

A seqüência analítica

Francisco José Krug
fjkrug@cena.usp.br

CEN0260 Métodos Instrumentais de Análise Química

MISSÃO DA QUÍMICA ANALÍTICA

Propor os meios para a determinação
da composição química dos materiais

Procurando uma maneira alternativa para fazer
análises quantitativas



Qual o teor de ferro
no pão ?

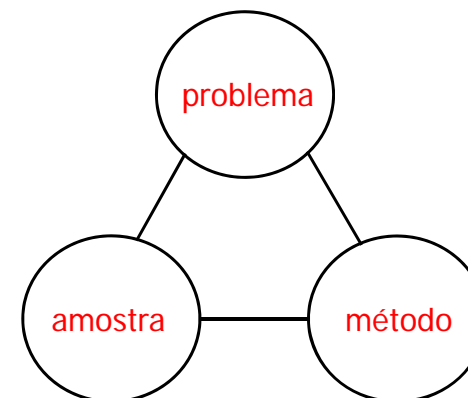
127 mg.kg⁻¹ Fe

(127 mg de ferro por quilo
da amostra)



Adaptado de slide
do Prof. Mauro Korn, DQ-UNEB

TRINDADE DA QUÍMICA ANALÍTICA



H. Bergamin Filho, 1996

A seqüência analítica

- Definição do problema
- Escolha do método
- Amostragem
- Pré-tratamento da amostra
- Medida
- Calibração
- Avaliação
- Ação

fjkrug@cena.usp.br

A seqüência analítica

- **Definição do problema**
- Escolha do método
- Amostragem
- Pré-tratamento da amostra
- Medida
- Calibração
- Avaliação
- Ação

fjkrug@cena.usp.br

Problema: Determinação do teor de chumbo em açúcar

Brasil : 307 usinas

128 localizadas em SP



70% da produção de açúcar é exportada



fjkrug@cena.usp.br

Fonte: União da Agroindústria Canaveira de São Paulo - ÚNICA, 2002

Problema: Determinação do teor de chumbo em açúcar

Brasil : 444 usinas



45% da exportação mundial de açúcar



fjkrug@cena.usp.br

Fonte: União da Agroindústria Canaveira de São Paulo - ÚNICA

Açúcar: controle de qualidade (Pb)

Codex Alimentarius Commission
(CAC/FAO/WHO)

Food Chemical Codex
(FCC)



0,1 mg kg⁻¹ Pb em dextrose e frutose

0,5 mg kg⁻¹ Pb em sacarose, xaropes de glicose ou de frutose de milho

FAO/WHO CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Alimentarius. Rome: FAO; WHO, 1995. CX/FAC 96/17

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Food Chemical CODEX. 4.ed. Washington: Committee on Food Chemicals Codex, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy of Sciences, 1996. p.400-401, 763-765

Açúcar: controle de qualidade (Pb)

Codex Alimentarius Commission
(CAC/FAO/WHO)

Food Chemical Codex
(FCC)



0,1 mg kg⁻¹ Pb em dextrose e frutose

0,5 mg kg⁻¹ Pb em sacarose, xaropes de glicose ou de frutose de milho

FAO/WHO CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Alimentarius. Rome: FAO; WHO, 1995. CX/FAC 96/17

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Food Chemical CODEX. 4.ed. Washington: Committee on Food Chemicals Codex, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy of Sciences, 1996. p.400-401, 763-765

A seqüência analítica

- Definição do problema
- Escolha do método
- Amostragem
- Pré-tratamento da amostra
- Medida
- Calibração
- Avaliação
- Ação

fjkrug@cena.usp.br

Escolha do método

Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS)

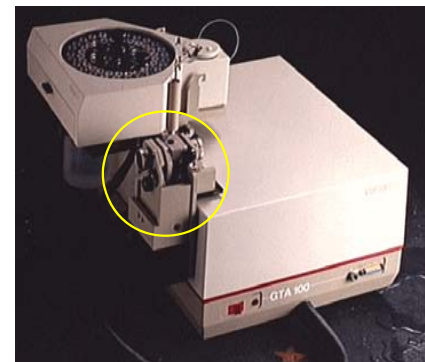
- Limite de detecção = 0,005 mg kg⁻¹ Pb
- Coeficiente de variação dos resultados <10%
- Taxa de amostragem: 2 min/amostra
- Custo por determinação: máximo R\$ 10,00

fjkrug@cena.usp.br

Tubo de grafite



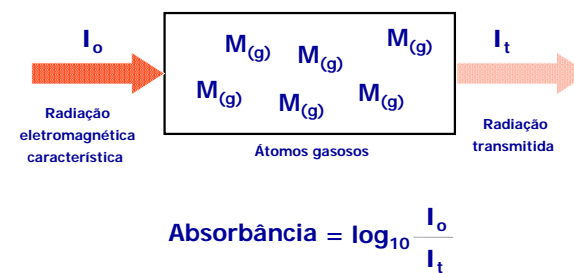
Forno de grafite Varian



Detalhe do forno




Espectrometria de absorção atômica (AAS)



©Francisco José Krug

CODEX alimentarius



FAO/WHO Food Standards

CODEX alimentarius

OFFICIAL STANDARDS

CAC/GL 50-2004 Page 1 of 69

GENERAL GUIDELINES ON SAMPLING
CAC/GL 50-2004

http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp

CODEX STAN 53-1981 – ALIMENTOS COM BAIXO TEOR DE SÓDIO

CODEX STAN 53-1981

Page 1 of 3

CODEX STANDARD FOR SPECIAL DIETARY FOODS WITH LOW-SODIUM CONTENT (INCLUDING SALT SUBSTITUTES)

CODEX STAN 53-1981

1. SCOPE

1.1 This standard applies to foods which are represented directly or indirectly or by implication, as intended for special dietary uses by reason of their low sodium content. It also applies to salt substitutes with low sodium content.

1.2 The standard contains only provisions which are specific to the sodium content of foods intended for special dietary uses and to salt substitutes. It does not refer to other aspects of the composition of such foods including the use of food additives, except salt substitutes.

CODEX STAN 53-1981

2.1 Definition

Special dietary foods with low sodium content are foods whose special dietary value results from the reduction, restriction, or removal of sodium.

2.2 Subsidiary Definitions

Low sodium and *Very low sodium* foods are foods conforming to the respective provisions regarding maximum sodium content prescribed in sub-sections 3.1.1 and 3.1.2 of this standard.

3. ESSENTIAL COMPOSITION AND QUALITY FACTORS

3.1 Special Dietary Foods with Low Sodium Content (Excluding Salt Substitutes As Such)

3.1.1 A special dietary food with *low sodium* content is a food which has been processed without the addition of sodium salts, and the sodium content of which is not more than one half of that of the comparable normal product as consumed, and the sodium content of which is not more than 120 mg/100 g of the final product as normally consumed.

1,20 g kg⁻¹ Na

3.1.2 A special dietary food with *very low sodium* content is a food which has been processed without the addition of sodium salts, and the sodium content of which is not more than one half of that of the comparable normal product as consumed, and the sodium content of which is not more than 40 mg/100 g of the final product as normally consumed.

0,40 g kg⁻¹ Na

3.1.3 The addition of salt substitutes conforming to sub-section 3.2 to a special dietary food with low sodium content is permitted and shall be limited by good manufacturing practice.

CODEX STAN 72 – 1981

CODEX STAN 72 – 1981

Page 1 of 21

STANDARD FOR INFANT FORMULA AND FORMULAS FOR SPECIAL MEDICAL PURPOSES INTENDED FOR INFANTS

CODEX STAN 72 – 1981

SECTION A: REVISED STANDARD FOR INFANT FORMULA

PREAMBLE

This standard is divided into two sections. Section A refers to Infant Formula, and Section B deals with Formulas for Special Medical Purposes Intended for Infants.

CODEX STAN 72 – 1981

Standard for infant formula and formulas for special medical purposes intended for infants

5. CONTAMINANTS

5.1 Pesticide Residues

The product shall be prepared with special care under good manufacturing practices, so that residues of those pesticides which may be required in the production, storage or processing of the raw materials or the finished food ingredient do not remain, or, if technically unavoidable, are reduced to the maximum extent possible.

5.2 Other Contaminants

The product shall not contain contaminants or undesirable substances (e.g. biologically active substances) in amounts which may represent a hazard to the health of the infant. The product covered by the provisions of the Standard shall comply with those maximum residue limits and maximum levels established by the Codex Alimentarius Commission.

Maximum level

Lead 0.02 mg/kg (in the ready-to-use product) 0,02 mg.kg⁻¹ Pb

Formerly CAC/RS 72-1972. Adopted as a world-wide Standard 1981. Amended 1983, 1985, 1987. Revision 2007

CODEX STAN 193-1995 1
Adopted 1995, Revised 1997, 2006, 2008

CODEX GENERAL STANDARD FOR CONTAMINANTS AND TOXINS IN FOODS

SCHEDULE 1 - MAXIMUM AND GUIDELINE LEVELS FOR CONTAMINANTS AND TOXINS IN FOODS

INDEX OF CONTAMINANTS

NAME	PAGE
Mycotoxins	21
Aflatoxins, Total	21
Aflatoxin M1	37
Ochratoxin A	37
Parasin	38
Heavy Metals	38
Arsenic	38
Cadmium	39
Lead	40
Mercury	43
Methylmercury	43
Tin	44
Radionuclides	45
Others	50
Acrylonitrile	50
Chloropropanols	50
Dioxin	51
Vinylchloride monomer	51

Termo não recomendado →

CODEX STAN 193-1995 1

Arsênio

Reference to JECFA: 5 (1960), 10 (1967), 27 (1983), 33 (1988)
Toxicological guidance: PTWI 0.015 mg/kg bw (1988, For inorganic arsenic)
Residue definition: Arsenic: total (As-tot) when not otherwise mentioned, inorganic arsenic (As-in), or other specification
Synonym: As
Related Code of Practice: Code of Practice for Source Directed Measures to Reduce Contamination of Foods with Chemicals (CAC/RCP 49-2001)

Commodity/Product Code	Name	Level mg/kg
	Edible fats and oils	0.1
	Margarine	0.1
	Minarine	0.1
	Named animal fats	0.1
OR 0305	Olive oil, refined	0.1
OC 0305	Olive oil, virgin	0.1
OR 5330	Olive, residue oil	0.1
OC 0172	Vegetable oils, Crude	0.1

A seqüência analítica

- Definição do problema
- **Escolha do método**
- Amostragem
- Pré-tratamento da amostra
- Medida
- **Calibração**
- **Avaliação**
- **Ação**

Escolha do método

Visão holística



Nossa disciplina

Quais os elementos?

Concentração dos elementos?

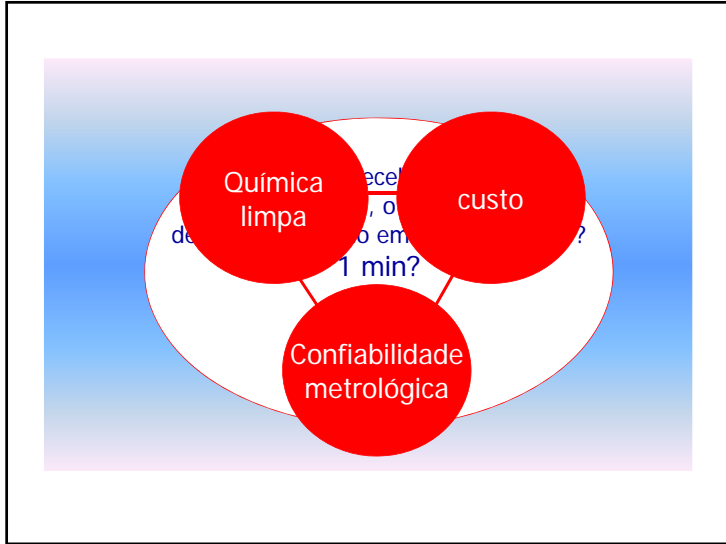
GFAAS FAAS

ICP OES ICP-MS

EDXRF MAS

Número de amostras?

Quantidade de amostra?



Análise de alimentos e espectrometria de absorção atômica (AAS)

H																			He
Li	Be											B	C	N	O	F		Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl		Ar	
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br		Kr	
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I		Xe	
Cs	Ba	⁶⁷ ₇₁	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At		Rn	
Fr	Ra	⁸⁹ ₁₀₃																	

FAAS GFAAS AAS
Análise direta Outras técnicas

Análise de alimentos: AAS e ICP OES

H																			He
Li	Be											B	C	N	O	F		Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl		Ar	
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br		Kr	
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I		Xe	
Cs	Ba	⁶⁷ ₇₁	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At		Rn	
Fr	Ra	⁸⁹ ₁₀₃																	

ICP OES GFAAS AAS
análise direta Outras técnicas

- ### A seqüência analítica
- Definição do problema
 - Escolha do método
 - Amostragem**
 - Pré-tratamento da amostra
 - Medida
 - Calibração
 - Avaliação
 - Ação

Horwitz, W., "Nomenclature for sampling in Analytical Chemistry", IUPAC, Pure Appl. Chem.,v.62, n.6, p.1193-1208, 1990.

- **Amostra:** porção que representa o todo (*sample*)
- **Sub-amostra:** amostra levada para o laboratório de análise (*subsample*)
- **Amostra laboratorial:** amostra preparada no laboratório para posterior análise (*test sample*)
- **Porção amostrada:** material pesado ou selecionado para a análise (*test portion*)

Horwitz, W., "Nomenclature for sampling in Analytical Chemistry", IUPAC, Pure Appl. Chem.,v.62, n.6, p.1193-1208, 1990.

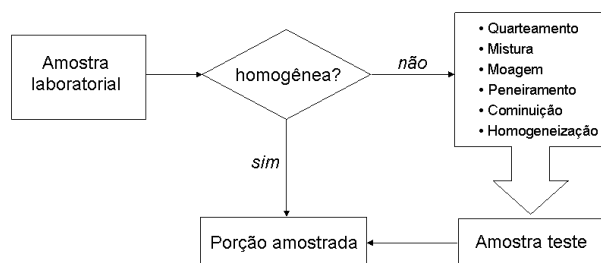


Moagem,
homogeneização

100 – 500 mg

Porção amostrada: massa da amostra, idealmente homogênea, que é pesada ou selecionada para a análise.

Porção amostrada



A seqüência analítica

- Definição do problema
- Escolha do método
- Amostragem
- **Pré-tratamento da amostra**
- Medida
- Calibração
- Avaliação
- Ação

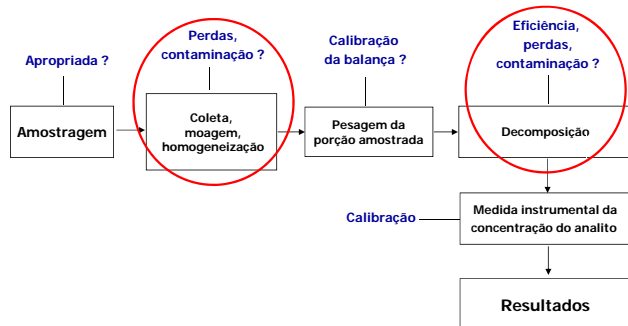


Pré-tratamento da amostra

É oportuno observar que, entre todas as operações analíticas, a etapa de pré-tratamento das amostras é a mais crítica. Em geral, é nesta etapa que se cometem mais erros e que se gasta mais tempo.

É também a etapa de maior custo.

Incertezas na seqüência analítica



Seqüência adaptada de Peter Bode

Validação de métodos

Validação de métodos

A validação de um método estabelece, a partir de estudos sistemáticos em laboratório (s), se um método possui características apropriadas para produzir resultados com confiabilidade metroológica para a solução do problema analítico.

Adaptado de CITAC / EURACHEM GUIDE, 1998

Validação de métodos

A validação é um processo que estabelece as características de desempenho e as limitações de um método analítico, permitindo identificar quais são os fatores que podem afetar as características de desempenho:

- O processo de validação estabelecerá quais são os analitos que poderão ser determinados, especificando-se a matriz ou as matrizes e os riscos de interferências.

- Nas condições estabelecidas, será possível prever quais serão os níveis de precisão e exatidão alcançados.

A validação deve fornecer subsídios ao usuário do método, para que se saiba, com antecedência, em que condições o método selecionado será apropriado para a obtenção de resultados que possibilitem a solução do problema.

Adaptado de CITAC / EURACHEM GUIDE, 1998

Validação de métodos

Características de desempenho mais comuns

- Precisão (repetibilidade e reprodutibilidade)
- Sensibilidade
- Limite de detecção
- Exatidão
- Calibração
- Robustez

Adaptado de CITAC / EURACHEM GUIDE, p.29, 2002

Precisão das medidas

A incerteza devida ao acaso no valor de uma medida x , ou a correspondente incerteza na estimativa de um resultado analítico, é representada pela precisão das medidas:

$$\bar{X} \pm S \quad \begin{array}{l} \bar{x} = \text{média de } n \text{ medidas} \\ s = \text{estimativa do desvio-padrão} \end{array}$$

$$S = \left[\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x})^2 \right]^{1/2}$$

Quando $n \gg 20 \Rightarrow S \rightarrow \sigma$

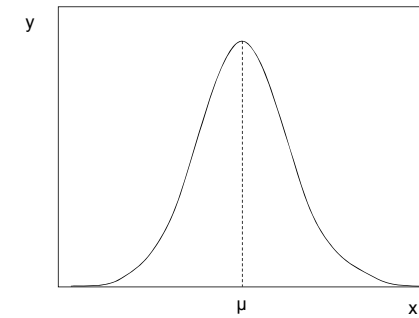
Desvio-padrão relativo (rsd do ingles "relative standard deviation")

$$\text{rsd} = \frac{s}{\bar{x}} \quad (\text{estimativa do rsd})$$

Coefficiente de variação (CV)

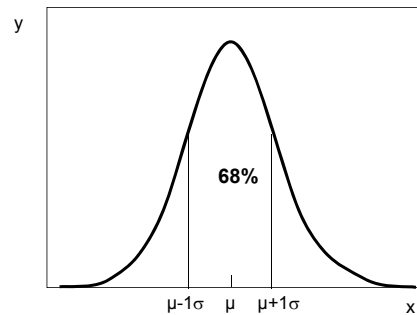
$$\text{CV} = \text{rsd} \times 100 = \% \text{ rsd}$$

Distribuição normal ou Gaussiana

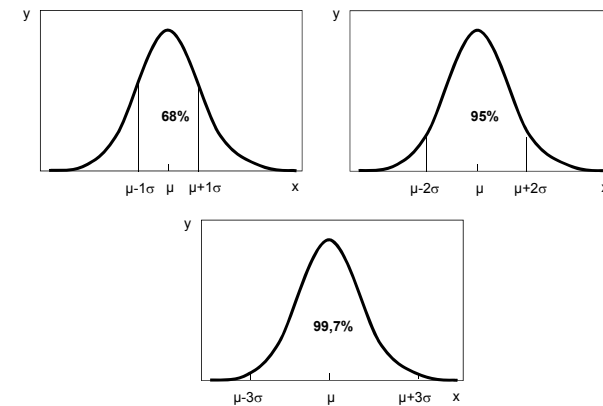


$$y = \exp[-(x - \mu)^2/2\sigma^2] \sigma(2\pi)^{1/2}$$

Distribuição normal ou Gaussiana



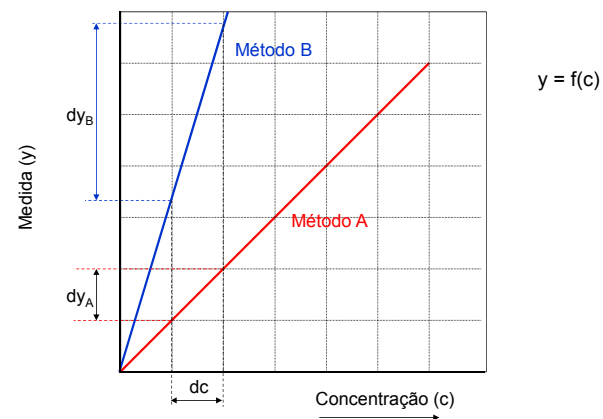
Propriedades da distribuição normal



Sensibilidade (IUPAC)

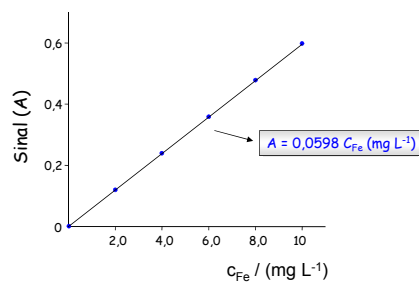
A derivada da função $y = g(c)$, dy/dc , é a sensibilidade do procedimento analítico. Se a curva analítica for não linear, a sensibilidade é uma função da concentração. Diz-se que um método tem boa sensibilidade, quando uma pequena variação na concentração c causa uma grande mudança na medida y , ou seja, quando a dy/dc for grande.

Sensibilidade (dy/dc)



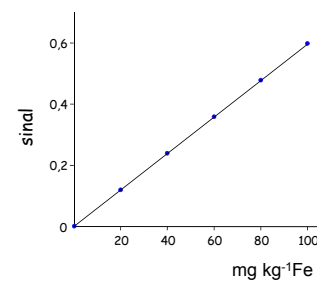
Curva analítica de calibração

$c_{Fe} / \text{mg L}^{-1}$	sinal
0,0	0,000
2,0	0,120
4,0	0,239
6,0	0,359
8,0	0,478
10,0	0,598



Curva analítica de calibração

$\text{mg kg}^{-1}\text{Fe}$	sinal
0	0,000
20	0,120
40	0,239
60	0,359
80	0,478
100	0,598



Limite de detecção



© JCGM 2008

VIM-3 Vocabulário Internacional de Metrologia (2008)

4.18 detection limit limit of detection

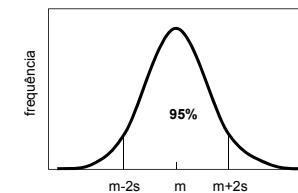
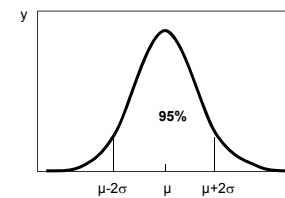
measured quantity value, obtained by a given measurement procedure, for which the probability of falsely claiming the absence of a component in a material is β , given a probability α of falsely claiming its presence.

NOTE 1 IUPAC recommends default values for α and β equal to 0.05.

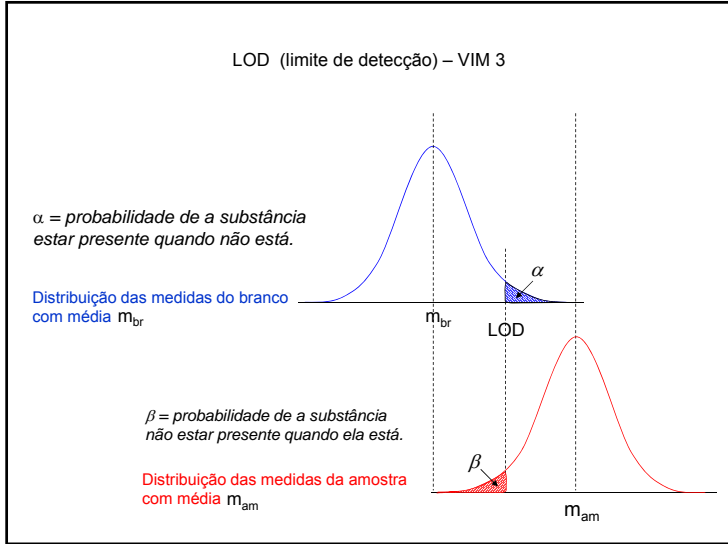
NOTE 2 The abbreviation LOD is sometimes used.

NOTE 3 The term "sensitivity" is discouraged for 'detection limit'.

Distribuição normal de medidas



m = média de n medidas
 s = estimativa do desvio-padrão da média



Solução do branco (IUPAC, 1978)

Uma **solução do branco** (NT ou simplesmente **branco**) é uma solução que intencionalmente não contém o analito, mas que possui, sempre que possível, a mesma composição da solução da amostra. Um branco do solvente é o próprio solvente.

Exatidão dos resultados

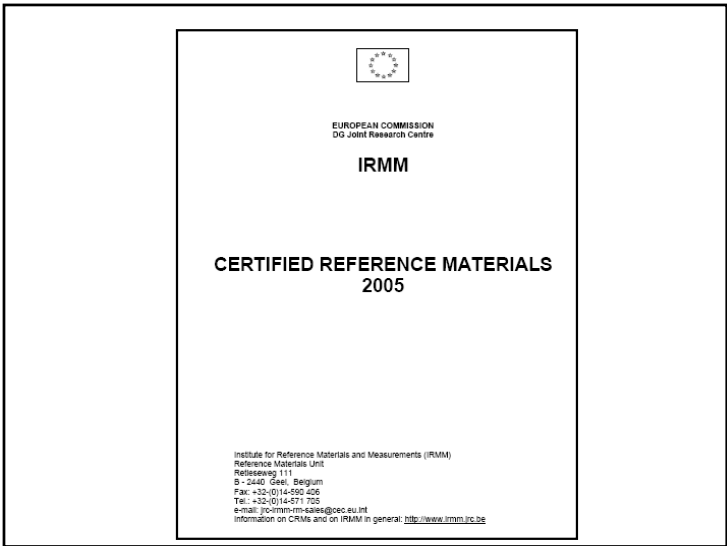
↓

Concordância entre a medida realizada e o valor verdadeiro

↓

Teste t de Student

fjkrug@cena.usp.br 63

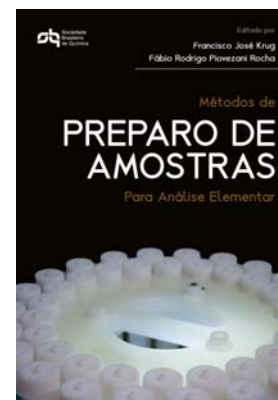


Guide to Quality in Analytical Chemistry

An Aid to Accreditation

Preparado por:

CITAC (The Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry) e
EURACHEM (A Focus for Analytical Chemistry in Europe)



Referência:

F. J. Krug, J.A. Nóbrega. A Sequência Analítica. In: F.J. Krug, F.R.P. Rocha (Eds.), Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elemental. São Paulo: EditSBQ, 2016, p. 55-102.

"Analitiques": Termos importantes da Química Analítica

"Analitiquês": Termos importantes da Química Analítica

Cassiana Seimi Nomura
csnomura@iq.usp.br

0:00 / 21:30

Aula 1 - Introdução e conceitos fundamentais.mp4

Tópicos em Química Analítica: Técnicas de Análise Direta de Amostras Sólidas por LA, LIBS e XRF

Métodos tradicionais de calibração

Prof. Dr. Alex Virgílio

alexvirgilio@yahoo.com.br

0:04 / 10:12