



T&E Analítica

Flávio Leite

teanalitica@teanalitica.com.br

www.teanalitica.com.br

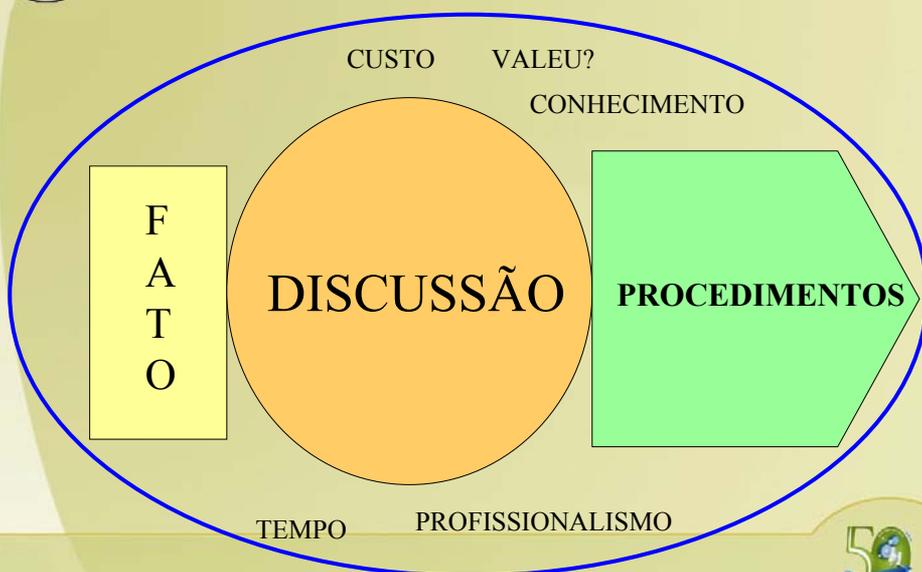
# Minicurso C R Q-IV

## AMOSTRAGEM

Novembro 2006 – Araraquara/SP



### DISCUSSÃO PARA PROBLEMAS





# PROTOSCOLOS

## 1- PROTOCOLO GERAL (Filosofia):

descreve os objetivos ; os tipos de análise da empresa; as principais ferramentas; as normas; os critérios a serem usados para aceitabilidade; higiene e segurança; preservação; etc.

## 2- PROTOCOLO ESPECÍFICO (operacional):

descreve a análise a ser realizada; a preservação; os valores de aceitação a definição de: quando, onde, quanto, como, etc.



## POSTURA DAS PESSOAS ANALÍTICAS

A CLAREZA E A CERTEZA

→ compreensão

→ estado de espírito

### SITUAÇÃO

O equipamento “parou”

### SOLUÇÃO

Verificar se há algo errado; saber a quem comunicar; introduzir medidas preventivas

Pró ATIVIDADE

Um bequer quase em queda na bancada.....

A HONESTIDADE

Quebra de equipamento..

A CONVIVÊNCIA

Virtudes, Defeitos, Trabalhar junto

-Procurar ter a **CRÍTICA** e oferecer a **SUGESTÃO**  
-Dar a **SUGESTÃO** e procurar **PARTICIPAR**





# AMOSTRAGEM

Na **Amostragem** ou **Coleta** deve-se considerar que não existe lote homogêneo, portanto, apenas lotes heterogêneos.

Sendo lotes heterogêneos, faz-se necessário retirar uma amostra *significativa* (no sentido de significância). Como esta é praticamente impossível, procura-se retirar uma amostra *representativa*.

**AMOSTRAGEM:** é o processo de coleta de uma amostra representativa para análise

**AMOSTRAGEM:** é o processo de coleta de uma amostra representativa de um lote heterogêneo, ou seja, que represente a totalidade do material de interesse para que seja realizada a análise.

Mesmo para a melhor amostra representativa, haverá sempre a necessidade de algum grau de **PREPARAÇÃO DA AMOSTRA**, quer para retirar interferentes, quer para dar forma disponível para a análise, etc.



# AMOSTRAGEM

## TONELADA OU KILOS

### UNIVERSO AMOSTRAL

Plantações  
Solo  
Oceano  
Lagos  
Rios  
Ar Atmosférico  
Processo de Fabricação  
Alimentos  
Fármacos  
Tecidos  
Chapas de metal  
Bobinas de papel

## MICRO A NANOGRAMAS



Redução da Amostra

Solução Diluída

AMOSTRAGEM

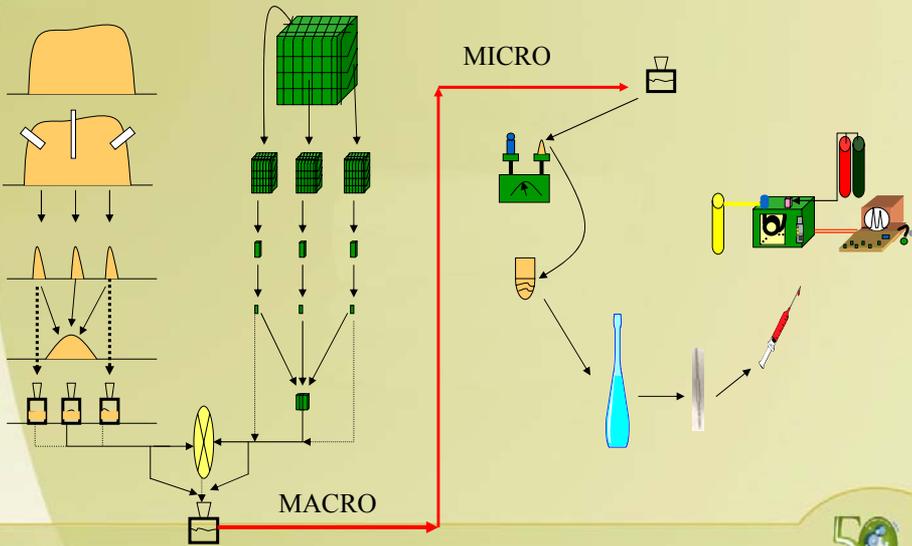
Análise/Resultado

Representatividade

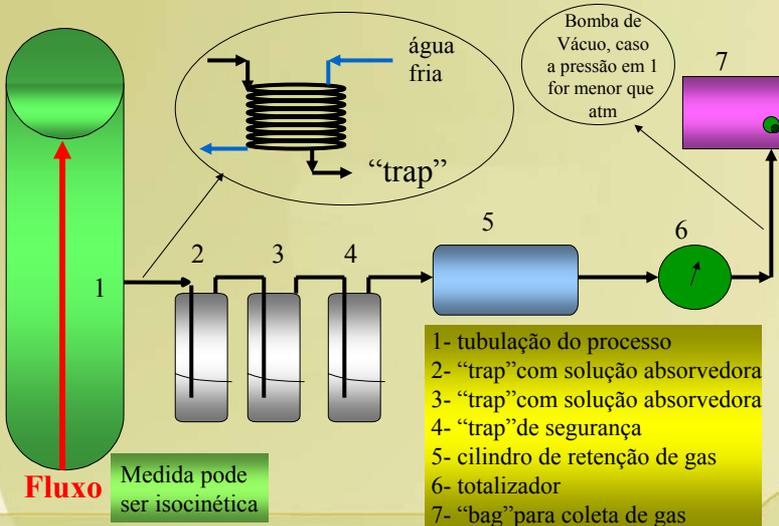




## OPERAÇÃO DE AMOSTRAGEM



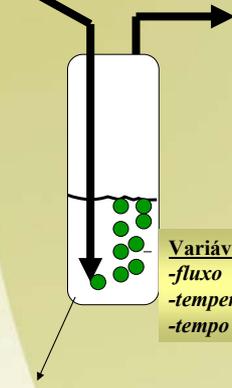
## COLETA DE GAS COM VAPORES





## INFLUÊNCIA DA AMOSTRAGEM NA ANÁLISE

Orgânicos na forma de vapores

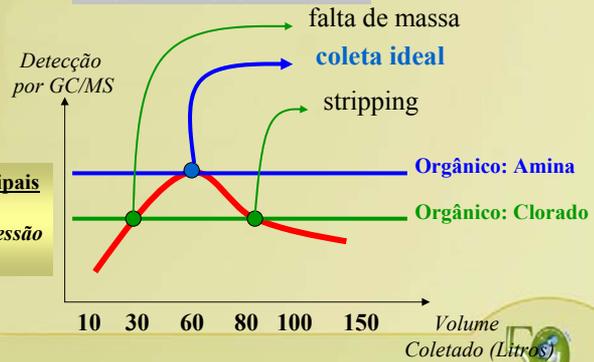


Isopropanol

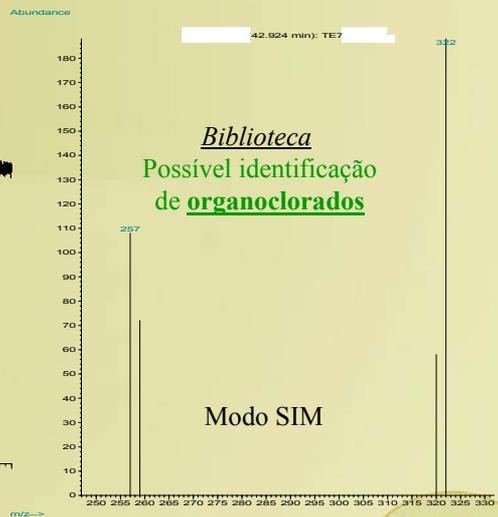
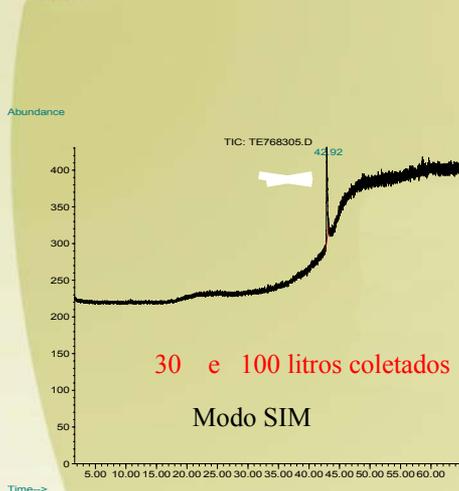
**Variáveis Principais**  
-fluxo  
-temperatura/pressão  
-tempo de coleta

Composição Estimada  
Em Corrente de Processo (N<sub>2</sub>)

-Acetato de Etila	- 5%
-Tolueno	- 1%
-Metanol	- 2%
-Orgânico em pesquisa	- ?%

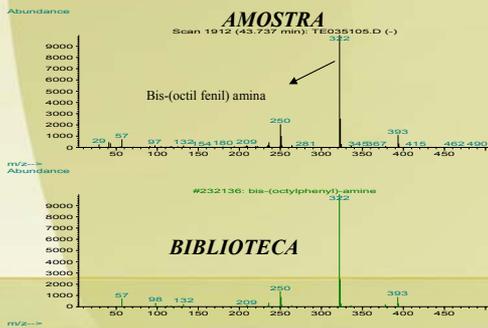
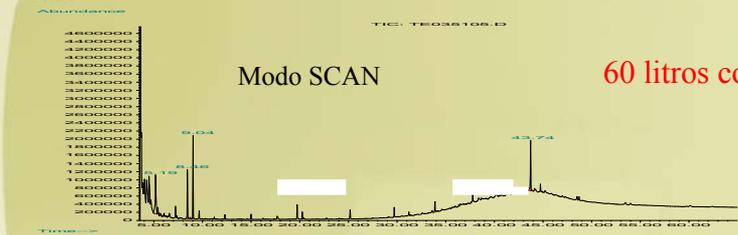


## INFLUÊNCIA DA AMOSTRAGEM NA ANÁLISE





## INFLUÊNCIA DA AMOSTRAGEM NA ANÁLISE



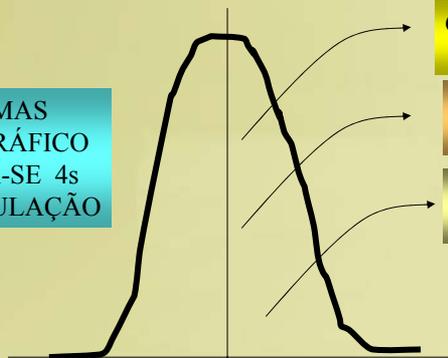
### CONCLUSÃO

A AMOSTRAGEM pode reduzir ou elevar a Detectabilidade do sistema MS ou ainda garantir confiabilidade no resultado analítico, quando se conhece os possíveis efeitos da composição da amostra, sobre o produto pesquisado.



## DESVIOS

EM SISTEMAS CROMATOGRÁFICO CONSIDERA-SE 4 $\sigma$  100% DA POPULAÇÃO



68% da população (1 s)

95% da população (2 s)

99,7% da população (3 s)

VALOR CONSIDERADO VERDADEIRO





## FERRAMENTAS DA VALIDAÇÃO

### Variância

$$\sigma^2 = \frac{\sum (\bar{X} - X_i)^2}{n}$$

### Desvio Padrão

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X_i)^2}{n}}$$

### Estimativa da Variância

$$S^2 = \frac{\sum (\bar{X} - X_i)^2}{n - 1}$$

### Estimativa do Desvio Padrão

$$S = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X_i)^2}{n - 1}}$$

### Coefficiente de variação

$$C.V. = \frac{S \cdot 100}{\bar{X}}$$

a) *Comp. Precisão: teste F*

b) *Rejeições pelos testes:*

**Q e Grubbs**

c) *Estim. CV: Horwitz*

$$X = \bar{x} \pm \frac{s \cdot t}{\sqrt{N}}$$



## Variabilidade e Incertezas

TEOR DE BENZENO = 20 mg/kg  $\pm$  2mg/kg

- Variabilidade  
- Incerteza

**Variabilidade:** o analista valida a metodologia de teor de acordo com as medidas de precisão provenientes das respostas do instrumento analítico e das medidas de exatidão, considerando que todas as fontes de erros estão presentes.

**Incerteza,** além da metodologia validada estima-se, para a medida da variabilidade sobre o resultado, fontes de erros mensuráveis no trajeto percorrido pela amostra, portanto:

Amostragem,  
Pipetas, balões volumétricos,  
Balanças, correções de peso molecular, etc.

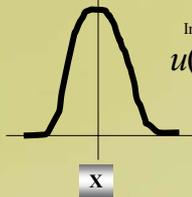
São considerados nos cálculos para a emissão da variabilidade, Agora denominada de Incerteza





# DISTRIBUIÇÕES

## DISTRIBUIÇÃO NORMAL



$$\text{Incerteza } u(x) = \frac{a}{\sqrt{9}}$$

$$u(x) = s \quad \text{Para medidas repetitivas}$$

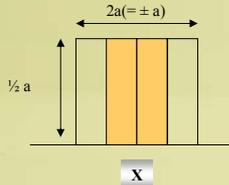
$$u(x) = s$$
$$u(x) = x \cdot (s / \bar{X}) \quad \text{Variações medidas em relação à estimativa do desvio padrão}$$

$$u(x) = \left(\frac{CV\%}{100}\right)x$$

$$u(x) = c / 2 \quad \text{Para } c \text{ até } 95\%$$

$$u(x) = c / 3 \quad \text{Para } c \text{ até } 99,7\%$$

## DISTRIBUIÇÃO RETANGULAR



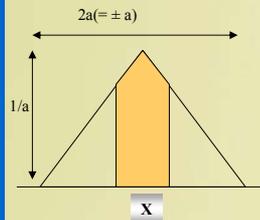
$$\text{Incerteza } u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$$

Quando há um certificado ou limites especificando um nível de confiança 25mL ± 0,05mL.

É feito uma estimativa de um valor máximo.

Baixa variabilidade no sistema

## DISTRIBUIÇÃO TRIANGULAR



$$\text{Incerteza } u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

Valores fechados para x são mais próximos do conjunto

Quando uma estimativa é feita na forma de ranges máximos (± a) descritos por distribuições simétricas.



# INCERTEZAS DE MEDIÇÃO-ISO 17025

## Sequência de Tópicos

1- Incerteza Padrão =  $\mu$  aplicada sobre a variabilidade

$$\mu = \frac{x}{1,94} \quad \text{Distribuição Normal} \quad \mu = \frac{x}{\sqrt{3}} \quad \text{Distribuição Retangular} \quad \mu = \frac{x}{\sqrt{6}} \quad \text{Distribuição Triangular}$$

2- Incerteza Combinada = . Neste caso será adotado a regra da somatória das incertezas:

$$\mu_c = \sqrt{\mu_1^2 + \mu_2^2 + \mu_n^2}$$

3- Incerteza Expandida = U . Normalmente o fator k a ser aplicado será igual à aproximadamente 2

$$U = \mu_c \cdot k$$

4- Expressão do resultado

**Resultado = valor medido ± U (unidades)** onde, valor medido pode ser a média aritmética das medidas.





## IDENTIFICANDO FONTES DE ERROS

Considere uma medição qualquer dentro da química.  
Dentro das operações essenciais verifique se ela foi ideal analiticamente

**Medida do pH:**

- 1- Introduzir o eletrodo numa solução
- 2- em agitação e
- 3- ler o resultado

### DIAGRAMA DE CAUSAS E EFEITOS



## AMOSTRAGEM - COLETA

### COLETA



- Quanto coletar
- Onde e como coletar
- Química dos materiais
- Quantidade suficiente
- Higiene e Segurança
- Quando coletar

100g ; 1 litro ; 1 "bag"

- De lado; na bomba; a 60 cm  
- com trado, c/caneca, sob vácuo

Há reação com o recipiente

Para a duplicata; p/o LQ

Quais os riscos na coleta e análise

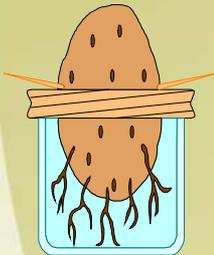
Estações do ano





## AMOSTRAGEM - PRESERVAÇÃO

### PRESERVAÇÃO



#### EVITAR A EVOLUÇÃO

- atmosfera inerte
- pressão de equilíbrio
- caráter do meio
- reacional
- refrigeração

Evitar Oxidação  
 $\text{NO}_2 \rightleftharpoons \text{NO}_3$

Evitar mudança da  
estrutura química  
 $\text{N}_2\text{O}_4 \rightleftharpoons \text{NO}_2$

Alterar o pH para evitar  
evolução microbológica;

Reduzir Cinética

Dar estabilidade:  
 $\text{NH}_3(\text{g}) + \text{H}_2\text{SO}_4(\text{aq})$



## AMOSTRAGEM

### AMOSTRAGEM PROBABILÍSTICA

QUANDO A POPULAÇÃO É FINITA E  
TOTALMENTE ACESSÍVEL

CASUAL SIMPLES  
SISTEMÁTICA  
CONGLOMERADOS  
MÚLTIPLA  
SEQUÊNCIA

### AMOSTRAGEM NÃO PROBABILÍSTICA

É A AMOSTRAGEM OBTIDA  
POR ESTATÍSTICA

A ESMO  
MATERIAL CONTÍNUO  
INTENCIONAL





## QUANTAS AMOSTRAS TIRAR-Aplicação direta

Partindo-se de uma variabilidade de amostragem já determinada, pode-se estimar o número de amostras a serem retiradas de um lote, ou seja, universo amostral definido.

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} \longrightarrow E = \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} \longrightarrow n = \left( \frac{t \cdot s}{E} \right)^2$$

$\mu$  = estimativa da média verdadeira     $\bar{x}$  = média dos resultados analíticos     $t$  = fator de Student  
 $s$  = estimativa do desvio padrão das amostras     $n$  = número de amostras tomadas  
 $E$  = erro de amostragem ( na realidade este termo é a diferença entre a média da amostra e o valor real)

Exemplo (Livro: *Vogel*) = Verificou-se que a estimativa de variabilidade do teor de níquel, num carregamento de minério, com base em 16 determinações, era de  $\pm 1,5\%$ . Quantas amostras devem ser tomadas a fim de dar (a 95% de confiança) um erro de amostragem menor que 0,5% de níquel?

Resolução:  $n = \left( \frac{2,13 \cdot 1,5}{0,5} \right)^2 \approx 41$  amostras



## QUANTAS AMOSTRAS TIRAR

Para amostragens que envolvem universo definido, ou seja, amostragem probabilística, é muito comum o uso da expressão abaixo.

Tambores  
“Pellets” ou Paletes  
Tamboretetes  
Sacos ou “Bags”

$$\sqrt{n} \pm 1$$

Normalmente se aplica:

$$\sqrt{n} + 1$$





## QUANTAS AMOSTRAS TIRAR

Uma outra ferramenta, criada durante a primeira guerra mundial e aplicada para amostragens em munições é o **MILITAR STANDARD**. Em sua versão original, há vários critérios em função da criticidade do produto, denominado em inglês simplesmente de Sample 1, Sample 2, etc..

TAMANHO DO LOTE			NÍVEL GERAL		
			I	II	III
501	A	1200	G	J	K

CÓDIGO DE AMOSTRA	NÚMERO DE AMOSTRAS
G	32
J	80
K	125

### Com base no Militar Standard

Internacional:  
Norma ISO 3951

Brasil:  
**NBR 5429** Planos de amostragem e procedimentos na inspeção por VARIÁVEIS  
**NBR 5426** Planos de amostragem e procedimentos na inspeção por ATRIBUTOS



## PROBABILIDADE

Imaginemos um cesto com bolas. A probabilidade de se retirar uma amostra com defeito, e a partir deste, pode-se definir o tamanho amostral. Imaginando um lote de 1000 bolas sendo 950 brancas e 50 bolas vermelhas, pode-se estimar que a fração defeituosa (vermelha) é:

$$p = \frac{50}{1000} = 0,05$$

$$100p = 5\%$$

Se tirarmos de uma urna, aleatoriamente uma amostra de 100 bolas, o número de bolas vermelhas não será exatamente 5, apesar da porcentagem de defeitos ser 5%, porém, fazendo várias amostragens de 100 bolas, esta variará ao redor de 5% (retornando as amostras para a urna após cada amostragem).





## PROBABILIDADE

A probabilidade de se tirar uma amostra contendo exatamente 0,1,2 .....bolas vermelhas, pode ser calculada:

- a) número de amostras  $n = 100$       b) tamanho do lote  $N = 1000$   
c) o número de combinações de  $N$  bolas pegos por grupo  $n$  é dado pela fórmula:

$$\binom{N}{n} = \frac{N!}{n!(N-n)!}$$

$$\binom{N}{n} = \frac{1000!}{100!900!}$$

**A operação com fatoriais é trabalhosa, aconselha-se, portanto a aplicação de logaritmos**

Se  $D$  for o número de defeitos contidos no lote ( $D=50$  bolas vermelhas) a probabilidade de ter, na amostra  $n$  bolas com  $x$  bolas vermelhas será:

$$p(x) = \frac{\binom{D}{x} \binom{N-D}{n-x}}{\binom{N}{n}}, \quad x \text{ variará de zero a } 50$$

A probabilidade de ter  $x = 3$  bolas vermelhas na amostra será:

$$p(3) = \frac{\binom{50}{3} \binom{950}{97}}{\binom{1000}{100}} = 0,1377$$



## PROBABILIDADE

Aplica-se a **distribuição binomial**, quando o tamanho do lote é infinito. Como sempre devolvemos as bolas na urna, como analogia, temos um processo de fabricação produzindo sobre um período longo, onde 5% dos produtos são defeituosos. A probabilidade  $p$  de se pegar uma bola vermelha é 0,05, a probabilidade de que um lote de  $n$  bolas contém exatamente 0,1,2,3..... $x$  bolas vermelhas é dado pela expressão

$$p_n(x) = \binom{n}{x} p^x (1-p)^{n-x}$$

**A segurança dada por um plano de amostragem está em função da qualidade real do lote sujeito a amostragem.**

- a-Limite de Qualidade Aceitável ( P1) = valor a ser respeitado na marcha normal
- b-Limite de Qualidade de Rejeição ( P2) = valor incompatível com utilização normal do lote.
- c-Risco  $\alpha$  = risco de rejeição de um lote P1.
- d-Risco  $\beta$  = risco de aceitar um lote P2 ( grande quantidade de produto em relação a amostra a ser examinada

**A constatação de que um lote é muito bom ou muito ruim ocorre após um número pequeno de objetos, por outro lado, se o lote tem qualidade compreendida entre P1 e P2 faz-se necessário examinar um grande número de objetos antes de se ter uma opinião.**

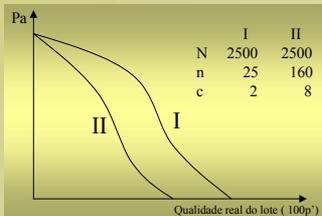




## PROBABILIDADE

Uma forma de verificar a qualidade de um plano de amostragem é dada pela “Curva de Eficácia” que no exemplo será :

$N = 2500$  ( tamanho do lote )  $n = 25$  ( tamanho da amostra )  
 $C = 2$  ( número limite de defeitos para aceitação do lote )



A curva é construída em função da qualidade real **P** do lote e a probabilidade **Pa** que será aceita.

Consideremos as seguinte informações:

$N = 1000$   $n = 20$   $c = 0$

Quando, por exemplo, a proporção defeituosa do lote **P** for igual a 0,01 a probabilidade de tirar desse lote, uma amostra de 20 artigos não contendo nenhum defeito será:

$$P_{(0)} = \frac{\binom{10}{0} \times \binom{990}{20}}{\binom{1000}{20}} = 0,816$$

A partir da probabilidade 0,01 , pode-se iniciar a série de probabilidade, supondo 0,02 ; 0,03.....0,20.



## QUANTO AMOSTRAR EM FUNÇÃO DA TÉCNICA ANALÍTICA

Relacionar a técnica analítica com o que será analisado é fundamental para definir o volume ou massa de coleta.

**GC/FID detecta diretamente, 5 mg/litro de BHC p/1 µL inj.**

**Massa detectada de 5 ng.**

***Análise:***

**Amostra: 0,1 mg/litro BHC não haveria sinal analítico.**

**Amostragem: 50 litros para reduzir a 1 litro.**

**Conclusão:**

- 1- Amostrarmos 50 litros e concentrarmos para 1 litro
- 2- Utilizarmos de outro detector ou técnica
- 3- Mudarmos a técnica ou tecnologia de amostragem: por exemplo SPE, SPME





## ALÍQUOTA DE TRABALHO

A quantidade mínima de amostra a ser utilizada na análise depende do limite instrumental do equipamento, do limite de quantificação ou ainda do VMP ( valor máximo permitido )

Exemplo 1: em função do VMP ( fonte Farmacopéia Brasileira )

$$m = \frac{2}{(1000 \cdot L)}$$

m= massa de amostra a ser tomada (gramas )  
L = Valor Máximo Permitido ( % )

Exemplo: O limite máximo de Arsênio em alimentos é de 5 mg/kg. Qual massa de amostra deve ser tomada para a realização da análise?

$$5\text{mg/kg} = 0,0005\% \quad m = \frac{2}{1000 \times 0,0005} = 4\text{gramas}$$



## AMOSTRAGEM PARA MICROBIOLOGIA

**CONTAMINAÇÃO:** o principal cuidado desta amostragem é o da contaminação da amostra por inabilidade do amostrador.

**RECIPIENTE COLETOR:** deve ser de qualidade a fim de evitar interferências externas, principalmente durante o transporte ao laboratório.

**EVOLUÇÃO:** -*Evitar* o crescimento de microorganismo por alimentação do ativo presente no meio é fundamental para a garantia do resultado. (refrigeração, agente de corte, etc)

-*Analisar* no menor espaço de tempo é garantia de representatividade

**QUANTIDADE SUFICIENTE/MÉTODO VALIDADO:** O primeiro evita retirar nova amostra e o segundo evita reanálises.





## AMOSTRAGEM PARA MICROBIOLOGIA

### **Água Potável:**

O principal cuidado na amostragem de água potável é a adição de um neutralizante do cloro (cloro inibe crescimento bacteriano).

Há no mercado “bags” coletores que já vêm com pastilha de *tiosulfato de sódio* estéril.

Segundo USP, a análise deve ser por plaqueamento direto.

Limite: 500 UFC/mL

### **Água Purificada (PW):**

Não é necessário qualquer neutralizante pois a água já passou por processo de retirada de íons.

O procedimento de análise é o mesmo que para água potável, porém com limite diferente:

Limite: 100 UFC/mL



## AMOSTRAGEM PARA MICROBIOLOGIA

### **Água para injeção (WFI):**

Para água ultra-purificada é necessário que a contagem de bactérias seja feita através de filtração em membrana.

Limite: 10 UFC/100 mL

### **Para qualquer amostragem, deve-se:**

1. Realizar a assepsia da torneira ou saída da tubulação com etanol 70%;
2. Desprezar o volume inicial;
3. Utilizar luvas e evitar qualquer contato do manipulador com a amostra.
4. Manter sob refrigeração e iniciar as análises o quanto antes para evitar proliferação ou morte das células.

Referência:

USP 29 "Water for pharmaceutical purposes





## AMOSTRAGEM PARA MICROBIOLOGIA

- 1- Nos pipetadores automáticos há um feltro interno. É interessante limpá-lo vez ou outra.
- 2- Garantir que o meio de cultura está uniforme em esterilidade
- 3- Verificar a limpeza das salas e bancadas
- 4- Verificar se o fato ocorre com um determinado amostrador
- 5- Verificar se houve mudanças fora do normal nos locais de amostragem (remoções, construções, transportes).
- 6- Verificar se não está ocorrendo desvios de processos de amostragem.

Criar uma planilha de incidentes x contaminação, para poder rastrear.



## UNIFORMIDADE EM MISTURA

Garantir uniformidade da amostra é importante para a precisão analítica, ou seja: REPÊ e REPRÔ. Pode ser obtida utilizando:

### Sólidos

**Redução do Tamanho de Partículas, Moinhos:** pá, impacto, bolas,

**Enquartamento ou Quarteamento:** mistura do sólido sobre superfície plana com retirada de extremidades e centro

**Misturadores:** duplo cone, tambor a pá rotativa, etc

### Líquidos

**Ultra som**

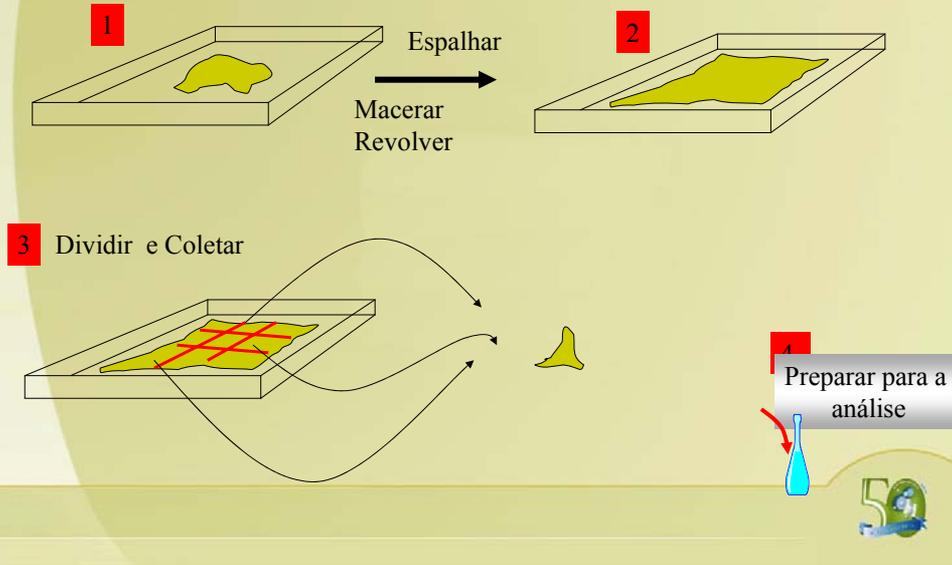
**Agitação magnética ou manual**

**Misturadores:** pistão, pás, impacto





## QUARTEAMENTO DE SÓLIDOS



## UNIFORMIDADE EM MISTURA

### Expressão de Badger e Bauchero

$$M = \sqrt{\frac{\sum (a - \bar{a})^2}{n(\bar{a})^2}}$$

$M$  = grau de uniformidade da mistura

$a$  = medida sobre a mistura

$\bar{a}$  = média das medidas

*Quanto mais próximo de zero  $M$  for mais uniforme será a mistura*





## FREQUÊNCIA DE COLETA

### Instantânea:

Retirada de uma única amostra ou de várias amostras analisadas individualmente. ( **no mínimo duas ocasiões** )

### Instantânea/Composta:

Retirada de amostras distintas que serão agrupadas em uma única amostra. ( **em função do amostral** )

### Randômica:

Retirada em ocasiões diferentes, mas não ordenadas ( uma pela manhã, outra a tarde, outra pela manhã, outra a noite ) ( **no mínimo três por ponto** )

### Coleta acumulada:

Retirada no mesmo recipiente de amostras ao longo do tempo determinado ( **mínimo de um ciclo do processo** )

### Coleta Espaçada/acumulada:

Retirada ordenada de ocasiões em vários pontos coerentes e agrupadas e uma única amostra. ( **mínimo de um ciclo do processo** )



## RECIPIENTES DE COLETA

Os recipientes de coleta estão principalmente em função de:

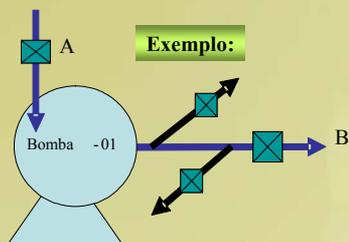
- Resistência do material a choques e temperatura
- Inerticidade ao produto amostrado
- Resistência à luz ou outra ação física
- Material de boa lavabilidade
- Material reciclável ou biodegradável
- Boa vedação





## IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA

Identificar uma amostra pode ser pouco complexo e será se houver observação



1- Coleta de A

2- Coleta do ponto A da bomba-01

3- Coleta do ponto A, Alimentação da bomba-01  
as 16:00hs

4- Coleta do ponto A, Alimentação da bomba-01  
as 16:00hs de 24/11/2006

5- Coleta do ponto A, Alimentação da bomba-01  
as 16:00hs de 24/22/2006 por Claudia-LQ

6- Coleta do ponto A, Alimentação da bomba-01  
as 16:00hs de 24/11/2006 por Claudia-LQ  
CUIDADO – CORROSIVO-USAR EPI

7- Coleta do ponto A, Alimentação da bomba-01  
as 16:00hs de 24/11/2006 por Claudia-LQ  
CUIDADO – CORROSIVO-USAR EPI  
Preservado com HNO<sub>3</sub> – Manter a 4°C  
Validade : 1 semana



## PRESERVAÇÃO DA AMOSTRA

Preservar uma amostra é reduzir ao máximo o processo de CINÉTICA QUÍMICA a fim de aumentar o prazo analítico para isso pode-se utilizar de:

**Redução de Temperatura**

Geladeira, freezers, gelo seco, N<sub>2</sub> liq., ar refrig.

**Redução de Oxigênio**

Vácuo, gases ( N<sub>2</sub>, Ar )

**Redução de Umidade**

Dissecador, desumidificador

**Redução de Luz**

Âmbar, insul filme, sala escura

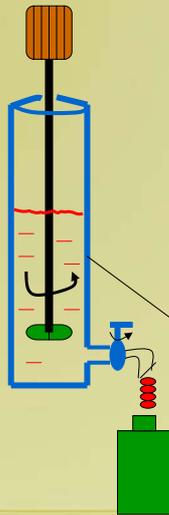
**Introdução de Agente de Corte**

dicromato, ácido, base, esterificante





## COLETA-LÍQUIDO HETEROGÊNEO



Quando da presença de sólidos em suspensão imprime-se agitação a um sistema tubular de aproximadamente 50cm de altura por 15 cm de diâmetro.

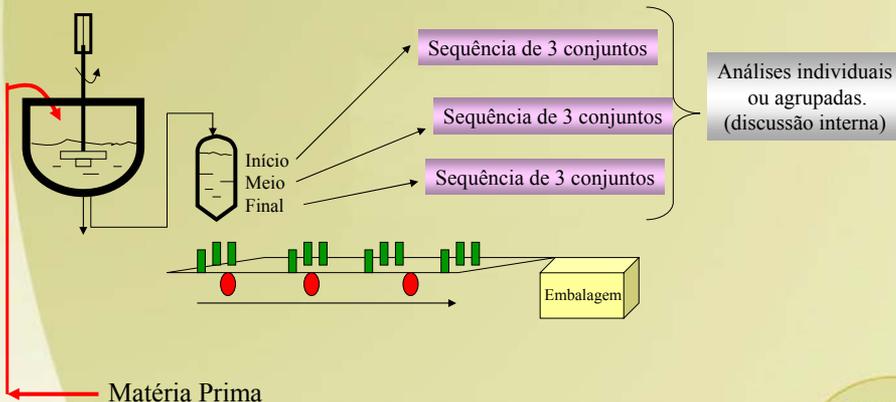
Deve-se desprezar as primeiras coletas, retornando-as ou não para o recipiente.

O material do sistema estará sempre em função da inercidade às substâncias em pesquisa na amostra



## AMOSTRAGEM PROCESSO DE ENVASE

A proposta de coleta pode ser alterada em função da quantidade de produção e tempo de produção



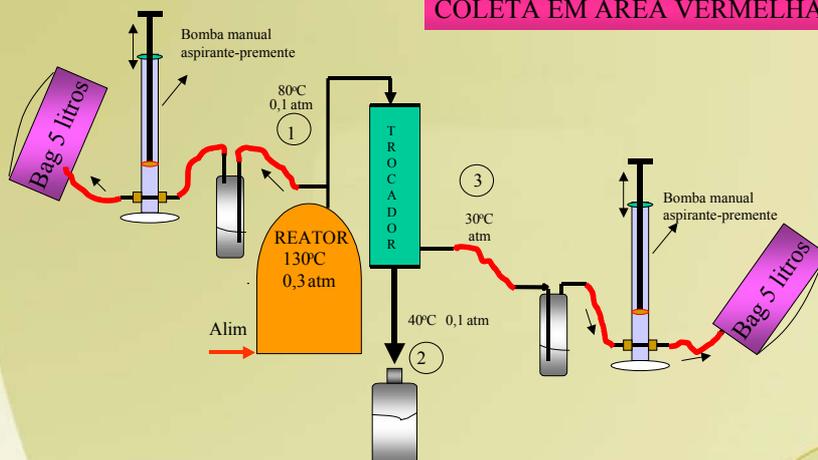


## COLETA DE SOLO COM TRADOS



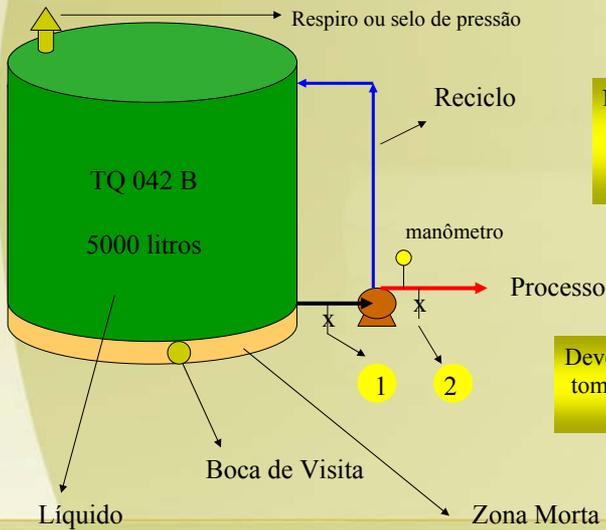
## COLETA DE GASES/VAPORES E CONDENSADOS

### COLETA EM ÁREA VERMELHA





## COLETA-INSTANTÂNEA

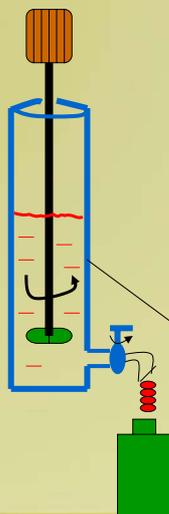


Neste caso deve-se reciclar todo o conteúdo do TQ pelo menos 3 vezes antes de se retirar a amostra.

Deve-se garantir que a tubulação de tomada de amostra foi drenada em pelo menos 3 vezes



## COLETA-LÍQUIDO HETEROGÊNEO



Quando da presença de sólidos em suspensão imprime-se agitação a um sistema tubular de aproximadamente 50cm de altura por 15 cm de diâmetro.

Deve-se desprezar as primeiras coletas, retornando-as ou não para o recipiente.

O material do sistema estará sempre em função da inercidade às substâncias em pesquisa na amostra

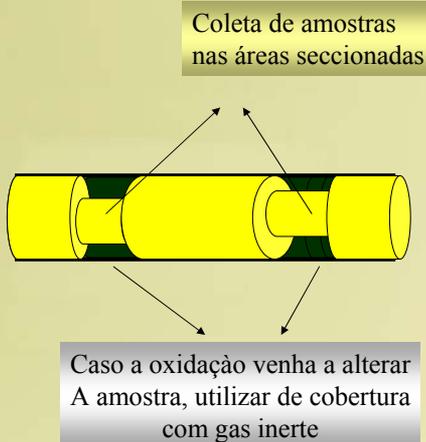




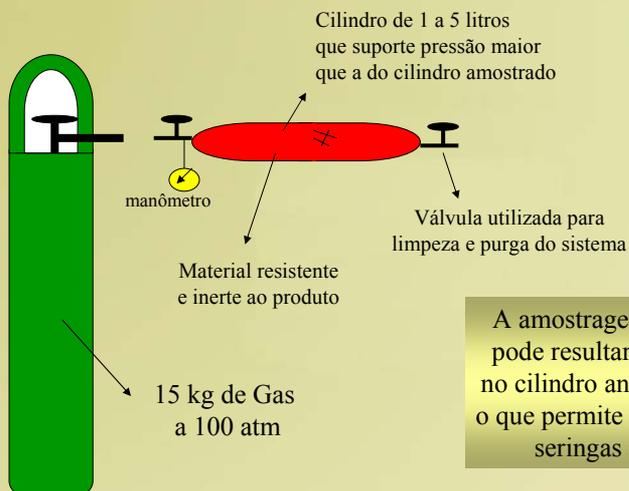
## COLETA-SÓLIDOS CILÍNDRICOS

Exemplos:

Papel de embalagem  
Fita crepe  
Fita isolante  
Papel de fax  
Bobina de papel



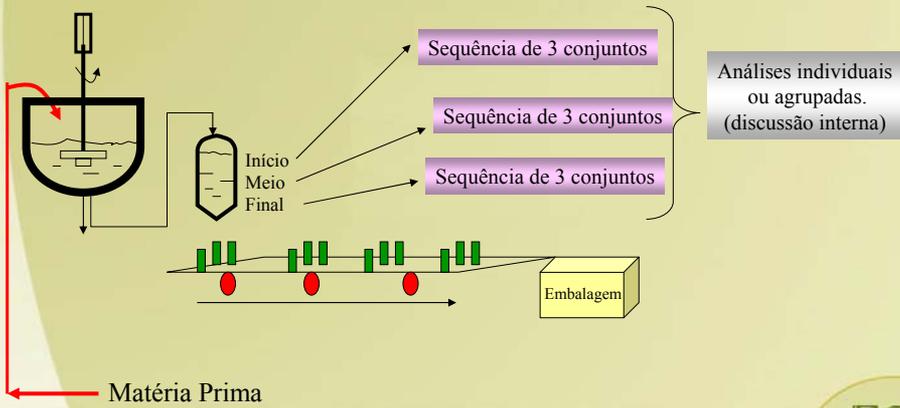
## COLETA- GAS EM CILINDROS



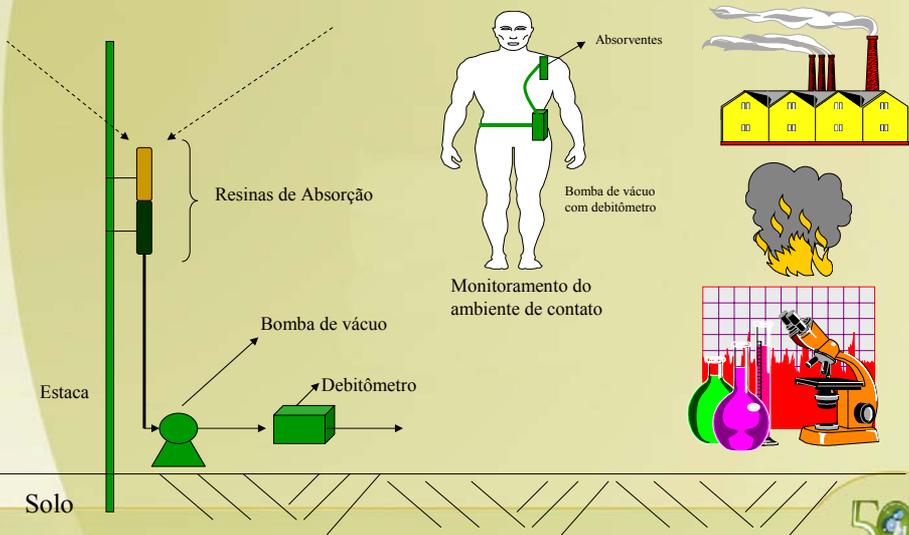


## AMOSTRAGEM PROCESSO DE ENVASE

A proposta de coleta pode ser alterada em função da quantidade de produção e tempo de produção

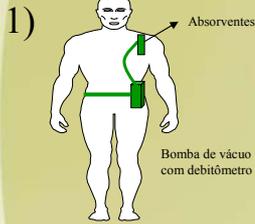


## AMOSTRAGEM DE AR ATMOSFÉRICO





## AMOSTRAGEM CANAVIAL



Monitoramento do ambiente de contato



PAHs
<i>Naftaleno</i>
<i>Acenaftileno</i>
<i>Acenafteno</i>
<i>Fluoreno</i>
<i>Fenantreno</i>
<i>Antraceno</i>
<i>Pireno</i>
<i>Fluoranteno</i>
<i>Criseno</i>
<i>Benzo[a]antraceno</i>
<i>Benzo[b]fluoranteno</i>
<i>Benzo[k]fluoranteno</i>
<i>Benzo[a]pireno</i>
<i>Indeno[1,2,3-cd]pireno</i>
<i>Dibenzo[ah]antraceno</i>
<i>Benzo[ghi]perileno</i>

TPH
<i>Tetradecano</i>
<i>Pentadecano</i>
<i>Hexadecano</i>
<i>Octadecano</i>
<i>Nonadecano</i>
<i>Eicosano</i>
<i>Heneicosano</i>
<i>Docosano</i>
<i>Tetracosano</i>
<i>Pentacosano</i>
<i>Hexacosano</i>



## ESTABILIDADE

### ALGUMAS FORMAS DE SE OBTER A ESTABILIDADE

#### ESTABILIDADE ACELERADA

- Utiliza de condição acentuada de Temperatura e Umidade
- Normalmente pelo período de:
  - 6 meses ( condição acentuada 1 )
  - 3 meses ( condição acentuada 2 )

#### ESTABILIDADE DE CURTA DURAÇÃO

- Utiliza da variação de temperatura em ciclos de congelamento e descongelamento

#### ESTABILIDADE DE BANCADA ou Injeção automática

- Utiliza da condição de Temperatura e Luminosidade ambiente

#### ESTABILIDADE DE MÉDIA DURAÇÃO

- Utiliza da temperatura de armazenamento com análises em dias alternados, sendo a estabilidade estimada pelas equações cinéticas de Arrhenius.

#### ESTABILIDADE DE LONGA DURAÇÃO

- Utiliza da temperatura de armazenamento com análises mensais pelo período estimado da validade ( maiores que 1 ano)





## ESTABILIDADE/ANVISA/Método Analítico

O ensaio de **Estabilidade** para o método analítico, também conhecido como ensaio de “**Stress**” busca proteger a análise de interferências possíveis sobre a amostra durante o ensaio analítico.

A Anvisa, destaca alguns tipos de estabilidade, porém fica em aberto os parâmetros:

- 1- Luz*
- 2- Calor*
- 3- Umidade*
- 4- Hidrólise ácida/básica*
- 5- Oxidação*



## VALIDAÇÃO QUALITATIVA

### DE FORMA BEM SIMPLIFICADA

ESPECTROMETRIA DE MASSAS - **Determina fragmentos e Peso Molecular**  
INFRA VERMELHO - **Determina grupos funcionais**  
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR- **Determina posições na Cadeia Carbônica**  
RAIO-X - DIFRAÇÃO - **Determina Polimorfismo**  
ANÁLISE ELEMENTAR (CHNSO) - **Determina a composição Centesimal**  
ABSORÇÃO AO ULTRA-VIOLETA - **Determina a presença de insaturações**  
ABSORÇÃO AO VISÍVEL - **Determina a presença de cromógenos**  
COLORIMETRIA - **Determinações da Química Clássica**

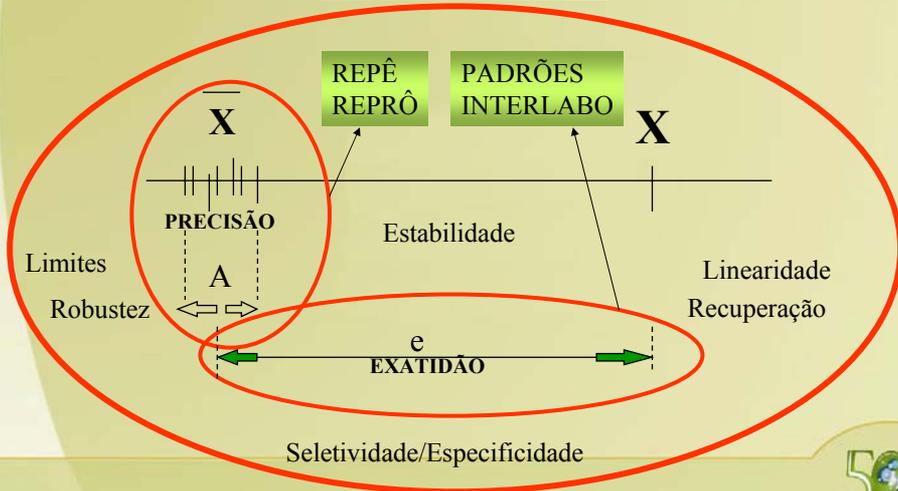
OBS.: NADA IMPEDE O USO DESSAS TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO,  
DE FAZEREM ANÁLISE QUANTITATIVA





## ACERTIVIDADE

# VALIDAÇÃO



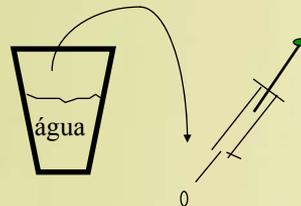
## Prefixos das Unidades do SI

Nome	Símbolo	Fator de multiplicação da unidade
yotta	Y	$10^{24} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
zetta	Z	$10^{21} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
exa	E	$10^{18} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
peta	P	$10^{15} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
tera	T	$10^{12} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
giga	G	$10^9 = 1\ 000\ 000\ 000$
mega	M	$10^6 = 1\ 000\ 000$
quilo	k	$10^3 = 1\ 000$
hecto	h	$10^2 = 100$
deca	da	10

Uni. Funda	Símbolo	Fator de multiplicação da unidade
deci	d	$10^{-1} = 0,1$
centi	c	$10^{-2} = 0,01$
milli	m	$10^{-3} = 0,001$
micro	$\mu$	$10^{-6} = 0,000\ 001$
nano	n	$10^{-9} = 0,000\ 000\ 001$
pico	p	$10^{-12} = 0,000\ 000\ 000\ 001$
femto	f	$10^{-15} = 0,000\ 000\ 000\ 000\ 001$
atto	a	$10^{-18} = 0,000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 001$
zepto	z	$10^{-21} = 0,000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 001$
yocto	y	$10^{-24} = 0,000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 001$

Dificuldade de Ver(MEV) E na Balança??

Microscopia de Transmissão E na Balança????



1-Volume de amostra analisada:  
**0,5 microlitros - split 1:50**

Análise:  
Clorofórmio a 100 ppb ( $\mu\text{g/l}$ )

2-Massa Detectada?

# 1 pg





## DETECTABILIDADE

A **DETECTABILIDADE** normalmente é confundida em análise instrumental com a **SENSIBILIDADE**

### DETECTABILIDADE

- 1- É o quanto o sistema de detecção do sistema analítico consegue “enxergar”.
- 2- É a quantidade mínima da espécie química em massa ou volume que o sistema analítico consegue mensurar.
- 3- Um equipamento possui alta detectabilidade, quando consegue “enxergar” uma quantidade mínima da função ou espécie em questão.

**Exemplo de Ótimas Detectabilidades (consideração geral, pois depende da molécula e do meio)**

CFG/FID	=	0,5 mg/litro
CFG/ECD	=	0,1 µg/litro
GC/MS/SIM	=	5 µg/litro
LC/MSMS	=	0,1 ng/mL
ICP	=	1 µg/litro

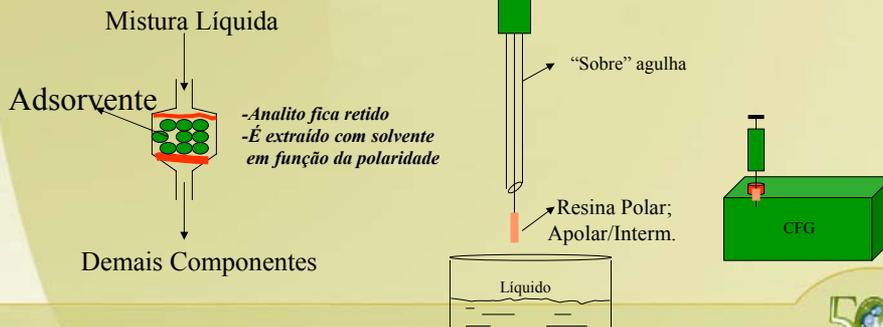
Se **0,5 µL** de amostra introduzida num GC/MS/SIM a massa detectada é de **2,5 picogramas (pg)**  
Se o **split for 1:50** a massa será **0,05 pg = 50 fentogramas**



## SISTEMAS DE EXTRAÇÃO/CONCENTRAÇÃO

Extração Líquido/Líquido	Extração Por Arraste Gasoso (Head Space Dinâmico)	
Extração Líquido/Vapor	Extração por Arraste e “Trap” (Head Space Purge&Trap)	
Extração p/Aquecimento (Head Space Stático)	Extração Contra Corrente	Extração por Pdades Coligativas

SPE = Solid Phase Extraction      SPME = Solid Phase Micro Extraction





## VALIDAÇÃO

### São valores de *Precisão*:

- Repetitividade ( inter e intra ocasião)
- Reprodutividade
- Desvios
- Testes de rejeição

### São valores de *Exatidão*:

- seletividade/especificidade
- calibração
- padrões
- linearidade (curvas e detecção)
- recuperação
- ensaio interlaboratorial
- integração do sinal analítico

### Robustez

- *experiência do analista*



## LINEARIDADE

Utilizando-se do Excell = correl ( A5:A12;B5:B12 )  
 conc. ; sinal

Pode-se observar que a variabilidade se reduz com o aumento de “nove”

ppm	área
0,5	100
1,0	200
1,5	300
2,0	400
2,5	500
3,0	600
3,5	700
<b>r =</b>	<b>1,000</b>

ppm	área
0,5	100
1,0	200
1,5	300
2,0	400
2,5	500
3,0	600
3,5	700
<b>r =</b>	<b>0,965</b>

Hoje discute-se entre a aplicação do **r** ou da variabilidade máxima de 15% entre a repetição dos valores obtidos na curva de resposta.





## ENTENDENDO PRECISÃO E EXATIDÃO

B;M;A = conc. Baixa;Média;Alta

	B	M	A	Média
CV	2,5%	2,0%	1,8%	2,1%
Exatidão	93%	95%	96%	94,6%

### PRECISÃO:

- As medidas 2,5 ; 2,0 ; 1,8 correspondem as médias obtidas na REPEtitividade
- A medida 2,1 média dos CV, REPROdutividade

### EXATIDÃO:

-O quanto o método de amostragem ou análise consegue representar o ativo no amostral

#### PERGUNTA:

1- Considerando a Exatidão 94,6% e sabendo que no amostral há 100%, posso acrescentar os 5,4% no resultado?

**NÃO**



## EXATIDÃO

Na prática a Exatidão tem por finalidade, garantir que o valor medido, esteja próximo do valor declarado.

**EXATIDÃO** : qualidade que exprime compatibilidade de valor aceito com valor de referência.



**ACURÁCIA** : é o grau de proximidade de um determinado valor ao valor real ou conhecido nominal em condições determinadas. Pode ser medido em relação ao maior desvio.

Expressão da medida:

$$\% \text{ Compatibilidade} = \frac{\text{valor medido} \times 100}{\text{valor nominal}}$$



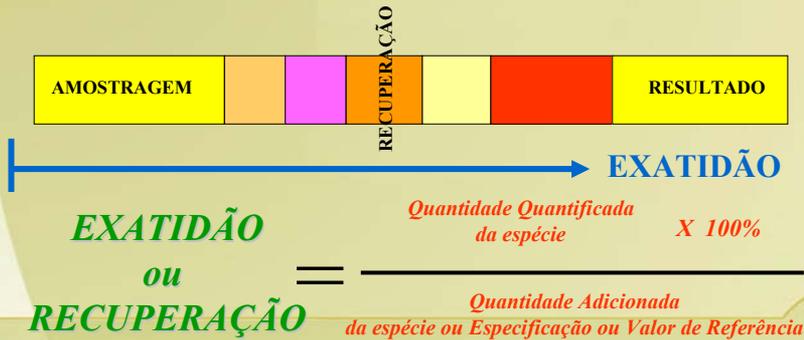


## RECUPERAÇÃO

### RECUPERAÇÃO e EXATIDÃO

Para a Farmacêutica : **RECUPERAÇÃO = EXATIDÃO**

Para a Química : **RECUPERAÇÃO ≠ EXATIDÃO**



## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO

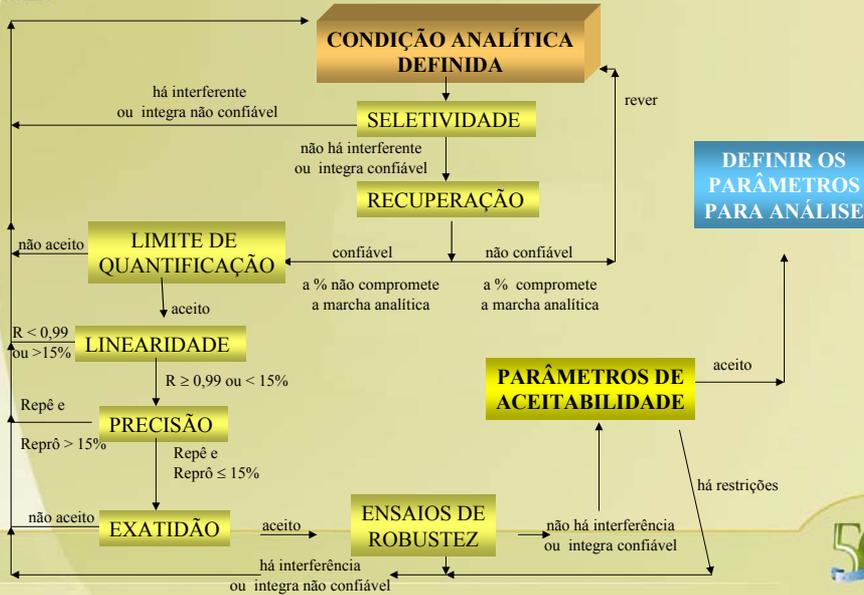


(\*) A proposta T&E é verificar a estabilidade na bancada, ou seja, qual o tempo de uso do padrão e amostra durante o processo analítico.  
Obs.: O tempo pesquisado será o obtido durante o processo de validação do método.





# VALIDAÇÃO DO MÉTODO



## CONFIABILIDADE ANALÍTICA – METAIS VIA AA ou ICP

ENSAIO	AMOSTRAL	Número de análises
Estabilidade	<i>Padrão meio ácido: Inicial/12 horas/24 horas conc. baixa-média-alta</i>	09
	<i>Padrão sobre amostra meio ácido: Inicial/12 horas/24 horas conc. baixa-média-alta</i>	09
Seletividade	<i>Bco./triplicata de padrões sobre o bco. de conc. baixa-média-alta</i>	10
Límite de Quantificação	<i>Solução "mãe" previsão de 5 diluições, e duplicada dos valores menores</i>	10
Linearidade	<i>Curva de Resposta com cinco pontos com duplicata por ponto.</i>	10
Precisão	<i>Triplicada de conc. baixa-média-alta em duplicata de ocasião</i>	18
Exatidão	<i>Média de duplicata de conc. baixa-média-alta em duplicata de ocasião</i>	12
Robustez	<i>-Variação da concentração ácida de abertura(duplicata)</i>	04
	<i>-Variação do comprimento de onda (duplicata)</i>	04 = 86 análises





## CONFIABILIDADE ANALÍTICA - CFG COM EXTRAÇÃO

ENSAIO	AMOSTRAL	Número de análises
<b>Estabilidade</b>	<i>Padrões em três concentrações distintas: tempo zero/12 e 24 hs em bancada</i>	27
	<i>Padrões sobre a amostra em três concentrações distintas: ciclos de armazenamento e temperatura ambiente</i>	18
	<i>Padrões sobre a amostra em três concentrações distintas mantidos no sistema de armazenamento: início do estudo e final da previsão</i>	9
<b>Seletividade</b>	<i>Bco./duplicata sobre do padrão sobre o bco. de conc.baixa-média-alta</i>	7
<b>Recuperação</b>	<i>Padrões sobre a amostra em três concentrações distintas: duplicata sobre cada concentração</i>	12
<b>Limite de Quantificação</b>	<i>Solução "mãe" previsão de 5 diluições, e duplicada dos valores menores</i>	10
<b>Linearidade</b>	<i>Curva de Resposta com cinco pontos com duplicata por ponto.</i>	10
<b>Precisão</b>	<i>Triplicada de conc.baixa-média-alta em duplicata de ocasião</i>	18
<b>Exatidão</b>	<i>Média de duplicada de conc.baixa-média-alta em duplicata de ocasião</i>	12
<b>Robustez</b>	<i>-Variação da temperatura da coluna (maior e menor em duplicata para o padrão sobre a amostra com separação mais crítica)</i>	04
	<i>-Variação da coluna cromatográfica ( para os padrões sobre a amostra com baixa e alta concentração e separação mais crítica )</i>	08 = 135



## VALIDAÇÃO EM AMOSTRAGEM

### ***Validar em Amostragem difere de Validar Método:***

- dimensão (universo de: micro; tonelada, km<sup>2</sup>; oceano, etc)
- tempo e momento (longas distâncias, tempo de residência)
- não repetir o mesmo amostral (oceano; solo, etc)
- custo (pode ser elevado)
- dificuldade de acesso (sacarias)
- dificuldade de coleta (tambor de mel)

### ***Ferramentas de Validação em Amostragem:***

- São as mesmas do método, porém a pertinência do uso deve ser estudado caso a caso.
- Normalmente utilizam-se normas ou regras para manter histórico de comparação





## VALIDAÇÃO EM AMOSTRAGEM

Os itens de Validação, podem ser comparados em Amostragem e Método

Método	Amostragem
<b>Seletividade/Especificidade</b>	<i>Normalmente visual ou teste simples. Pode-se usar Instr como I.Vermelho</i>
<b>Recuperação</b>	<i>A princípio Não Pertinente</i>
<b>Limites Quantificação/Deteção</b>	<i>A princípio Não Pertinente, porém pode-se estimar a quantidade</i>
<b>Linearidade</b>	<i>A princípio Não Pertinente</i>
<b>Precisão (repê/reprô)</b>	<i>A princípio é Pertinente. Execução pode ser complexa. Caso a caso.</i>
<b>Exatidão</b>	<i>A princípio Não Pertinente. Deve-se buscar probabilidades.</i>
<b>Robustez/Estabilidade</b>	<i>A princípio Não Pertinente para Robustez, porém viável para Estabilidade</i>
<b>Parâmetros de Aceitabilidade</b>	<i>Mais na forma de amostrar, de preservar, ou seja, parâm. mensuráveis</i>
<b>Parâmetros de Coleta</b>	<i>Deve ser planejado em detalhes</i>
<b>Parâmetros configurados</b>	<i>São parâmetros em função da amostragem(local, HST,reações, equip., etc)</i>



## CONFIABILIDADE



### DESENVOLVIMENTO

-sinal analítico  
-metodologia  
-calibração



### VALIDAÇÃO

### ANÁLISE



### EMISSÃO DE RESULTADOS

### ARQUIVOS

Padrões

### CONDIÇÃO ANALÍTICA DEFINIDA

SELETIVIDADE

RECUPERAÇÃO

LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

LINEARIDADE

PRECISÃO

EXATIDÃO

ENSAIOS DE ROBUSTEZ

PARÂMETROS DE ACEITABILIDADE

PARÂMETROS PARA ANÁLISE



DESENVOLVE



BIBLIOGRAFIA OU ADEQUAÇÃO DO EXISTENTE





# AMOSTRANDO

## DOCUMENTO DE AMOSTRAGEM

Empresa: \_\_\_\_\_ CNPJ \_\_\_\_\_ IE \_\_\_\_\_  
 Endereço: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_ CEP \_\_\_\_\_  
 Responsável da Empresa durante a Coleta: \_\_\_\_\_ Cargo: \_\_\_\_\_  
 Atividade da Empresa: \_\_\_\_\_

Identificação da Amostra	Descrição do Ponto
data: __/__/__ hora: _____	

### ANÁLISES

### COLETA

retirada por: \_\_\_\_\_

Microbiologia: \_\_\_\_\_  
 Frasco: \_\_\_\_\_  
 Preservação: \_\_\_\_\_  
 DBOS/DQO : \_\_\_\_\_  
 Frasco: \_\_\_\_\_  
 Preservação: \_\_\_\_\_

Obs. Gerais: \_\_\_\_\_

T&E Analítica \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ Contratante  
 nome: \_\_\_\_\_ nome: \_\_\_\_\_



# AMOSTRANDO

## DOCUMENTO DE AMOSTRAGEM

Empresa: \_\_\_\_\_ Endereço: \_\_\_\_\_  
 Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_ CEP \_\_\_\_\_  
 Responsável da Empresa na Coleta: \_\_\_\_\_ data da coleta \_\_/\_\_/\_\_  
 Fone ( ) \_\_\_\_\_ Fax ( ) \_\_\_\_\_

Identificação da Amostra	hora da coleta:	Descrição do Ponto	Quantidade coletada
--------------------------	-----------------	--------------------	---------------------

Identificação da Amostra	hora da coleta:	Descrição do Ponto	Quantidade coletada
--------------------------	-----------------	--------------------	---------------------

Identificação da Amostra	hora da coleta:	Descrição do Ponto	Quantidade coletada
--------------------------	-----------------	--------------------	---------------------

Identificação da Amostra	hora da coleta:	Descrição do Ponto	Quantidade coletada
--------------------------	-----------------	--------------------	---------------------

T&E Analítica \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ Contratante  
 nome: \_\_\_\_\_ nome: \_\_\_\_\_





## CONFIABILIDADE



CARÁTER



Amostrador e Analista

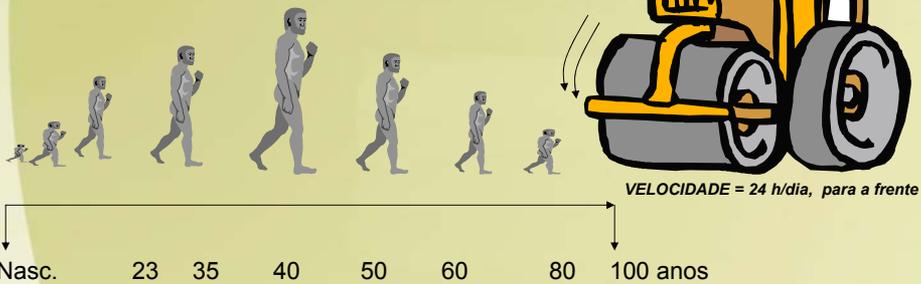
FORMAÇÃO



## ROLO COMPRESSOR

SE REALIZOU O TEMPO AVANÇOU

SE **NÃO** REALIZOU O TEMPO TAMBÉM AVANÇOU



SE CONTINUAS PENSANDO EM REALIZAR  
O TEMPO CONTINUA AVANÇANDO.



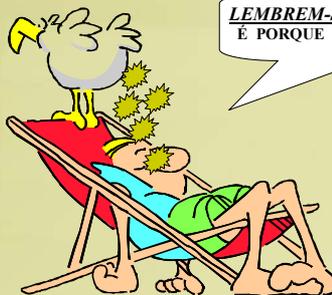


## TRANQUILIDADE

### **O QUE FAZER?**



**CONVERSAR SEMPRE**



**LEMBREM-SE: QUEM SONHA MUITO É PORQUE DORME DEMAIS.**

W.Churchil

**TRANQUILO MAS ATENTO**



# MUITO OBRIGADO

**T&E ANALÍTICA**

CAMPINAS – Rua Lauro Vanucci 1260 – J.Sta.Cândida CEP: 13087 548

**F: (19)-3756 6600 Fx: 3296 0128**

**teanalitica@teanalitica.com.br**

**flavio@teanalitica.com.br**

**www.teanalitica.com.br**

