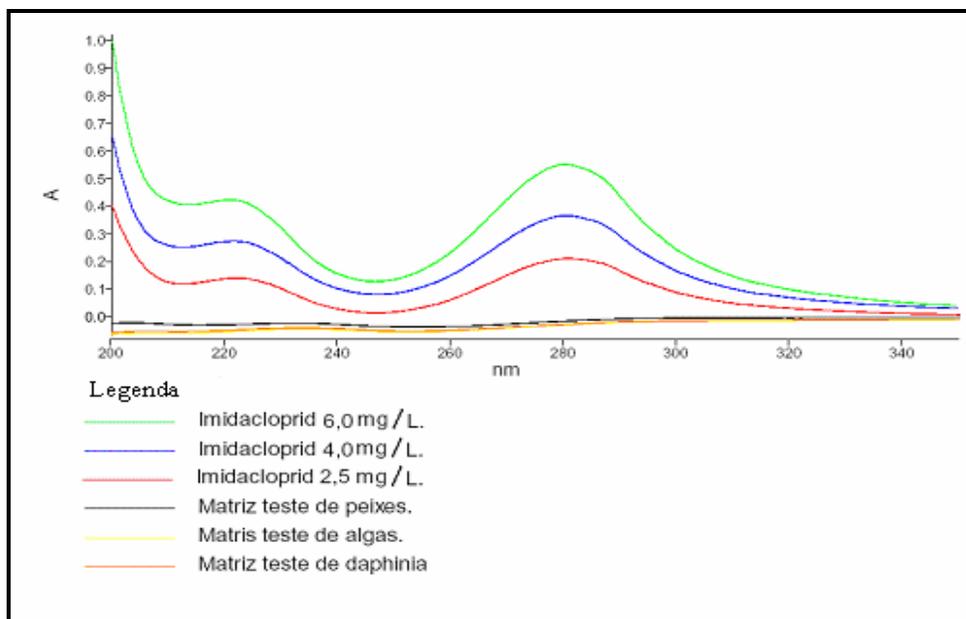


Figura 4.5 Espectro de varredura, 200 a 350 nm, para amostras das matrizes envolvidas e soluções aquosas com diferentes teores de Imidacloprid.

A verificação de ocorrência de interferências multiplicativas foi efetuada através da comparação de curvas de fortificação com a curva de calibração, utilizando o teste de significância detalhadamente descrito no item 2.2.6. Para avaliar a ocorrência destas interferências, selecionou-se uma das matrizes, a água de represa, que é a matriz relativa ao teste de Daphnia, e que foi utilizada como base nos ensaios de fortificação realizados durante a condução do estudo de precisão e exatidão, detalhado no próximo item. Esta matriz foi selecionada por estar disponível em maior quantidade e por apresentar maior concentração iônica comparativamente à matriz utilizada no teste de algas, sendo equiparável, neste aspecto, a matriz utilizada no teste de peixes. Os resultados obtidos, e apresentados na Tabela 4.7, foram utilizados para a construção da curva de fortificação. A Tabela 4.5 apresenta os resultados da análise de regressão para a curva de fortificação.

A equação da curva de fortificação obtida foi $Y = 0,0859X + 0,0027$. Como observado para a curva de calibração, a curva de fortificação também apresentou significância estatística comprovada por seu coeficiente de correlação linear ($R > 0,99$) e pela análise de variância, cujo valor calculado para estatística de teste foi muito elevado. Além disso, para esta curva, o

coeficiente angular foi bastante significativo (p-valor próximo de 0,01) e o coeficiente linear não significativo.

Tabela 4.5 Resultados da análise de regressão para a curva de fortificação.

<i>Estatística de regressão</i>						
Coeficiente de correlação linear (R)						0,9997
Coeficiente de determinação (R ²)						0,9995
Coeficiente de determinação ajustado						0,9990
Desvio padrão residual (RSD)						0,01239
Observações (n)						3
ANOVA	<i>v</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>	
Regressão	1	0,301161189	0,30116119	1962,8046	0,014367058	
Resíduo	1	0,000153434	0,00015343			
Total	2	0,301314623				
	<i>Coeficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>t</i>	<i>P-valor</i>	<i>95% inferiores</i>	<i>95% superiores</i>
Coeficiente linear (b)	0,0027	0,0131	0,2069	0,8701	-0,1641	0,1695
Coeficiente angular (m)	0,0859	0,0019	44,3035	0,0144	0,0612	0,1106

Dando continuidade à comparação, na Tabela 4.6, o conjunto unificado de dados, com a introdução das variáveis de indicação X_2 e X_1X_2 , para compor o modelo não linear múltiplo, é apresentado.

$$Y = \alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_1 X_2$$

Tabela 4.6 Conjunto unificado de dados, obtidos a partir dos dados gerados para as curvas de calibração e fortificação, com introdução de variáveis de indicação.

Y	X_1	X_2	X_1X_2
0,05077	0,5029	1	0,5029
0,07949	1,0036	1	1,0036
0,17500	2,0072	1	2,0072
0,25552	3,0116	1	3,0116
0,34604	4,0154	1	4,0154
0,51084	6,0232	1	6,0232
0,69790	8,0209	1	8,0209
0,86291	10,0386	1	10,0386
0,08429	1,0015	0	0,0000
0,52914	6,0089	0	0,0000
0,85767	10,0149	0	0,0000

As hipóteses envolvidas no teste estatístico foram:

- H_0 : não há diferença entre curva única ou duas retas distintas ($\beta_2 = \beta_3 = 0$)
- H_1 : a curva única é pior que duas retas distintas (pelo menos um dos parâmetros (β_2, β_3) é diferente de zero).

Os dados necessários ao cálculo da estatística de teste pela utilização da equação 2.10, foram obtidos com o auxílio da planilha de cálculos do Excel, e são apresentados a seguir:

$$F_{cal} = \frac{(SQ_{Regn}(X_1, X_2, X_1X_2) - SQ_{Regn}(X_1)) / 2}{QM_{Res}} = \frac{(0,93961331 - 0,93960278) / 2}{0,00005584} = 0,094$$

O valor crítico tabelado da estatística foi obtido para nível de significância igual a 5%, com respectivos 2 e 7 graus de liberdade, sendo $F_{crit} = 6,54$. Como o teste é do tipo bilateral e a tabela disponível era unilateral, o valor requerido correspondeu ao valor tabelado para $\alpha/2=2,5\%$.

O valor calculado para o teste estatístico foi menor que o valor crítico: assim, não foi possível rejeitar a hipótese nula, e logo, conclui-se que não existe efeito multiplicativo de matriz significativo.

4.1.5 Estudo de precisão, exatidão e robustez

Na Tabela 4.7 os resultados experimentais obtidos para o estudo de precisão e exatidão são apresentados. Estes dados experimentais foram obtidos pela realização de ensaios de fortificação em condições de repetitividade. Nesta mesma tabela, nas duas últimas colunas, são apresentados os valores limites estabelecidos em norma [14] para recuperação e para os coeficientes de variação. Além destes, são apresentados os valores estimados para as incertezas padrão devidas à precisão e a exatidão.

Os níveis de concentração selecionados para realização dos ensaios de fortificação foram 1, 6 e 10 mg/L. Sete replicatas para cada ponto foram preparadas e analisadas, em condições de repetitividade, através da adição de analito a alíquotas da matriz selecionada. A matriz selecionada para a realização dos ensaios de fortificação foi a matriz utilizada no teste de Daphnia, como mencionado e justificado no *item 4.1.4*.

Após a obtenção dos resultados pela aplicação do procedimento analítico, a avaliação da existência de valores dispersos foi realizada utilizando o teste de Grubbs, sem apontar qualquer valor disperso.

Os valores calculados para os coeficientes de variação de cada um dos níveis de concentração apresentados na Tabela 4.7, são todos muito inferiores aos limites especificados [14]; sendo assim, estes foram considerados satisfatórios. Já os valores de recuperação obtidos para cada fortificação individual apresentaram variação entre 94 a 104%, estando de acordo com os limites especificados [14], que são para a toda a faixa de concentração avaliada de 80 a 110%. A recuperação global média obtida para o procedimento foi de 100%.

Ainda dentro desta etapa, foram realizados ensaios para determinação da robustez do procedimento analítico. O comprimento de onda selecionado para determinação da absorvância e o pH das amostras foram as variáveis selecionadas.

4.1.5.1 Robustez em função do comprimento de onda.

A avaliação do impacto do comprimento de onda na determinação da concentração de analito foi realizada pela medida de absorvância em comprimentos de onda próximos àquele previamente escolhido (280 nm). O procedimento analítico foi aplicado a diferentes alíquotas de uma amostra, com concentração aproximada de 6 mg/L, a qual foi selecionada para esta avaliação. Os comprimentos de onda utilizados foram: 280, 275, 278, 282 e 285 nm. Um total de cinco leituras de absorvância foi realizado, em cada comprimento de onda. As determinações foram realizadas em ordem aleatória, sorteando-se o comprimento de onda. A banda espectral de passagem do monocromador foi fixada em 1 nm. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.8.

Nas Tabelas 4.09 e 4.10 são apresentados os resultados obtidos com a utilização da planilha de cálculos do Excel, para a opção de análise de variância com um fator, considerando todo o conjunto de dados obtidos.

Tabela 4.7 Resultados experimentais obtidos para os ensaios de fortificação.

Identificação da solução	Volume pipetado (mL)	Volume final de diluição (mL)	Concentração esperada (mg/L)	Absorvância observada a 280 nm	Concentração medida (mg/L)	Recuperação (%)	Estudo de precisão						Limites (NBR-14029)		
							Concentração medida média (mg/L)	Desvio padrão	CV (%)	u_{pr}	u_{rc}	$g_{l_{eff}}$	Recuperação (%)	CV (%)	
B ₁	0,5	100	1,0015	0,085	0,99	99	0,98	0,02	2,34	0,0089	0,0106	11	80 a 110	16	
B ₂	0,5	100	1,0015	0,086	1,00	100									
B ₃	0,5	100	1,0015	0,081	0,94	94									
B ₄	0,5	100	1,0015	0,085	0,99	99									
B ₅	0,5	100	1,0015	0,082	0,95	95									
B ₆	0,5	100	1,0015	0,086	1,00	100									
B ₇	0,5	100	1,0015	0,085	0,99	99									
C ₁	1,0	50	6,0089	0,531	6,17	103	6,15	0,06	0,96	0,0036	0,0106	11	80 a 110	11	
C ₂	1,0	50	6,0089	0,530	6,16	103									
C ₃	1,0	50	6,0089	0,536	6,23	104									
C ₄	1,0	50	6,0089	0,533	6,19	103									
C ₅	1,0	50	6,0089	0,529	6,15	102									
C ₆	1,0	50	6,0089	0,522	6,07	101									
C ₇	1,0	50	6,0089	0,523	6,08	101									
D ₁	0,5	20	10,0149	0,863	10,03	100	10,00	0,12	1,19	0,0045	0,0106	11	11		
D ₂	0,5	20	10,0149	0,861	10,01	100									
D ₃	0,5	20	10,0149	0,843	9,80	98									
D ₄	0,5	20	10,0149	0,862	10,02	100									
D ₅	0,5	20	10,0149	0,859	9,98	100									
D ₆	0,5	20	10,0149	0,878	10,20	102									
D ₇	0,5	20	10,0149	0,858	9,97	100									
Estudo de tendências	Recuperação global média (%) =					100	Legenda: u_p : Incerteza padrão u_c : Incerteza combinada $g_{l_{eff}}$: Graus de liberdade efetivos u_{PR} : Incerteza padrão relativa								
	Desvio padrão =					2									
	n =					21									
	u_{PR} =					0,0053									

Tabela 4.8 Resultados experimentais obtidos para ensaios de robustez com variação do comprimento de onda.

Comprimento de onda (nm)	Concentração (mg/L)						
	Valores obtidos					Média	Desvio padrão
275	6,11	6,01	6,05	6,00	6,05	6,05	0,05
278	6,44	6,36	6,37	6,33	6,38	6,38	0,04
280	6,51	6,39	6,44	6,38	6,44	6,43	0,05
282	6,37	6,28	6,35	6,28	6,32	6,32	0,04
285	6,04	5,93	5,98	5,93	5,98	5,97	0,05

Tabela 4.9 Resumo dos dados obtidos para diferentes comprimentos de onda.

Grupos	n	Soma	Média	Variância
275	5	30,2282	6,0456	0,0021
278	5	31,8775	6,3755	0,0015
280	5	32,1562	6,4312	0,0025
282	5	31,5871	6,3174	0,0017
285	5	29,8682	5,9736	0,0024

Tabela 4.10 Análise de variância (1 fator) para valores obtidos com comprimento de onda de 275, 278, 280, 282 e 285 nm.

Fonte de variação	SQ	v	QM	F _{cal}	P-valor	F _{crit}
Entre grupos	0,8451	4	0,2113	102,9001	4,8104E-13	2,866081402
Dentro do grupo	0,0411	20	0,0021			
Total	0,8861	24				

A homogeneidade das variâncias foi confirmada pela aplicação do teste de Cochran. O valor calculado para a estatística de teste foi menor que o respectivo valor crítico. Os valores obtidos são apresentados a seguir, considerando nível de significância de 5%.

$$H_{cal} = 0,295 \text{ e } H_{crit} = 0,544$$

Na Tabela 4.9, onde é apresentado um resumo dos dados, pode-se notar que os valores médios decrescem do valor central (280 nm) para as extremidades inferior e superior. Já na Tabela 4.10, onde são apresentados os resultados da análise de variância, nota-se que existe efeito significativo, já que o valor da estatística de teste, F_{cal} , é muito elevado, sendo muito superior ao respectivo valor crítico. Quando, no entanto, apenas os valores obtidos para os comprimentos de onda de 280 e 278 nm são comparados, nota-se que os valores médios são próximos. A análise de variância, conforme resultados de cálculos apresentados na Tabela 4.11, a seguir, confirma que não existe diferença significativa entre os valores obtidos para concentração quando estes dois comprimentos de onda são comparados, e sendo assim podemos afirmar que para a faixa de 280 a 278 nm o procedimento analítico é robusto. Foi considerado um nível de significância de 5%.

Tabela 4.11 Análise de variância (1 fator) para valores obtidos com comprimento de onda de 280 e 278 nm.

<i>Fonte de variação</i>	<i>SQ</i>	<i>v</i>	<i>QM</i>	<i>F_{cal}</i>	<i>P-valor</i>	<i>F_{crit}</i>
Entre grupos	0,0084	1	0,0084	3,8272	0,086144848	5,317655063
Dentro do grupo	0,0176	8	0,0022			
Total	0,0260	9				

4.1.5.2 Robustez em função do pH da amostra.

O impacto do pH das amostras sobre o valor de absorvância medido foi determinado. Uma amostra com concentração aproximada de 15 mg/L de imidacloprid foi selecionada. O pH original desta amostra foi determinado em 7,24. A partir desta amostra, utilizando solução tampão de Britton-Robinson* [10], com pH ajustado de acordo com a faixa desejada, foi preparada uma série de amostras com concentração aproximada de 1,5 mg/L. Três replicatas foram preparadas para cada faixa de pH. As amostras avaliadas foram preparadas pela adição de 5 mL da respectiva solução tampão, 1 mL da amostra selecionada (que contem o ingrediente ativo) e foram em seguida avolumadas

* O preparo destas soluções tampão foi realizado a partir da adição de solução 0,04 mol/L de ácido ortofosfórico, 0,04 mol/L de ácido acético, 0,04 mol/L de ácido bórico e da quantidade apropriada de solução 0,2 mol/L de hidróxido de sódio.

para 10 mL com água solvente grau 1. A absorvância (A) de cada amostra, a 280 nm, foi determinada, sendo os resultados obtidos apresentados na Tabela 4.12.

Tabela 4.12 Resultados experimentais obtidos para ensaios de robustez com variação de pH.

Amostra	pH	A
9A	9,0	0,136
9B	9,0	0,120
9C	9,0	0,131
8A	8,1	0,132
8B	8,1	0,118
8C	8,1	0,124
7A	7,0	0,132
7B	7,0	0,114
7C	7,0	0,122
6A	5,9	0,135
6B	5,9	0,131
6C	5,9	0,131
5A	5,0	0,134
5B	5,0	0,119
5C	5,0	0,124
4A	4,1	0,128
4B	4,1	0,121
4C	4,1	0,132

Nas Tabelas 4.13 e 4.14 são apresentados os resultados obtidos pela utilização da planilha de cálculos do Excel para análise de variância - um fator, para todo o conjunto de dados experimentais obtidos:

Tabela 4.13 Resumo dos dados obtidos para diferentes valores de pH.

<i>Nível do fator</i>	<i>n</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
pH =9.0	3	0,387	0,129	6,700E-05
pH =8.1	3	0,374	0,125	4,874E-05
pH =7.0	3	0,368	0,123	8,416E-05
pH = 5.9	3	0,397	0,132	5,333E-06
pH = 5.0	3	0,377	0,126	5,833E-05
pH = 4.1	3	0,381	0,127	3,100E-05

Tabela 4.14 Análise de variância (1 fator) para valores obtidos a diferentes níveis de pH.

<i>Fonte de variação</i>	<i>SQ</i>	<i>v</i>	<i>QM</i>	<i>F_{cal}</i>	<i>P-valor</i>	<i>F_{crit}</i>
Entre grupos	0,0001713	5	3,4257E-05	0,697759471	0,6354322	3,1058747
Dentro dos grupos	0,0005891	12	4,9096E-05			
Total	0,0007604	17				

A homogeneidade das variâncias foi constatada pela aplicação do teste de Cochran. O nível de significância considerado foi de 5%. O valor calculado para o teste estatístico foi menor que o respectivo valor crítico; assim, as variâncias foram consideradas homogêneas. O valor crítico e o valor calculado para este teste estatístico foram $H_{crit} = 0,616$ e $H_{cal} = 0,386$. Pela aplicação da análise de variância, foi demonstrado que o fator pH não apresenta efeito significativo. O valor calculado para o teste estatístico ($F_{cal} = 0,697$) é menor que o respectivo valor crítico ($F_{crit} = 3,11$), o nível de significância considerado foi de 5 %.

4.1.6 Estimativa da incerteza de medição

A estimativa da incerteza de medição para o procedimento de determinação de imidacloprid em soluções aquosas utilizando o procedimento espectrofotométrico foi realizada e está detalhadamente descrita no Apêndice I. No parágrafo a seguir apresentamos a comparação das estimativas de incerteza de medição para o procedimento proposto e o procedimento considerado como de referência. No Apêndice II é apresentada em detalhes a estimativa da incerteza de medição para o procedimento de determinação de imidacloprid em soluções aquosas utilizando técnica de cromatografia líquida (procedimento de referência).

A Figura 4.6 representa graficamente a comparação das incertezas expandidas, em mg/L, para cada um dos procedimentos analíticos envolvidos na quantificação de imidacloprid em soluções aquosas. Pela Figura 4.6, nota-se facilmente que o procedimento baseado em técnica cromatográfica apresenta incertezas menores. Quando, entretanto, levamos em consideração os limites estabelecidos pela norma ABNT NBR 14029 para os coeficientes de variação na faixa de concentração das amostras envolvidas, concluímos que ambos

procedimentos são satisfatórios. A observação da Tabela 4.15 e da Figura 4.7 facilita a compreensão desta afirmativa, os limites estabelecidos pela norma são muito superiores às incertezas estimadas, que estão apresentadas nesta tabela e gráfico como incertezas relativas combinadas (u_{rc}).

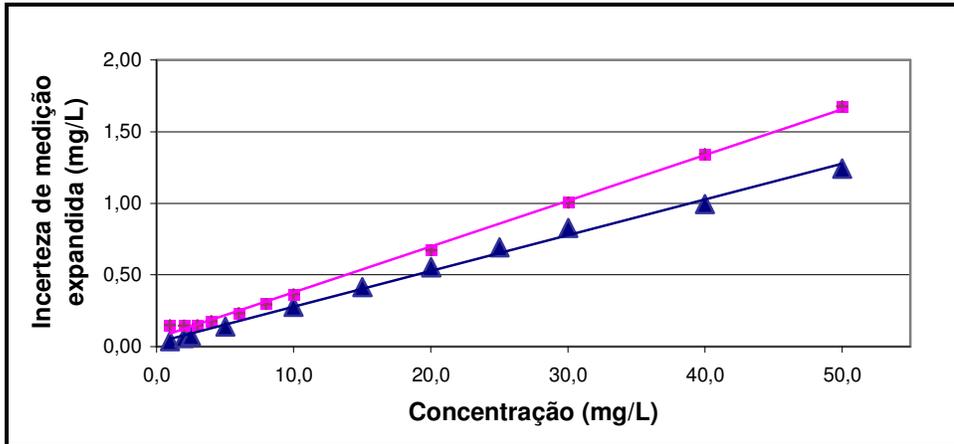


Figura 4.6 Comparação das incertezas expandidas para os procedimentos analíticos de determinação de imidacloprid em soluções aquosas. O nível de confiança de 94,5% foi considerado. (▲ Cromatográfico, ■ Espectrofotométrico).

Tabela 4.15 Comparação das incertezas estimadas e tolerâncias estabelecidas para os procedimentos de determinação de imidacloprid em solução aquosa (IM = incerteza relativa expandida para nível de confiança de 95,45% e u_{rc} = incerteza relativa combinada).

Concentração (mg/L)	Princípio do método				Tolerâncias (NBR-14029)	
	Cromatográfico		Espectrofotométrico		CV%	CV
	IM	u_{rc}	IM	u_{rc}		
1,0	0,04	0,02	0,15	0,06	16	0,16
2,0	0,03	0,01	0,07	0,03	11	0,11
2,5	0,03	0,01			11	0,11
3,0			0,05	0,02	11	0,11
4,0			0,04	0,02	11	0,11
5,0	0,03	0,01			11	0,11
6,0			0,04	0,02	11	0,11
8,0			0,04	0,02	11	0,11
10,0	0,03	0,01	0,04	0,02	11	0,11
15,0	0,03	0,01			11	0,11
20,0	0,03	0,01	0,03	0,02	11	0,11
25,0	0,03	0,01			11	0,11
30,0	0,03	0,01	0,03	0,02	11	0,11
40,0	0,02	0,01	0,03	0,02	11	0,11
50,0	0,02	0,01	0,03	0,02	11	0,11

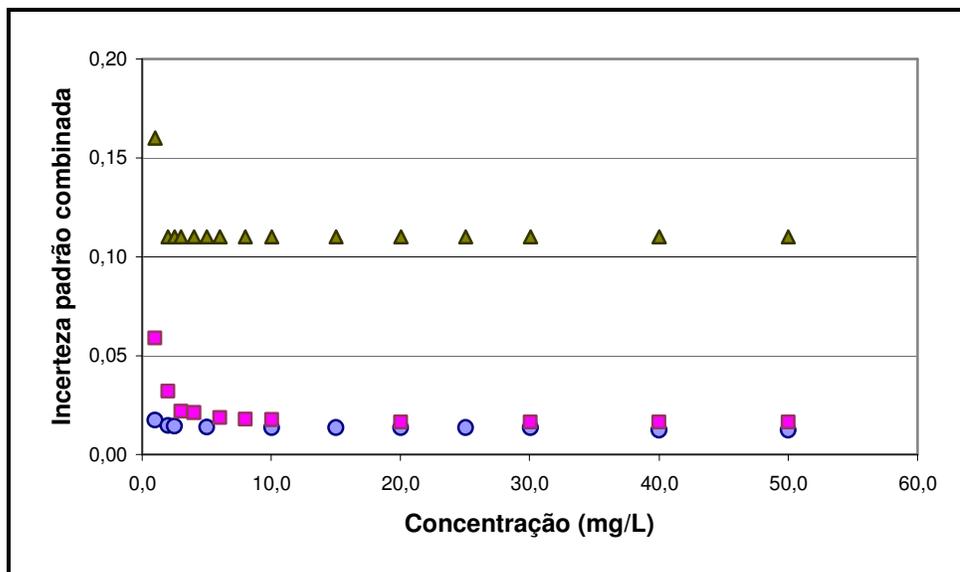


Figura 4.7 Comparação das incertezas estimadas e tolerâncias estabelecidas para os procedimentos de determinação de imidacloprid em solução aquosa. (● Cromatográfico, ■ Espectrofotométrico, ▲ Tolerâncias NBR-14029.)

4.1.7 Comparação experimental com o método padrão

Para concluir o processo de validação do procedimento analítico proposto, foram realizados ensaios que permitiram a comparação direta de resultados experimentais. Nove amostras foram analisadas simultaneamente pela aplicação do procedimento proposto e também pela aplicação do procedimento baseado em técnica de cromatografia líquida. Na Tabela 4.16 os resultados experimentais obtidos são apresentados.

Duas observações foram obtidas a partir da utilização da análise de variância (1 fator) na comparação dos resultados. Primeiro, as variâncias obtidas para cada procedimento são muito próximas. Segundo, os resultados não diferem significativamente, o valor obtido para o teste estatístico ($F_{\text{cal}} = 0,002$) é menor que o respectivo valor crítico ($F_{\text{crit}} = 4,494$ para $\alpha = 5\%$).

Tabela 4.16 Resultados experimentais obtidos pela análise de amostras utilizando os procedimentos proposto e de referência.

A - Procedimento analítico baseado e técnica cromatográfica						
Amostra #	F*	Área do Pico	CV%	Concentração (mg/L)	Concentração média (mg/L)	Desvio padrão
Sol A-1	1	1247,494		12,64		
Sol A-1	1	1246,633	0,049	12,63	12,63	0,01
Sol A-2	1	619,971		6,29		
Sol A-2	1	623,191	0,366	6,32	6,30	0,02
Sol A-3	1	124,458		1,27		
Sol A-3	1	125,976	0,857	1,29	1,28	0,01
Sol B-1	1	1321,068		13,38		
Sol B-1	1	1329,871	0,470	13,47	13,43	0,06
Sol B-2	1	639,809		6,49		
Sol B-2	1	638,409	0,155	6,47	6,48	0,01
Sol B-3	1	2530,650		25,62		
Sol B-3	1	2536,567	0,165	25,68	25,65	0,04
Sol C-1	1	2505,206		25,36		
Sol C-1	1	2494,717	0,297	25,26	25,31	0,08
Sol C-2	1	221,441		2,25		
Sol C-2	1	222,102	0,211	2,26	2,26	0,00
Sol C-3	1	1195,932		12,11		
Sol C-3	1	1174,865	1,257	11,90	12,01	0,15
B - Procedimento analítico baseado em técnica espectrofotométrica						
Amostra #	F*	Absorvância	CV%	Concentração (mg/L)	Concentração média (mg/L)	Desvio padrão
Sol A-1	0,5	0,556		12,92		
Sol A-1	0,5	0,555	0,127	12,90	12,91	0,02
Sol A-2	1,0	0,558		6,48		
Sol A-2	1,0	0,562	0,505	6,53	6,51	0,03
Sol A-3	1,0	0,113		1,31		
Sol A-3	1,0	0,114	0,623	1,32	1,32	0,01
Sol B-1	0,5	0,585		13,60		
Sol B-1	0,5	0,590	0,602	13,71	13,65	0,08
Sol B-2	1,0	0,579		6,73		
Sol B-2	1,0	0,581	0,244	6,75	6,74	0,02
Sol B-3	0,2	0,456		26,50		
Sol B-3	0,2	0,454	0,311	26,38	26,44	0,08
Sol C-1	0,2	0,432		25,10		
Sol C-1	0,2	0,429	0,493	24,93	25,01	0,12
Sol C-2	1,0	0,202		2,35		
Sol C-2	1,0	0,203	0,349	2,36	2,35	0,01
Sol C-3	0,5	0,523		12,16		
Sol C-3	0,5	0,520	0,407	12,09	12,12	0,05

* F→ Fator de diluição

As Tabelas 4.17 e 4.18 apresentam os resultados obtidos pela utilização da planilha de cálculos do Excel, opção ANOVA – 1 fator.

Tabela 4.17 Resumo dos dados experimentais obtidos pela análise de amostras utilizando os procedimentos proposto e de referência.

<i>Princípio do método</i>	<i>n</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Cromatográfico	9	105,3478	11,7053	79,7301
Espectrofotométrico	9	107,0598	11,8955	80,7867

Tabela 4.18 Resultados da análise de variância para os resultados experimentais obtidos na avaliação de amostras pela aplicação dos procedimentos proposto e referência.

<i>Fonte de variação</i>	<i>SQ</i>	<i>v</i>	<i>QM</i>	<i>F_{cal}</i>	<i>P-valor</i>	<i>F_{crit}</i>
Entre grupos	0,1628	1	0,1628443	0,0020	0,9646	4,4939
Dentro dos grupos	1284,1344	16	80,258403			
Total	1284,2972	17				

Na utilização da análise de regressão, pela aplicação do método dos mínimos quadrados, os valores experimentais obtidos para o procedimento proposto foram associados à ordenada (Y), e os valores obtidos para o procedimento padrão foram associados à abscissa (X). A utilização desta ferramenta estatística possibilitou uma comparação mais detalhada dos resultados experimentais inclusive com decomposição da tendência em tendência fixa e tendência proporcional, correspondentes respectivamente aos coeficientes linear e angular da relação obtida. Os resultados desta análise, apresentados na Tabela 4.19, permitiram que as seguintes conclusões fossem obtidas, considerando um nível de significância de 5%: (i) Os resultados obtidos pela utilização dos procedimentos analíticos comparados são altamente correlacionados, por apresentar coeficiente de correlação igual a 0,9995; (ii) A relação existente entre os procedimentos analíticos, $Y = 0,118 + 1,006 X$, apresenta alta significância estatística. A estatística de teste da análise de variância desta regressão é muito superior ao correspondente valor crítico, $F_{cal} = 7271,04$ e $F_{crit} = 5,59$; (iii) O procedimento proposto não apresenta tendência fixa significativa, o coeficiente linear da equação não difere de zero, ou seja, zero pertence ao intervalo de confiança deste coeficiente; (iv) O procedimento proposto não apresenta tendência relativa significativa, o coeficiente angular da

equação não difere de 1,00; ou seja, o valor 1,00 pertence ao intervalo de confiança deste coeficiente. Sendo assim, pode-se concluir que os procedimentos analíticos são equivalentes.

Tabela 4.19 Resultados da análise de regressão, obtidos a partir dos dados experimentais de comparação direta de procedimentos analíticos.

<i>Estatísticas de Regressão</i>						
Coeficiente de correlação (R)					0,999519	
Coeficiente de Determinação (R ²)					0,999038	
Coeficiente de Determinação Ajustado					0,998901	
Desvio padrão residual					0,297994	
Número de observações					9	
<i>ANOVA</i>	<i>v</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>	<i>F_{cal}</i>	<i>F_{crit}</i>	
Regressão	1	645,6720	645,6720	7271,0494	5,5914	
Residual	7	0,6216	0,0888			
Total	8	646,2936				
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>t</i>	<i>P-valor</i>	<i>Limite inferior 95%</i>	<i>Limite superior 95%</i>
Coeficiente linear	0,1186	0,1701	0,6971	0,5082	-0,2837	0,5209
Coeficiente angular	1,0061	0,0118	85,2704	8,033E-12	0,9782	1,0340

4.2 Análise de amostras de produtos técnicos e formulados.

Ao considerar que a técnica espectrofotométrica se mostrou eficiente para quantificação de imidacloprid, torna-se interessante avaliar a possibilidade de utilização desta técnica como alternativa para a quantificação do ingrediente ativo em produtos técnicos e formulados.

Quando se concentra a atenção nas prováveis interferências, no caso da análise dos produtos formulados, observa-se que a matriz é composta basicamente pelos ingredientes da formulação. Mesmo quando os ingredientes da formulação não são disponibilizados é possível avaliar a existência de interferências multiplicativas através da realização de ensaios de fortificação. Porém, antes de partir para a realização da etapa experimental, é conveniente avaliar a potencialidade do procedimento alternativo. Esta avaliação foi

realizada pela comparação das incertezas estimadas para os procedimentos, o de rotina e o alternativo, com as tolerâncias definidas pela Portaria n° 45 [16].

Com a utilização dos dados disponíveis, foi possível estimar as incertezas de medição para o procedimento de rotina. A incerteza de medição do procedimento analítico hoje utilizado para a determinação de imidacloprid em produtos técnicos e formulados (HPLC-UV) foi estimada e é apresentada em detalhes no Apêndice III.

Por se tratar de uma avaliação preliminar, foi possível também estimar aproximadamente as incertezas de medição para o procedimento alternativo. Inicialmente, considerou-se que o instrumento utilizado nos experimentos apresentou incerteza de transmitância (σ_T) igual a uma constante (0,003). Os valores de transmitância calculados e apresentados na Tabela 4.20, foram obtidos a partir dos dados experimentais já apresentados na Tabela 4.1. Na tabela 4.20 são apresentados também os valores estimados para o desvio padrão relativo da concentração (σ_C/C), dados pela equação a seguir para instrumentos desta categoria [32]:

$$\frac{\sigma_c}{C} = \frac{0,434}{\log T} \times \frac{k_1}{T} \quad (\text{equação 4.2})$$

Onde k_1 é uma constante e T é a transmitância, sendo $T = 1/10^A$.

Esta consideração foi confirmada pela observação da magnitude das incertezas na medida de absorvância, que é aproximadamente constante para a faixa de escala utilizada (a homogeneidade das variâncias foi confirmada, anteriormente, pela aplicação do teste de Cochran aos dados referentes à absorvância). Além disso, observou-se que o valor estimado para a incerteza devida à precisão, $u_{pr} = 0,0106$, obtido a partir de dados experimentais gerados pela utilização deste instrumento e apresentado na Tabela 4.7, é da mesma ordem de grandeza dos valores aqui estimados para σ_C/C e apresentados na Tabela 4.20. Desta forma a classificação do equipamento, a esta categoria, foi confirmada.

Tabela 4.20 Estimativa da contribuição da precisão do instrumento para incerteza do procedimento analítico.

Identificação da solução de calibração	Concentração (mg/L)	Absorvância média	Transmitância		$\left(\frac{\sigma_c}{C}\right)$
			Média	Desvio padrão	
SPC _C	2,0072	0,175	0,668	0,002	0,0113
SPC _D	3,0016	0,256	0,555	0,003	0,0093
SPC _E	4,0154	0,346	0,451	0,001	0,0085
SPC _F	6,0232	0,511	0,308	0,003	0,0084
SPC _G	8,0209	0,698	0,201	0,003	0,0094
SPC _H	10,0386	0,863	0,137	0,002	0,0112

Pela observação da Tabela 4.20 poderíamos considerar uma incerteza relativa máxima da ordem de 0,011 para a precisão, na faixa de concentração em foco, quando utilizando este instrumento. No entanto, obtivemos da literatura [33] informação de que instrumentos mais modernos apresentam incertezas relativas da ordem de 0,006. Esta informação está de acordo com o apresentado por Skoog [32] para instrumentos de feixe duplo de alta qualidade. Logo, este foi o valor utilizado para a contribuição da precisão na estimativa da incerteza de medição do procedimento alternativo. Apresentamos no Apêndice IV detalhes da estimativa da incerteza de medição para o procedimento analítico alternativo. Não foi considerada a contribuição do estudo de exatidão, pela não disponibilidade de dados experimentais. As demais fontes (preparo de amostra, preparo das soluções padrão de calibração e curva de calibração) foram consideradas, avaliadas e estimadas de acordo com as recomendações da literatura [15].

As incertezas estimadas para os procedimentos analíticos foram comparadas com as tolerâncias estipuladas. A título de ilustração, foi selecionado o produto 350 SC, para a comparação da contribuição da cada fonte. A Figura 4.8 é a representação gráfica desta comparação e nela pode-se notar que o procedimento espectrofotométrico apresenta contribuições expressivamente maiores para o preparo de amostra e para o preparo das soluções padrão de calibração (SPC). A maior contribuição destas duas fontes é facilmente justificada pela comparação das faixas de concentração das respectivas curvas analíticas. O procedimento alternativo, baseado em técnica

espectrofotométrica, apresenta faixa linear de trabalho de: 2 a 10 mg/L, enquanto que o outro procedimento analítico apresenta a faixa linear de 200 a 1000 mg/L. Sendo assim, para o procedimento alternativo, é necessária uma maior diluição tanto das amostras como das soluções utilizadas na construção da curva de calibração, o que leva a uma maior contribuição para a incerteza destas etapas. Ainda pela observação da Figura 4.8, nota-se que, para ambos os procedimentos, a contribuição da curva de calibração não é significativa e que a contribuição da precisão é bastante próxima.

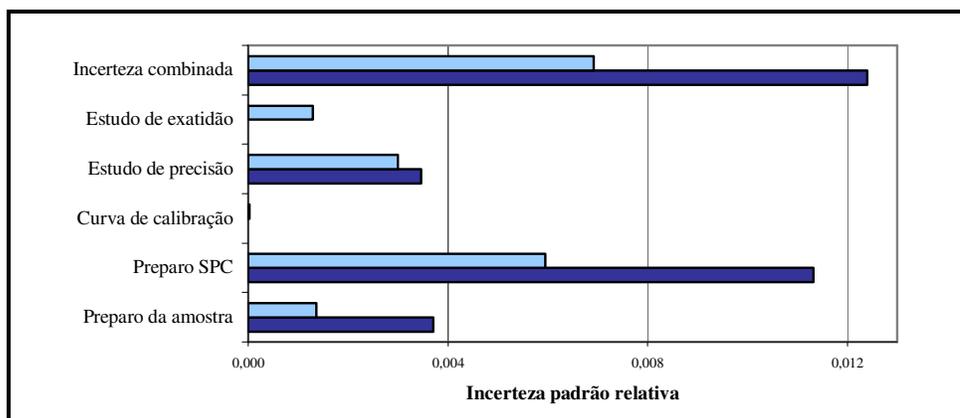


Figura 4.8 Comparação das diversas contribuições, na forma de incerteza padrão relativa, para a incerteza de medição dos procedimentos alternativo e padrão.

(■ → Cromatográfico, ■ → Espectrofotométrico).

Na Tabela 4.21, além das tolerâncias por tipo de produto, são apresentadas resumidamente as incertezas de medição estimadas, na forma de incerteza relativa expandida, para cada um dos dois procedimentos sob comparação.

Tabela 4.21 Tolerâncias e incertezas estimadas para os procedimentos sob comparação.

Tipo de produto	Princípio do método		Tolerância* ¹		
	Cromatográfico	Espectrofotométrico	(g/L ou g/kg)	%	Relativa* ³
	IM* ²	IM* ²			
350 SC	0,013	0,025	17,5	5,00	0,050
600 SC	0,013	0,025	25	4,17	0,042
700 WG	0,013	0,025	25	3,57	0,036
Produto técnico	0,013	0,025	NA	NA	NA

*¹ Portaria n° 45, de 10 de Dezembro de 1990 [16]
*² IM = Incerteza relativa expandida considerando nível de confiança de 95,45%.
*³ Incerteza relativa ao teor de ingrediente ativo
NA = Não Aplicável.

Comparando as incertezas de medição estimadas para os procedimentos, com as tolerâncias estabelecidas, e considerando que geralmente as especificações relativas aos produtos formulados são da ordem de 50% da tolerância, observa-se que as incertezas estimadas para o procedimento baseado HPLC-UV são menores que 50 % das tolerâncias. Sendo assim, este procedimento permite um controle adequado. Já o procedimento alternativo, baseado na técnica espectrofotométrica, apresenta incertezas bem mais próximas às tolerâncias estabelecidas, não sendo apropriado para o controle de produtos formulados com especificações da ordem de 50 % das tolerâncias. No entanto, é possível a utilização deste procedimento para o controle de produtos formulados, contanto que as especificações dos produtos sejam ajustadas de forma a compensar a maior incerteza deste procedimento.

A título de ilustração, apresentamos na Figura 4.9 as representações gráficas dos intervalos de tolerância, especificação (intervalo de controle referente ao processo de fabricação do produto) e incertezas de medição estimadas para cada um dos procedimentos (intervalos de confiança dos resultados analíticos). A representação gráfica é realizada separadamente por tipo de produto. Nestes gráficos, as ordenadas representam a concentração em g/L ou g/kg. Pela observação dos gráficos, nota-se que, mesmo que o teor de ingrediente ativo de um lote de produto formulado seja próximo ao limite de especificação, o procedimento baseado em HPLC-UV permite a obtenção de resultados dentro dos limites de tolerância. A soma dos dois intervalos, de especificação e de incerteza de medição, no caso do método cromatográfico, corresponde a um valor menor que o intervalo de tolerância. Para o procedimento alternativo, entretanto, a soma dos intervalos de especificação e de incerteza de medição é maior que o intervalo de tolerância e sendo assim, lotes de produto formulado próximos ao limite de especificação, podem apresentar valores fora do limite de tolerância.

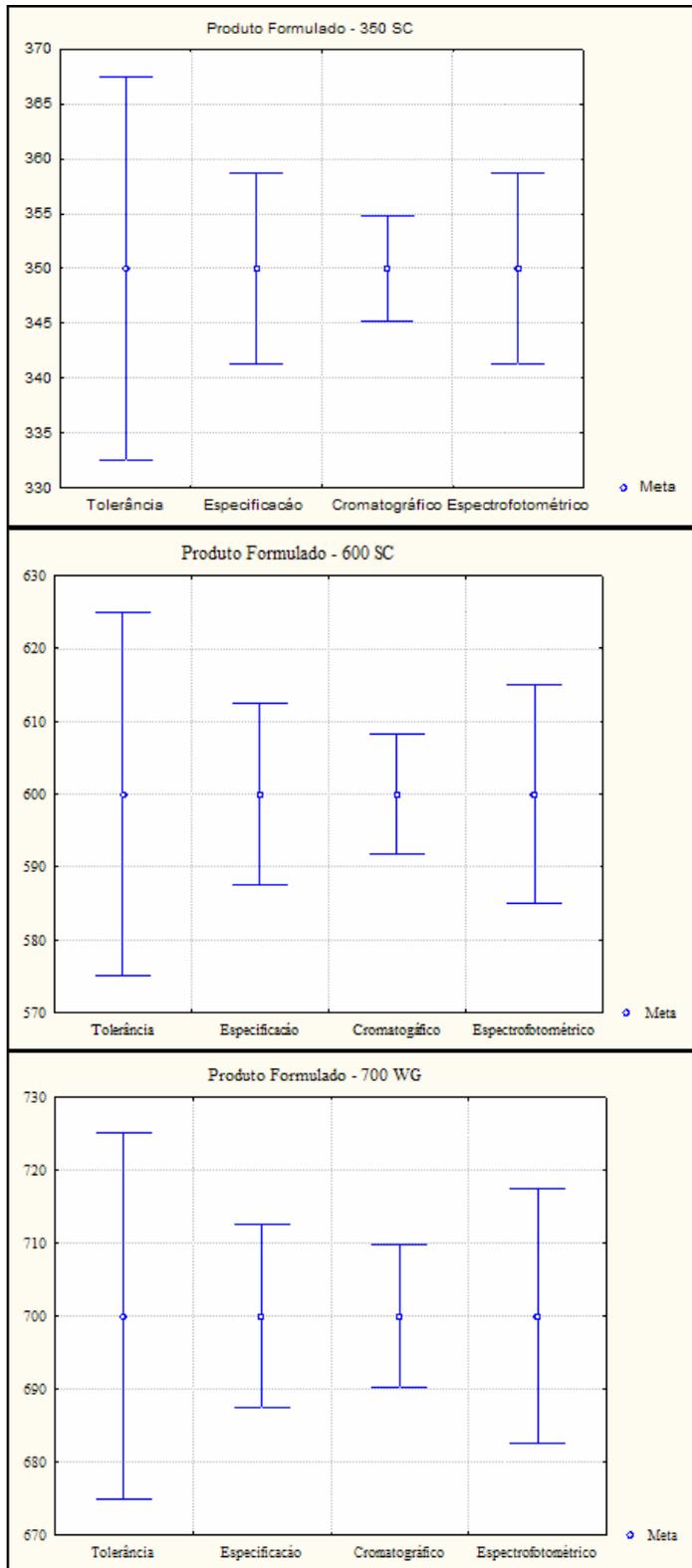


Figura 4. 9 Representação gráfica dos intervalos de tolerância, especificação e incertezas de medição por tipo de procedimento e tipo de produto. Nestes gráficos as ordenadas representam o teor de ingrediente ativo em g/L ou g/kg.