



Ministério da
**Ciência, Tecnologia
e Inovação**



sid.inpe.br/mtc-m19/2012/01.20.16.38-NTC

**PROTOCOLO PARA USO DA TÉCNICA DE
ESPECTROSCOPIA EMPREGANDO SISTEMAS DE
INJEÇÃO DE FLUXO(FIA) PARA DETECÇÃO DE
NITRATO EM ÁGUAS**

Roberta Lee Maciviero Alcaide
Maria Cristina Forti

URL do documento original:

<<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/3B86MGP>>

INPE
São José dos Campos
2012

PUBLICADO POR:

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE

Gabinete do Diretor (GB)

Serviço de Informação e Documentação (SID)

Caixa Postal 515 - CEP 12.245-970

São José dos Campos - SP - Brasil

Tel.:(012) 3208-6923/6921

Fax: (012) 3208-6919

E-mail: pubtc@sid.inpe.br

CONSELHO DE EDITORAÇÃO E PRESERVAÇÃO DA PRODUÇÃO INTELLECTUAL DO INPE (RE/DIR-204):**Presidente:**

Marciana Leite Ribeiro - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Membros:

Dr. Antonio Fernando Bertachini de Almeida Prado - Coordenação Engenharia e Tecnologia Espacial (ETE)

Dr^a Inez Staciarini Batista - Coordenação Ciências Espaciais e Atmosféricas (CEA)

Dr. Gerald Jean Francis Banon - Coordenação Observação da Terra (OBT)

Dr. Germano de Souza Kienbaum - Centro de Tecnologias Especiais (CTE)

Dr. Manoel Alonso Gan - Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPT)

Dr^a Maria do Carmo de Andrade Nono - Conselho de Pós-Graduação

Dr. Plínio Carlos Alvalá - Centro de Ciência do Sistema Terrestre (CST)

BIBLIOTECA DIGITAL:

Dr. Gerald Jean Francis Banon - Coordenação de Observação da Terra (OBT)

REVISÃO E NORMALIZAÇÃO DOCUMENTÁRIA:

Marciana Leite Ribeiro - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Yolanda Ribeiro da Silva Souza - Serviço de Informação e Documentação (SID)

EDITORAÇÃO ELETRÔNICA:

Vivéca Sant´Ana Lemos - Serviço de Informação e Documentação (SID)



Ministério da
**Ciência, Tecnologia
e Inovação**



sid.inpe.br/mtc-m19/2012/01.20.16.38-NTC

**PROTOCOLO PARA USO DA TÉCNICA DE
ESPECTROSCOPIA EMPREGANDO SISTEMAS DE
INJEÇÃO DE FLUXO(FIA) PARA DETECÇÃO DE
NITRATO EM ÁGUAS**

Roberta Lee Maciviero Alcaide
Maria Cristina Forti

URL do documento original:

<<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/3B86MGP>>

INPE
São José dos Campos
2012

RESUMO

O Centro de Ciência do Sistema Terrestre do INPE, cuja missão é prover conhecimentos necessários para melhorar e assegurar a sustentabilidade do Planeta Terra, em especial nos aspectos concernentes ao Brasil estabeleceu a linha de pesquisa em Biogeoquímica Ambiental, cuja missão é contribuir para a detecção e atribuição de causas das mudanças ambientais bem como com a geração de conhecimentos para subsidiar a elaboração de cenários para mudanças ambientais globais e regionais. Dentro dessa linha, cabe ao Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias, com suas facilidades para análise e preparação de amostras ambientais e desenvolvimento de tecnologias afins, dar suporte, prioritariamente, às pesquisas relacionadas aos temas: Química da atmosfera, Transferências de espécies químicas nas Interfaces de Ecossistemas, Estudos da qualidade de corpos de água interiores e costeiros e Tecnologias Ambientais bem como deposição e emissão de espécies químicas em diferentes escalas geográficas. O objetivo deste documento é estabelecer um protocolo para uso da técnica de análise por injeção em fluxo (FIA) para a determinação de nitrato em águas doces e em efluentes para ser utilizado no Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias.

PROTOCOL FOR USE OF THE TECHNIQUE EMPLOYING SPECTROSCOPY FLOW INJECTION SYSTEM (FIA) FOR DETECTION OF NITRATE IN WATER

The Earth System Science Center at INPE, whose mission is to contribute with the necessary knowledge to improve and ensure sustainability of the Earth Planet, particularly in aspects concerning to the Brazilian environmental issues has established a research line in Environmental Biogeochemistry whose mission is to contribute with environmental changes detection and causes as well as with knowledge generation to subsidize studies concerning environmental changes scenarios on global and regional scales. Within this line it was attributed to the Laboratory of Aerosols, Aqueous solutions and Technologies, with its facilities for environmental samples analysis, preparation and related technologies development, the mission to give support primarily, to researches related with the themes: Atmospheric Chemistry, Chemical transfers at Terrestrial and Aquatic Ecosystem interfaces, continental and coastal water bodies studies and environmental technologies as well as chemicals deposition and emission at different scales. The purpose of this document is to establish a protocol for nitrate determination in fresh and waste water using flow injection analysis (FIA) technique to be utilized at the Laboratory of Aerosol Aqueous Solutions and Technologies.

LISTA DE FIGURAS

	<u>Pág.</u>
Figura 2.1 - Diagrama de fluxo para análise de Nitrato (adaptado de Zagatto et. al,1981).	3
Figura 3.1 - Gráficos relativos ao ajuste do modelo linear às diferentes curvas de calibração.....	6

LISTA DE TABELAS

	<u>Pág.</u>
Tabela 3.1 - Valores das leituras das absorvâncias para as diferentes curvas de calibração, concentrações (μM) e amostras certificadas (μM).	5
Tabela 3.2 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorvância para a curva 1.	7
Tabela 3.4 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorvância para a curva 3.	9
Tabela 3.5 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorvância para a curva 4.	10
Tabela 3.6 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorvância para a curva 5.	11
Tabela 3.7 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorvância para a curva 6.	12
Tabela 3.8 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorvância para a curva 7.	13

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LAQUATEC	Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias
FIA	Técnica de Análise por Injeção em Fluxo
NED	N – (1 – naftil) – etileno diamina dihidroclorato
LQ	Limite de quantificação
LD	Limite de detecção

LISTA DE SÍMBOLOS

μM Micro Molar

SUMÁRIO

	<u>Pág.</u>
1	Princípio de Funcionamento 1
2	Preparação das soluções..... 2
3	Avaliação do procedimento analítico: precisão e exatidão..... 3

1 Princípio de Funcionamento

A técnica de análise por injeção em fluxo (FIA) permite efetuar reações químicas por injeções de reagentes. No caso do nitrato (NO_3^-) o método tem como base a redução do nitrato e nitrito e posterior determinação destes por espectrofotometria através da reação de Griess modificada. Se a quantidade de nitrito for significativa ele deverá ser determinado para que seja subtraído do total.

A amostra contendo nitrato/nitrito é misturada com uma solução tampão de cloreto de amônio (pH=8,5). O nitrato presente na amostra é reduzido a nitrito em uma coluna de cádmio coperizada (reduzidor) em seguida, com a adição de uma solução ácida de sulfanilamida, o nitrito inicialmente presente na amostra e o nitrito resultante da redução do nitrato irão formar um diazo-composto; este composto liga-se ao N-(1-naftil)-etileno diamina dihidroclorato (NED) formando um azo-composto corante violeta que é medido no comprimento de onda de 540 nm. Os reagentes empregados são os seguintes:

- Sulfanilamida (4-aminobenzenesulfonamide), $C_6H_8N_2O_2S$;
- N-(1-naftil)-etileno diamina dihidroclorato (NED), $C_{12}H_{14}N_2 \times 2HCl$;
- Ácido clorídrico; HCl , 37 %;
- Nitrito de Sódio, $NaNO_2$, seco a 150 °C até peso constante;
- Nitrato de Sódio, $NaNO_3$, seco a 105 °C até peso constante;
- Cloreto de amônio, NH_4Cl , seco a 105 °C até peso constante (alternativamente pode ser usado o Imidazol, $C_3H_4N_2$);
- Hidróxido de amônio, NH_4OH .

2 Preparação das soluções

Para a análise é necessário que as soluções sejam preparadas com água deionizada tipo II e que sejam observados os tempos de estabilidade de cada uma das soluções.

a. Padrões utilizados no LAQUATEC: Os padrões foram preparados utilizando-se Padrão Fluka Trace Cert™ com concentração 1000 mg.L^{-1} (16,16 mM). A partir dessa solução foi preparada uma série de padrões com 3 valores de concentração. Para avaliar a precisão do método cada conjunto de padrões foi preparado 7 vezes;

b. Para validar o procedimento analítico foram utilizadas duas amostras certificadas:

- BCR-479 (European Commission) com concentração de $214 \mu\text{M}$ e que foi diluída para uma concentração final de $12,75 \mu\text{M}$

- TROIS-94 (Certified Reference Material do National Research Council Canadá) com concentração $1,13 \pm 0,19 \mu\text{M}$.

As soluções utilizadas para realizar todo o procedimento (Figura 2.1) inclusive aquelas para a redução do nitrato e posterior coloração (Giné et al 1980) são as seguintes:

R1: 100 g de NH_4Cl , 20 g de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ e 1 g de Na_2EDTA , tudo diluído em 100 ml.

R2: 2 g de sulfanilamida, 0,1 g N-(1-naftil) etilenodiamoniodicloreto e 10 ml de H_3PO_4 a 80% diluir tudo em 100 ml de água. Esta solução é estável por 2 a 3 dias.

C: Água

C': coluna de vidro com diâmetro interno de 2 mm e comprimento de 5 cm, preenchida com limalhas de cádmio coperizadas.

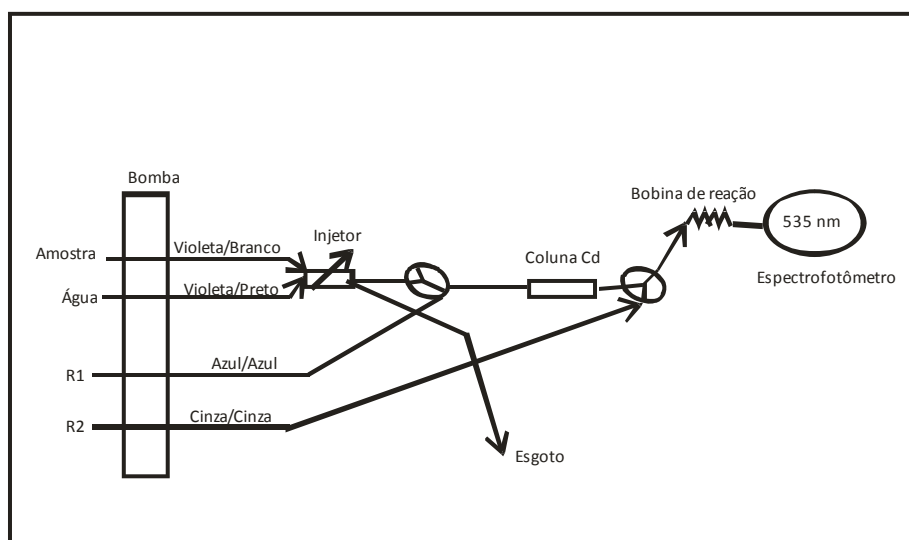


Figura 2.1 - Diagrama de fluxo para análise de Nitrato (adaptado de Zagatto et. al, 1981).

3 Avaliação do procedimento analítico: precisão e exatidão.

Na Tabela 3.1 são mostrados os valores das diferentes concentrações dos padrões, em μM , e as correspondentes leituras da absorvância (unidade de absorvância) para cada curva de calibração elaborada, os valores teóricos das concentrações das amostras certificadas e do valor determinado a partir da calibração realizada.

Foram construídas 7 curvas de calibração e, para cada curva, foram realizadas três leituras de absorvância. Depois de construída a curva, foi determinada a concentração de nitrato em amostras cujas concentrações eram conhecidas e certificadas, neste caso foi efetuada três leituras (repetições).

A partir dos valores da Tabela 1 estabeleceram-se as regressões lineares entre a absorvância e as concentrações para determinar as curvas de calibração. A partir destes dados, foram calculados os parâmetros de validade do procedimento analítico definidos a seguir:

- Linearidade: fornecida pela curva de calibração e que estabelece a relação entre as concentrações e o sinal, deve obedecer a uma relação linear, pelo menos em um determinado intervalo de concentração;
- Exatidão: é a comparação entre o valor medido em relação a um valor real fornecido através de material de referência certificado;
- Precisão: está relacionada com a concordância entre as medidas entre si, quanto maior a dispersão dos valores fornecidos menor é a precisão;

•Sensibilidade: é a menor diferença entre duas medidas próximas que pode ser detectada pela técnica empregada. Quanto mais sensível o método maior a inclinação da curva de calibração. Os indicadores de sensibilidade são os limites de detecção e de quantificação, que são a menor concentração identificada e quantificada, dados pelas expressões (1) e (2), respectivamente:

A partir dos valores da Tabela 3.1 estabeleceram-se as regressões lineares entre a absorbância e as concentrações para determinar as curvas de calibração. A partir destes dados, foram calculados os parâmetros de validade de este procedimento analítico definidos a seguir:

•Linearidade: fornecida pela curva de calibração e que estabelece a relação entre as concentrações e o sinal, deve obedecer a uma relação linear, pelo menos em um determinado intervalo de concentração;

•Exatidão: é a comparação entre o valor medido em relação a um valor real fornecido através de material de referência certificado;

•Precisão: está relacionada com a concordância entre as medidas entre si, quanto maior a dispersão dos valores fornecidos menor é a precisão;

•Sensibilidade: é a menor diferença entre duas medidas próximas que pode ser detectada pela técnica empregada. Quanto mais sensível o método maior a inclinação da curva de calibração. Os indicadores de sensibilidade são os limites de detecção e de quantificação, que são a menor concentração identificada e quantificada, dados pelas expressões (1) e (2), respectivamente:

$$LD = \frac{3xS_{curva}}{m}, \text{ limite de detecção} \quad (1)$$

$$LQ = \frac{10S_{curva}}{m}, \text{ limite de quantificação} \quad (2)$$

Onde:

S_{curva} → desvio padrão da curva de calibração

m → coeficiente angular da curva de calibração.

Os gráficos resultantes das regressões simples são apresentados na Figura 3.1. Neles são indicadas a curvas ajustadas aos dados em azul e os intervalos de confiança de duas vezes o desvio padrão, para as determinações, em vermelho.

Tabela 3.1 - Valores das leituras das absorvâncias para as diferentes curvas de calibração, concentrações (μM) e amostras certificadas (μM).

Curva (1)	Abs1	Abs2	Abs3	Média	Desvio	Conc Teor	Conc Curva
P11	329	332	328	329,7	2,08	109,9	
P21	96	94	95	95,0	1,00	27,37	
P31	26	25	24	25,0	1,00	6,462	
Trois	16	15	15	15,3		1,13	1,77
BCR dil	51	48	49	49,3		16,9	13,4
Curva (2)							
P12	256	255	263	258,0		109,52	
P22	65	67	65	65,7		27,233	
P32	14	14	13	13,7		5,771	
Trois	12	12	11	11,7		1,13	4,64
BCR dil	40	38	38	38,7		16,9	16,1
Curva (3)							
P13	220	214	216	216,7		107,23	
P23	58	57	60	58,3		27,647	
P33	14	12	14	13,3		5,573	
Trois	11	11	10	10,7		1,13	4,05
BCR dil	32	32	31	31,7		16,9	14,6
Curva (4)							
P14	202	208	210	206,7		108,44	
P24	53	53	52	52,7		26,95	
P34	14	14	14	14,0		5,573	
Trois	11	10	10	10,3		1,13	3,94
BCR dil	28	28	27	27,7		16,9	13,2
Curva (5)							
P15	171	171	168	170,0		108,97	
P25	38	38	37	37,7		22,72	
P35	15	12	12	13,0		6,51	
Trois	8	7	8	7,7		1,13	3,10
BCR dil	24	24	23	23,7		16,9	13,5
Curva (6)							
P16	148	146	147	147,0		109,09	
P26	36	36	36	36,0		26,203	
P36	12	12	11	11,7		6,661	
Trois	8	7	7	7,3		1,13	3,91
BCR dil	20	20	20	20,0		16,9	13,5
Curva (7)							
P17	243	236	232	237,0		107,13	
P27	66	64	63	64,3		26,993	
P37	25	23	23	23,7		5,787	
Trois	11	12	11	11,3		1,13	0,836
BCR dil	36	34	32	34,0		16,9	11,6
Estatística para a absorvância							
<i>Média</i>	224	58,5	16,3				
<i>desvio</i>	60,1	20,0	5,53				
<i>Coef de variação</i>	26,9%	34,1%	33,8%				

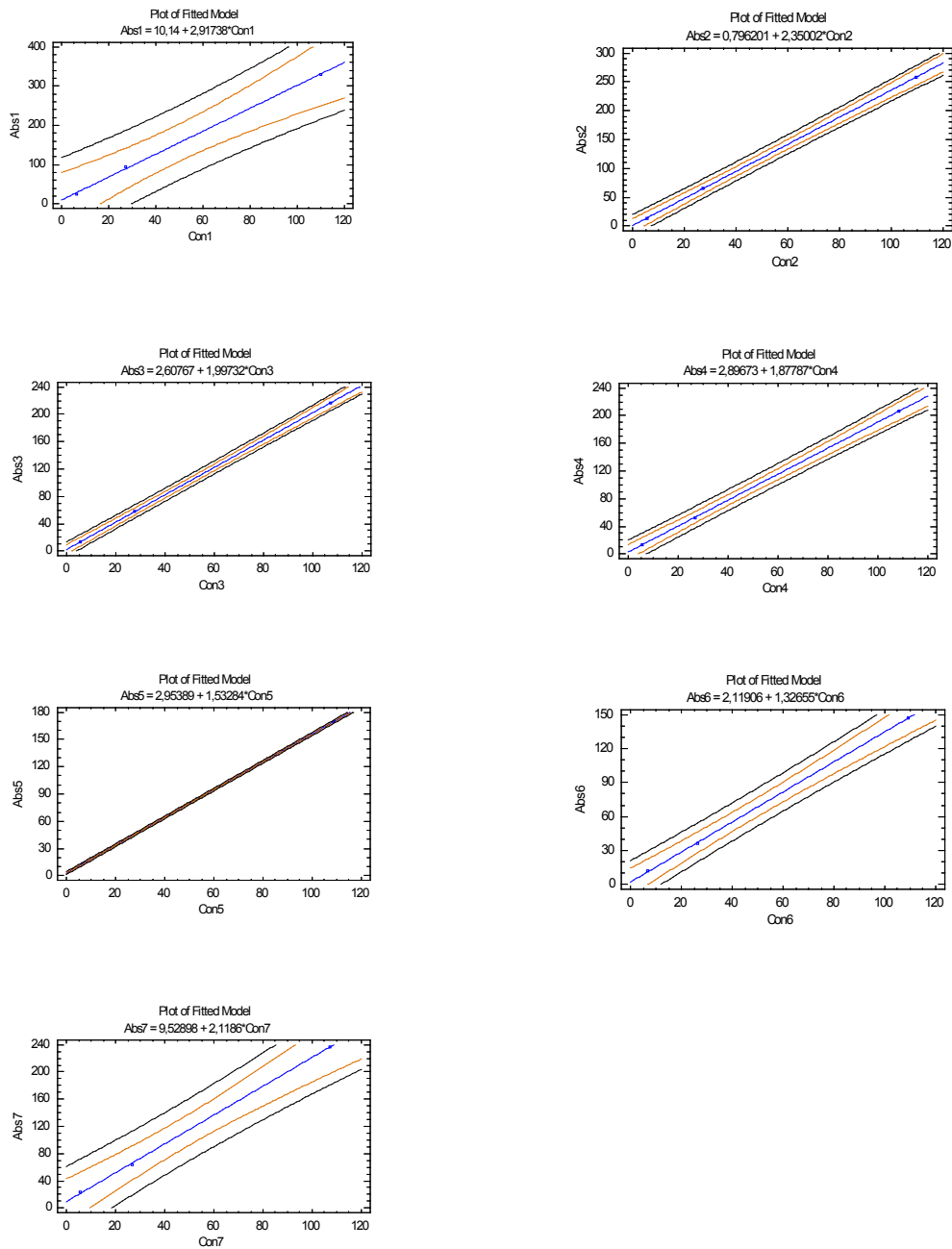


Figura 3.1 - Gráficos relativos ao ajuste do modelo linear às diferentes curvas de calibração.

Na tabela 3.2 apresenta-se os resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorbância para a curva 1. Nessa tabela são apresentados os coeficientes da reta ajustada aos dados (interceptação e inclinação), os resultados relativos à análise de variância que indica a validade do ajuste e as estatísticas da curva, utilizadas para calcular os limites de detecção e de determinação.

Tabela 3.2 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorbância para a curva 1.

Coefficientes					
Parâmetros	Mínimo quadrado	Erro padrão	Estatística-T	Valor - P	
Interceptação	10,14	5,48835	1,84756	0,3158	
Inclinação	2,91738	0,0838173	34,8064	0,0183	
Análise de variância					
Fonte	Soma dos quadrados	Dif	Quadrado médio	Razão - F	Valor - P
Modelo	50888,1	1	50888,1	1211,49	0,0183
Residual	42,0046	1	42,0046		
Total (Corr.)	50930,1	2			
Estatística da curva			Abs1 = 10,14 + 2,91738*Con1		
Coef. Correlação	Quadrado Coef. De correlação %	Desvio padrão da curva	Limite de detecção	Limite de quantificação	
			Abs/conc (µM)	Abs/conc (µM)	
0,999588	99,9175	6,4811	6,66/-1,193	22,22/4,141	

Na Tabela 3.2 são apresentadas as estatísticas para o ajuste linear entre as concentrações e absorbância obtidos para a curva 1. O valor de P obtido pela análise de variância é menor do que 0,05 indicando que existe uma relação estatisticamente significativa entre a absorbância e a concentrações para a curva 1 com 95 % de confiança.

O quadrado do coeficiente de correlação indica que o modelo linear explica 99,9175 % da variabilidade da absorbância e o coeficiente de correlação igual a 0,999588 indica a forte relação entre as duas variáveis. O valor do desvio padrão estimado para essa curva de calibração foi de 6,4811 o qual foi utilizado para calcular os limites de detecção e quantificação para essa curva.

Esse mesmo procedimento foi aplicado às outras curvas e os resultados são apresentados nas Tabelas 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7 e 3.8.

Tabela 3.3 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorbância para a curva 2.

Coefficientes					
Parâmetros	Mínimo quadrado	Erro padrão	Estatística-T	Valor - P	
Interceptação	0,796201	0,949279	0,838743	0,5557	
Inclinação	2,35002	0,0145496	161,518	0,0039	
Análise de variância					
Fonte	Soma dos quadrados	Dif	Quadrado médio	Razão - F	Valor - P
Modelo	33130,4	1	33130,4	26088,09	0,0039
Residual	1,26994	1	1,26994		
Total (Corr.)	33131,6	2			
Estatística da curva			Abs2 = 0,796201 + 2,35002*Con2		
Coef. Correlação	Quadrado Coef. De correlação %	Desvio padrão da curva	Limite de detecção	Limite de quantificação	
0,999981	99,9962	1,12692	Abs/conc (µM) 1,439/0,274	Abs/conc (µM) 4,795/1,65	

Da Tabela 3.3 verifica-se que o valor de P obtido pela análise de variância é menor do que 0,05 indicando que existe uma relação estatisticamente significativa entre a absorbância e a concentrações para a curva 2 com 95 % de confiança.

O quadrado do coeficiente de correlação indica que o modelo linear explica 99,9962 % da variabilidade da absorbância e o coeficiente de correlação igual a 0,999981 indica a forte relação entre as duas variáveis.

O valor do desvio padrão estimado para essa curva de calibração foi de 1,12692 o qual foi utilizado para calcular os limites de detecção e quantificação para essa curva.

Tabela 3.4 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorbância para a curva 3.

Coeficientes					
Parâmetros	Mínimo quadrado	Erro padrão	Estatística-T	Valor - P	
Interceptação	2,60767	0,551498	4,72834	0,1327	
Inclinação	1,99732	0,00861532	231,833	0,0027	
Análise de variância					
Fonte	Soma dos quadrados	Dif	Quadrado médio	Razão - F	Valor - P
Modelo	22812,5	1	22812,5	53746,74	0,0027
Residual	0,424445	1	0,424445		
Total (Corr.)	22813,0	2			
Estatística da curva			$Abs_3 = 2,60767 + 1,99732 \cdot Con_3$		
Coef. Correlação	Quadrado Coef. De correlação %	Desvio padrão da curva	Limite de detecção	Limite de quantificação	
			Abs/conc (µM)	Abs/conc (µM)	
0,999991	99,9981	0,651494	0,979/-0,916	3,26/0,627	

Da Tabela 3.4 verifica-se que o valor de P obtido pela análise de variância é menor do que 0,05 indicando que existe uma relação estatisticamente significativa entre a absorbância e a concentrações para a curva 3 com 95 % de confiança.

O quadrado do coeficiente de correlação indica que o modelo linear explica 99,9981 % da variabilidade da absorbância e o coeficiente de correlação igual a 0,999991 indica a forte relação entre as duas variáveis.

O valor do desvio padrão estimado para essa curva de calibração foi de 0,651494 o qual foi utilizado para calcular os limites de detecção e quantificação para essa curva.

Tabela 3.5 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorbância para a curva 4.

Coefficientes					
Parâmetros	Mínimo quadrado	Erro padrão	Estatística-T	Valor - P	
Interceptação	2,89673	0,875791	3,30756	0,1869	
Inclinação	1,87787	0,0135587	138,499	0,0046	
Análise de variância					
Fonte	Soma dos quadrados	Dif	Quadrado médio	Razão - F	Valor - P
Modelo	20781,2	1	20781,2	19181,99	0,0046
Residual	1,08337	1	1,08337		
Total (Corr.)	20782,3	2			
Estatística da curva			$Abs4 = 2,89673 + 1,87787 * Con4$		
Coef. Correlação	Quadrado Coef. De correlação %	Desvio padrão da curva	Limite de detecção	Limite de quantificação	
			Abs/conc (µM)	Abs/conc (µM)	
0,999974	99,9948	1,04085	1,663/-0,657	5,543/1,409	

Da Tabela 3.5 verifica-se que o valor de P obtido pela análise de variância é menor do que 0,05 indicando que existe uma relação estatisticamente significativa entre a absorbância e a concentrações para a curva 4 com 95 % de confiança.

O quadrado do coeficiente de correlação indica que o modelo linear explica 99,9948 % da variabilidade da absorbância e o coeficiente de correlação igual a 0,999974 indica a forte relação entre as duas variáveis.

O valor do desvio padrão estimado para essa curva de calibração foi de 1,04085 o qual foi utilizado para calcular os limites de detecção e quantificação para essa curva.

Tabela 3.6 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorbância para a curva 5.

Coefficientes					
Parâmetros	Mínimo quadrado	Erro padrão	Estatística-T	Valor - P	
Interceptação	2,95389	0,0870469	33,9344	0,0188	
Inclinação	1,53284	0,00135215	1133,63	0,0006	
Análise de variância					
Fonte	Soma dos quadrados	Dif	Quadrado médio	Razão - F	Valor - P
Modelo	14254,1	1	14254,1	1285117,57	0,0006
Residual	0,0110917	1	0,0110917		
Total (Corr.)	14254,1	2			
Estatística da curva			$Abs5 = 2,95389 + 1,53284 * Con5$		
Coef. Correlação	Quadrado Coef. De correlação %	Desvio padrão da curva	Limite de detecção	Limite de quantificação	
			Abs/conc (µM)	Abs/conc (µM)	
1,0	99,9999	0,105317	0,206/-1,793	0,687/-1,480	

Da Tabela 3.6 verifica-se que o valor de P obtido pela análise de variância é menor do que 0,05 indicando que existe uma relação estatisticamente significativa entre a absorbância e a concentrações para a curva 5 com 95 % de confiança.

O quadrado do coeficiente de correlação indica que o modelo linear explica 99,9999 % da variabilidade da absorbância e o coeficiente de correlação igual a 1,0 indica a forte relação entre as duas variáveis.

O valor do desvio padrão estimado para essa curva de calibração foi de 0,105317 o qual foi utilizado para calcular os limites de detecção e quantificação para essa curva.

Tabela 3.7 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorbância para a curva 6.

Coefficientes					
Parâmetros	Mínimo quadrado	Erro padrão	Estatística-T	Valor - P	
Interceptação	2,11906	0,96391	2,1984	0,2718	
Inclinação	1,32655	0,0148548	89,3009	0,0071	
Análise de variância					
Fonte	Soma dos quadrados	Dif	Quadrado médio	Razão - F	Valor - P
Modelo	10408,1	1	10408,1	7974,64	0,0071
Residual	1,30515	1	1,30515		
Total (Corr.)	10409,4	2			
Estatística da curva			$Abs_6 = 2,11906 + 1,32655 \cdot Con_6$		
Coef. Correlação	Quadrado Coef. De correlação %	Desvio padrão da curva	Limite de detecção	Limite de quantificação	
0,999937	99,9875	1,14243	Abs/conc (µM) 2,584/0,350	Abs/conc (µM) 8,612/4,895	

Da Tabela 3.7 verifica-se que o valor de P obtido pela análise de variância é menor do que 0,05 indicando que existe uma relação estatisticamente significativa entre a absorbância e a concentrações para a curva 6 com 95 % de confiança.

O quadrado do coeficiente de correlação indica que o modelo linear explica 99,9875 % da variabilidade da absorbância e o coeficiente de correlação igual a 0,999937 indica a forte relação entre as duas variáveis.

O valor do desvio padrão estimado para essa curva de calibração foi de 1,14243 o qual foi utilizado para calcular os limites de detecção e quantificação para essa curva.

Tabela 3.8 – Resultados relativos as estatística das regressões simples entre as concentrações dos padrões e a absorbância para a curva 7.

Coefficientes					
Parâmetros	Mínimo quadrado	Erro padrão	Estatística-T	Valor - P	
Interceptação	9,52898	2,63772	3,61258	0,1719	
Inclinação	2,1186	0,0412969	51,3016	0,0124	
Análise de variância					
Fonte	Soma dos quadrados	Dif	Quadrado médio	Razão - F	Valor - P
Modelo	25647,1	1	25647,1	2631,85	0,0124
Residual	9,74488	1	9,74488		
Total (Corr.)	25656,8	2			
Estatística da curva					
Abs7 = 9,52898 + 2,1186*Con7					
Coef. Correlação	Coef. De correlação %	Desvio padrão da curva	Limite de detecção	Limite de quantificação	
			Abs/conc (µM)	Abs/conc (µM)	
0,99981	99,962	3,12168	4,420/-2,411	14,735/2,457	

Da Tabela 3.8 verifica-se que o valor de P obtido pela análise de variância é menor do que 0,05 indicando que existe uma relação estatisticamente significativa entre a absorbância e a concentrações para a curva 7 com 95 % de confiança.

O quadrado do coeficiente de correlação indica que o modelo linear explica 99,962 % da variabilidade da absorbância e o coeficiente de correlação igual a 0,99981 indica a forte relação entre as duas variáveis.

O valor do desvio padrão estimado para essa curva de calibração foi de 3,12168 o qual foi utilizado para calcular os limites de detecção e quantificação para essa curva.

Desses resultados verifica-se a o procedimento foi linear para todas as curvas de calibração levantadas e com coeficiente sempre melhor do que 0,999. A exatidão medida para baixas concentrações, através da amostra certificada TROIS com concentração nominal de 1,13 µM, forneceu valor médio de 2,13 µM, duas vezes superiores ao verdadeiro. Isso indica que, para esse nível de concentração o procedimento não é exato.

Para a amostra certificada BCR479 diluída (16,9 µM) obteve-se exatidão de 19 % em média o que ainda é um pouco alto e, portanto, a cada novo lote de medidas deve-se buscar uma melhora desse parâmetro para esse procedimento.

A precisão foi avaliada apenas pelo desvio padrão das curvas de calibração, pois não foram realizadas medidas dos padrões. Verifica-se, da Figura 3.1 e da tabela 3.1, onde a dispersão para cada curva e para o valor médio da

absorbância é indicada, que esta pode ser larga e, portanto com baixa precisão.

Em função desses resultados, quando da utilização desse procedimento devem efetuadas medidas dos padrões para melhor determinação desse parâmetro e para melhorar a precisão do procedimento.

Quanto à sensibilidade, indicada tanto pela inclinação das retas como pelos limites de detecção e quantificação, verifica-se que são bons para esse procedimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Giné, M.F; H. Bergamin Fo.; E.A.G. Zagatto; B.F. Reis. Anal. Chim. Acta, 114 (1908) 191.

Zagatto, E.A.G. et al. **“Manual de Análises de Plantas e Águas empregando sistemas de Injeção em Fluxo”**. Universidade de São Paulo/CENA – Seção de Radioquímica e Química Analítica. Piracicaba/SP, Junho 1982, 43pp.