Analítica 2001

Avaliação do desempenho de um método analítico em função da origem do analito

RICARDO J. N. BETTENCOURT DA SILVA¹, JÚLIA R. SANTOS¹ E M. FILOMENA G. F. C. CAMÕES²

1. Introdução

A comparabilidade da informação analítica pode ser posta em causa quando os métodos são exclusivamente avaliados através de ensaios sobre amostras fortificadas com analitos numa forma física e/ou química diferente daquela em que se apresentam nas amostras reais. Por vezes, até mesmo os materiais de referência certificados e as amostras analisadas nos testes de aptidão contêm analitos de origem diferente da realidade das amostras. Esta situação é tanto mais crítica quanto maior a variedade de métodos analíticos disponíveis no sector e maior a diferença de comportamento do analito nesses métodos em função da sua origem.

Neste trabalho apresenta-se uma metodologia com vista a estudar o desempenho do método analítico em função da origem do analito, quando não existem disponíveis materiais de referência certi-

ficados adequados, recorrendo a estimativas da incerteza dos resultados de forma a avaliar objectivamente a relevância das diferenças observadas em relação à precisão do método.

A metodologia desenvolvida foi aplicada à determinação de resíduos de um conjunto de pesticidas em maçãs segundo a norma EN 12393-2 [1] e é apresentada através da descrição do procedimento usado para estimar a incerteza associada ao resultado, seguindo-se a utilização destes conceitos para fundamentar objectivamente a comparação do desempenho do método para amostras fortificadas no laboratório ou provenientes da prática fitossanitária.

2. Metodologia

2.1. Metodologia para a expressão de resultados com incerteza

2.1.1. Descrição do método analítico

Uma amostra de dez maçãs é reduzida a pequenos pedaços num cortador de alimentos (etapa SP, processamento da amostra). Uma toma analítica, m , ($50,0 \pm 0,1$ g) da massa processada, é extraída com 100ml de acetato de etilo e 60g de sulfato de sódio num macerador, seguindo-se uma filtração a pressão reduzida cujo volume filtrado é medido, V_1 . Uma fracção deste volume $V_1 - V_2$ (onde $V_2 = V_1/2$ é o volume remanescente) é evaporado num evaporador rotativo e dissolvida em 10ml, V_3 , de uma mistura ciclohexano/ acetato de etilo (1+1, V/V). Procede-se à purificação de uma toma de 5ml desta solução por cromatografia de permeação em gel, GPC, e a fracção eluída é novamente evaporada num evaporador rotativo; o remanescente é dissolvido em 5ml, V_5 , de acetato de etilo antes da quantificação por cromatografia em fase gasosa com detector de captura electrónica (GC-ECD) com o objectivo de estimar a con-

$$SC(\mu\text{g kg}^{-1}) = \frac{C_{\text{inter}}(\text{pg } \mu\text{l}^{-1}) \times V_1(\text{ml}) \times V_3(\text{ml}) \times V_5(\text{ml})}{m(\text{g}) \times [V_1 - V_2](\text{ml}) \times V_4(\text{ml})} \quad (1)$$

$$CSC(\mu\text{g kg}^{-1}) = SC(\mu\text{g kg}^{-1}) \times F_{SP} \times F_{MTS} \quad (2)$$

1 - Direcção-Geral de Protecção das Culturas - Quinta do Marquês - 2780 - 155 Oeiras, E-mail: ricardosilva@dgpc.min-agricultura.pt;

2 - CECUL/QDB - Faculdade de Ciências de Lisboa - 1749-016 Lisboa, E-mail: fcamos@fc.ul.pt.

$$u_R = \left(\frac{R^2 \times Y_2}{Y_1} \right) \sqrt{\left(\frac{u_{Ext}(Y_1, Y_2)}{F_{Ext}(Y_1, Y_2) - 1} \right)^2 + \left(\frac{u_{M-E}(Y_1)}{F_{M-E}(Y_1)} \right)^2 + \left(\frac{u_V(Y_1)}{V(Y_1)} \right)^2 + \left(\frac{u_{C_{inter}}(Y_1)}{C_{inter}(Y_1)} \right)^2 + \left(\frac{u_{MTS}(Y_2)}{F_{MTS}(Y_2)} \right)^2 + \left(\frac{u_V(Y_2)}{V(Y_2)} \right)^2 + \left(\frac{u_{C_{inter}}(Y_2)}{C_{inter}(Y_2)} \right)^2} \quad (5)$$

certeza LM com a dispersão ocasionalmente elevada gerada pelas primeiras.

As análises dos ensaios fortificados realizados devem incluir todos os equipamentos e operadores envolvidos na análise e ser, o mais possível, espaçadas no tempo, de forma a reproduzir toda a variabilidade associada às etapas analíticas estudadas.

2.1.3. Combinação das fontes de incerteza e incerteza expandida

As fontes de incerteza são combinadas na equação 4, onde $V_{1,2} = V_1 / (V_1 - V_2)$ e u_i representa a incerteza padrão associada aos parâmetros em índice. A incerteza padrão u_{CSC} é multiplicada por um factor de cobertura de 2 para se produzir a incerteza expandida U_{CSC} para um nível de confiança de aproximadamente 95%.

2.1.4. Eficiência e precisão do processamento da amostra

A realização de fortificações replicadas antes do processamento da amostra permite avaliar o desempenho analítico (eficiência, F , e precisão, u_F) da combinação de todas as fontes de incerteza LM . A realização de fortificações replicadas imediatamente antes da extracção (após processamento da amostra) permite estimar o desempenho analítico (F_{MTS} e u_{MTS}) da combinação de todas as fontes de incerteza LM excepto o processamento da amostra (etapas de transferência de massa). A comparação da informação recolhida nestes dois casos permite conhecer o desempenho do processamento da amostra isoladamente (F_{SP} e u_{SP}).

2.1.5. Desempenho ao longo da gama analítica

A avaliação da adequação da informação recolhida a um nível de concentração, para descrever toda a gama analítica, envolve a aplicação dos parâmetros estimados, no cálculo da incerteza associada aos resultados de ensaios fortificados únicos, realizados sobre a matriz em estudo, ao longo da gama de trabalho. Sempre que os intervalos de confiança estimados incluírem o valor esperado não existem razões para suspeitar que os parâmetros analíticos estimados não são aproximadamente constantes ao longo da gama em causa.

2.2. Metodologia para estimar o desempenho do método analítico em função da origem do analito

Tendo em conta que o desempenho do método analítico foi avaliado tendo por base a análise de amostras fortificadas e que os resíduos de pesticidas presentes nas amostras reais (i.e. resultantes da prática fitossanitárias) podem estar, de alguma forma, mais fortemente ligados à matriz, comparou-se o desempenho do processamento e extracção da amostra considerando estas duas origens de resíduos. O desempenho do processamento da amostra foi avaliado através da razão, X_1 / X_2 , entre o resultado, X_1 , da análise de uma amostra processada durante 3 minutos, e o resultado X_2 da análise de uma amostra equivalente processada durante 6 minutos. O desempenho da extracção foi avaliado através da razão, $(Y_1 / (Y_1 + Y_2))$, entre o resultado, Y_1 , da análise de uma amostra através do procedimento normal e

este valor adicionado do resultado Y_2 obtido da re-extracção do bolo de filtração que se obtém após a extracção inicial. As razões X_1 / X_2 e $Y_1 / (Y_1 + Y_2)$ foram estimadas com incerteza associada para amostras fortificadas e reais (resultantes da aplicação de formulações de pesticidas em macieiras), permitindo uma comparação objectiva do desempenho das duas etapas analíticas em função da origem do analito. Tendo em conta que Y_1 e Y_2 têm o processamento e a primeira extracção em comum, a incerteza padrão, u_R , associada à razão $R = (Y_1 / (Y_1 + Y_2))$ é estimada pela equação 5, onde F_{Ext} representa o factor de correcção da exactidão associada à primeira extracção e filtração e u_{Ext} a respectiva incerteza padrão, $M-E$ representa as MTS excluindo a extracção e filtração (representada pelo factor de correcção da exactidão F_{M-E} e a sua incerteza padrão u_{M-E}), o termo $(u_{MTS} / F_{MTS})^2$ resulta da re-extracção do bolo de filtração e das outras MTS e (Y_1, Y_2) , (Y_1) e (Y_2) definem as correspondências entre os termos e ambos os resultados Y_1 e Y_2 , ou Y_1 ou Y_2 , respectivamente.

3. Resultados e Conclusões

A tabela seguinte apresenta os resultados obtidos relativos ao estudo do desempenho do método analítico em função da origem do analito.

Os intervalos de confiança estimados para as razões X_1 / X_2 e $Y_1 / (Y_1 + Y_2)$ para amostras fortificadas ou reais são equivalentes, fundamentando a equivalência de desempenho do processamento da amostra e extracção em função da

Tabela: Resultados da avaliação do desempenho do processamento da amostra e da extracção em função da origem do analito.

Analito	Avaliação do processamento da amostra, SP , (razão X_1 / X_2)		Avaliação da extracção (razão $Y_1 / (Y_1 + Y_2)$)		Fortificação realizada/ $\mu\text{g kg}^{-1}$	Concentração amostra real/ $\mu\text{g kg}^{-1}$
	Fortificados	Reais	Fortificados	Reais		
γ - clordano	0.90±0.25	-	0.95±0.14	-	12	
deltametrina	0.88±0.25	1.3±1.8	0.86±0.12	0.70±0.33	126	33±24
dicloran	0.95±0.19	-	0.92±0.16	-	9	-
α - endossulfão	0.94±0.22	0.92±0.21	0.93±0.19	0.927±0.042	15	870±140
β - endossulfão	0.95±0.33	1.05±0.36	0.91±0.19	0.955±0.023	18	1250±310
endossulfão sulfato	0.90±0.32	1.2±2.2	0.88±0.19	0.88±0.56	27	6.7±6.1
fenclorfos	0.93±0.28	-	0.82±0.16	-	21	-
fenvalerato	0.90±0.21	-	0.87±0.16	-	123	-
iprodiona	0.90±0.27	1.11±0.33	0.77±0.13	0.935±0.034	189	1750±360
permetrina	0.89±0.26	1.07±0.32	0.93±0.16	0.964±0.077	279	510±110
tetradifão	0.91±0.23	-	0.87±0.13	-	33	-
vinclozolina	0.92±0.16	1.04±0.18	0.94±0.14	0.953±0.029	21	1040±170
Nível de confiança 95% (factor de cobertura 2)						

origem do analito. Desta forma, não é necessário estimar qualquer factor de correcção dos resultado relativamente a este aspecto.

Os resultados de X_1 / X_2 e $Y_1 / (Y_1 + Y_2)$ estimados para deltametrina e endossulfão sulfato associados à amostra real apresentam incertezas relativas muito elevadas devido ao baixo teor destes resíduos. Desta forma, no caso destes dois compostos, a equivalência observada entre o desempenho das etapas do método analítico estudadas, em função da origem dos resíduos, considerando o nível de concentração da amostra real, não pode ser estendida a concentrações

superiores. Por outro lado, as razões $Y_1 / (Y_1 + Y_2)$ associadas aos analitos α -endossulfão, β -endossulfão, iprodiona, permetrina e vinclozolina para amostras reais apresentam uma incerteza significativamente menor em relação às amostras fortificadas devido ao teor mais elevado de Y_1 e em especial de Y_2 , que nestes casos apresenta uma incerteza relativa bastante mais baixa quando comparada com amostras fortificadas no laboratório.

Agradecimentos

Os autores agradecem o profissionalismo e dedicação de Lina Teixeira durante a realização da parte analítica deste trabalho e a colaboração de António Tainha e Artur Garcia na realização dos ensaios de campo.

Bibliografia

[1] CEN, Non fatty foods – Multiresidue methods for the gas chromatographic determination of pesticide residues, EN 12393, CEN, Brussels, 1998.

[2] J. C. Miller and J. N. Miller, Statistics for Analytical Chemistry, 2.º Ed., J. Wiley & Sons, U.K., 1988.

[3] R. J. N. B. Silva , M. J. Lino, J. R. Santos and M. F. G. F. C. Camões, Analyst, 125 (2000) 1459.

Dizem que os cursistas de Artes no primeiro ano são Doutores, no segundo Licenciados, no terceiro Bacharéis, e depois são nada, porque quanto mais vão estudando, tanto melhor sabem, que não sabem: e quanto era menos a luz, era mais a presunção.

Pe. Manuel Bernardes (1644-1710)