

APLICAÇÃO DE FERRAMENTAS ESTATÍSTICAS PARA VALIDAÇÃO DO MÉTODO DA QUANTIFICAÇÃO DO CLORETO DE SÓDIO: PROPOSTA DIDÁTICA PARA AULAS DE QUÍMICA ANALÍTICA

Maria do Socorro Ferreira de Oliveira¹; Francknardy Teotônio de Sousa¹ Francinalba da Silva do O Vieira¹, Albaneide Fernandes Wanderley¹

¹Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Formação de Professores
mariadosocorroalj@gmail.com

INTRODUÇÃO

O soro fisiológico é uma solução amplamente utilizada para diversos fins, principalmente terapêuticos, trata-se de uma solução aquosa de cloreto de sódio 0,9%. O cátion sódio e o ânion cloreto, principais íons do fluido extracelular, tem como função primária o controle do balanço eletrolítico, pressão osmótica e balanço ácido/base (Ansel, 2000). A existência de partículas eletricamente carregadas, podem conduzir uma corrente elétrica e determinar a condutividade da solução. Assim, a condutividade molar pode variar de acordo com a concentração do eletrólito. A produção do soro fisiológico requer atenção quanto a qualidade e a garantia da sua composição adequada e a análise quantitativa deve garantir a atribuição de certo nível de confiabilidade aos resultados obtidos em um procedimento analítico.

Tais procedimentos dependem de inúmeros fatores técnicos, Voguel (1992) defende que o analista deve ter o conhecimento das condições de confiabilidade de cada método e a consciência das interferências possíveis, também terá atenção as questões relativas à exatidão e precisão esperada, além disso, não deve desprezar fatores como tempo e custo.

A condutância de uma solução eletrolítica em qualquer temperatura depende somente dos íons presentes e das respectivas concentrações. Quando a solução de um eletrólito for diluída, a condutância diminuirá, pois, os íons presentes, por mililitro da solução, para conduzirem a corrente, estarão em menor número (VOGUEL, 1992). A análise por métodos elétricos inclui a condutimetria, uma relação linear entre a condutividade da solução e a concentração de espécies iônicas contidas na mesma solução. Segundo Otto (1978), a condutimetria é um método de análise que se fundamenta na medida da condutividade elétrica de uma solução eletrolítica. A condução da eletricidade através das soluções iônicas ocorre devido à migração de íons positivos e negativos durante a aplicação de um potencial de corrente alternada.

A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar especificidade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, limite de quantificação, exatidão, adequados à análise. (BRASIL, 2003).

Para Brito (2003), validação é o desenvolvimento de um método analítico, adaptação ou implementação de método conhecido, que envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório. Com o objetivo principal de assegurar que determinado procedimento analítico forneça resultados reprodutíveis e confiáveis, que sejam adequados aos fins para os quais tenha sido planejado (MATIOLE, 2004). A validação é um método que através de tratamento estatístico assegura que os resultados de determinado procedimento possam ser reprodutíveis e confiáveis, e ainda se estão adequados para a análise planejada.

Medidas experimentais estão associadas a erros e a análise destes erros através da estatística fornece ferramentas que possibilitam chegar a conclusões que possuam uma grande probabilidade de estarem corretas, assim como de rejeitar conclusões que sejam improváveis (HARRIS, 2013). Neste trabalho, soluções fisiológicas comerciais foram analisadas em relação a dosagem de cloreto de sódio, através da medida da condutividade. A construção da aula prática e a execução das análises foram realizadas por integrantes do curso de Licenciatura em Química, modalidade PARFOR (Plano Nacional de Formação de Professores da Educação Básica), curso presencial, a fim de relacionar teoria - prática, envolvendo ferramentas estatísticas. Aos resultados, foram aplicados o método de mínimos quadrados para construção da curva padrão, teste de hipótese, teste t-Student e cálculo de desvio padrão.

METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Química da Universidade Federal de Campina Grande, a atividade foi proposta a partir da necessidade de se realizar uma aula prática de química analítica associada a estudo estatístico dos resultados. O material de estudo foram soluções fisiológicas 0,9% comercializados em farmácias. Buscou-se determinar a concentração de cloreto de sódio nas amostras através da condutividade, para validar o método, ferramentas estatísticas foram aplicadas. Para construção da curva padrão, foram preparadas cinco concentrações de soluções de cloreto de sódio e medida suas condutividades em um condutímetro schott modelo CG/853, em seguida, foram analisadas três marcas de solução fisiológica, denominadas de A, B e C. De cada fabricante, foram separadas uma amostra de 50 mL sendo estas submetidas a análise

condutivimétrica, por nove vezes, a 298 K, para a determinação da concentração a partir da condutância. Os resultados da análise foram tratados estatisticamente, baseado na Resolução 899, de 29 de maio de 2003, que dispõe sobre um guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.

A proposta não envolve um roteiro, assim, o discente é capaz de construir através de questionamentos as suas ações subsequentes, na perspectiva construtivista. Após a realização da aula experimental, os dados foram tratados e uma discussão foi realizada a fim de avaliar o avanço no processo ensino aprendizagem.

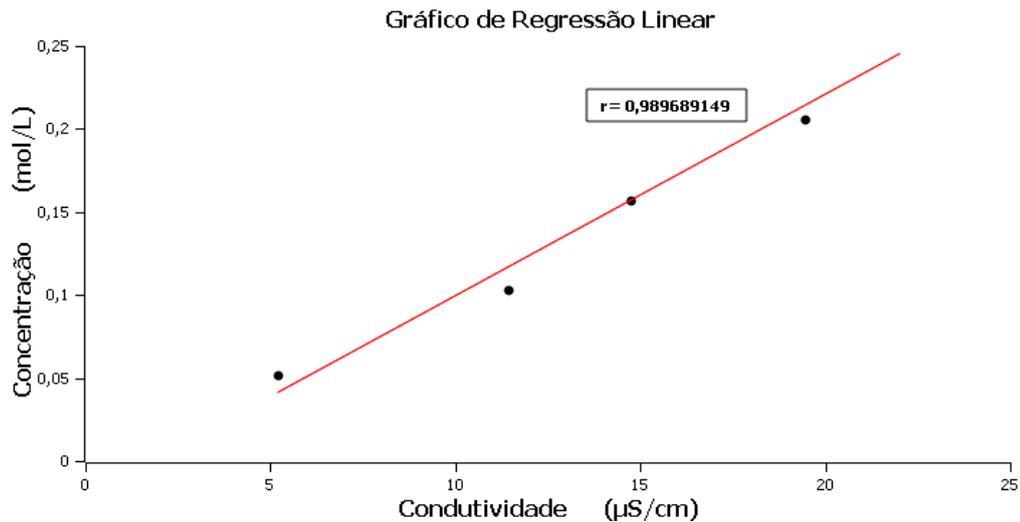
RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva padrão construída pelo método de Ajuste dos Mínimos Quadrados, a partir das soluções de NaCl $0,3 \text{ mol dm}^{-3}$; $0,6 \text{ mol dm}^{-3}$; $0,9 \text{ mol dm}^{-3}$, $1,2 \text{ mol dm}^{-3}$ e $1,5 \text{ mol dm}^{-3}$ e suas condutividades. O gráfico de dispersão (Gráfico 1) mostrou-se linear com coeficiente de correlação de Pearson, r , determinado através da **Equação 1**:

$$r = S_{xy} / S_x \cdot S_y \quad \text{Eq.1}$$

Onde, S_{xy} representa o desvio padrão associado; S_x e S_y , o desvio padrão em relação a x e a y, respectivamente. O valor de r mostrou uma boa associação linear entre as variáveis condutibilidade e concentração, com qualidade do ajuste de aproximadamente 99% ($r \times 100$).

Gráfico1- Gráfico de dispersão das variáveis condutividade e concentração.



Em estatística, aborda-se a questão da significância de um resultado usando-se o conceito de hipótese nula. A hipótese nula (H_0) assume que um dado resultado estatístico foi obtido apenas por acaso, e não devido a um efeito real que cause o resultado. Sempre que se trabalha com uma hipótese para explicar um dado fenômeno, temos que considerar a possibilidade de pelo menos uma hipótese concorrente a ela, a hipótese alternativa (H_A). Para confirmar a associação entre as variáveis foi aplicado um teste de hipótese nula (H_0) o qual avaliou a correlação entre os eixos x e y , concentração e condutividade, de acordo com a **Equação 2**. O t calculado foi 11,9679, comparando-o com o t tabelado para quatro graus de liberdade com 99,9% de confiança o r nulo ($r = 0$) deve ser rejeitado, descartando a possibilidade da não associação entre as variáveis, sendo a hipótese alternativa, H_A , que estabelece $r = 1$, a aceitável.

$$t = \frac{\sqrt{N-2}}{1-r^2} \quad \text{Eq.2}$$

Sendo, N o tamanho da amostra e r o coeficiente de correlação linear de Pearson.

A curva de calibração ajustada pelo método dos mínimos quadrados resultou nos valores de $A = 0,012117988$ e $B = -0,021984499$, dada a equação: $y = A x + B$, onde y é a concentração de cloreto de sódio e x a condutividade da solução, substituindo as constantes A e B e a condutividade medida, obteve-se os valores das concentrações de NaCl das soluções A, B e C, com suas médias demonstradas e desvio padrão amostral, descritos na **Tabela 1**.

Tabela 1- Médias da concentração, condutividade e desvio padrão das amostras A, B e C

	Concentração (mol dm ⁻³)	Condutividade (µS/cm)	Desvio Padrão Amostral (S _y)
A	0,1530	14,36	± 0,20
B	0,1535	14,41	± 0,49
C	0,1540	14,45	± 0,18

O teste *t*-Student foi aplicado para avaliar a representatividade da média amostral quando comparada com o valor de referência teórico proposto pelo fabricante. Foi realizada associação entre a média das amostras A , B e C e o valor da concentração de cloreto de sódio que, de acordo com o rótulo do produto, deveria conter 0,1539 mol dm⁻³ de NaCl, o correspondente a 0,9%, de acordo com a **Equação 3**.

$$t = (X_1 - X_2) \sqrt{N} / s \quad \text{Eq. 3}$$

Onde, X₁ representa o valor da média da condutividade obtida, e X₂ o valor esperado, N o tamanho da amostra e S o desvio padrão. De acordo com o tratamento estatístico realizado pelo método *t*-Student, conforme observado na **Tabela 2**, as concentrações obtidas a partir da condutividade da solução apresentaram resultado satisfatório nas três amostras.

Aplicando mais uma vez o teste de hipótese nula, H₀, o valor de *t* calculado é menor que o *t* tabelado para oito graus de liberdade, com 95% de confiança (α = 0,025), indicando que o resultado é aceitável em um limite de confiança de 95%, estando as concentrações amostrais dentro do esperado para a média populacional.

Tabela 2- Resultado analítico e tratamento estatístico da exatidão

Amostra	Média concentração		S _y (+/-)	t (0.95) (tabelado)	t (calculado)
	(mol dm ⁻³)	(%)			
A	0,1530	0,89	0,0025		1,08
B	0,1535	0,89	0,0060	2,3	0,20
C	0,1540	0,9	0,0022		0,14

As três amostras analisadas mostraram resultados satisfatórios e dentro do esperado no entanto, as indústrias não fornecem dados suficientes e consistentes para afirmar tais

valores pois não relatam, em seus rótulos, nenhum dado estatístico para validação do método.

Após análise dos resultados os alunos da disciplina Química Analítica Quantitativa demonstraram que a atividade prática foi de suma importância para consolidar o conhecimento adquirido teoricamente, em sala de aula. A falta de informações nos rótulos das amostras A, B e C de soro fisiológico levaram os alunos ao questionamento de que as medidas experimentais não podem ser descritas sem associação aos erros sistemáticos, estas medidas quantitativas não devem ser tratados como verdade absoluta se fazendo necessário uma análise estatísticas destes erros, para então aceitá-los ou rejeitá-los.

CONCLUSÕES

As soluções de soro fisiológico são amplamente utilizadas para fins terapêuticos ou outras funções que permitem contato com sistemas biológicos, não podendo estar inerente a fiscalização e controle de qualidade analítico. Sua composição composta por íons de sódio e cloreto podem conduzir corrente elétrica. Um método analítico prático, sensível e de baixo custo é o método eletro analítico pela condutância, que relaciona as concentrações com a capacidade conduzir corrente elétrica, visto que o aumento da concentração aumenta essa capacidade condutora. Observa-se que o acréscimo da concentração molar ocasionou aumento na condutividade elétrica da solução uma relação de linearidade que pode ser confirmada ao rejeitar a hipótese nula aplicada.

O tratamento estatístico mostrou que as médias de temperatura, condutividade e concentração obtidas pelo método encontravam-se dentro do intervalo de confiança e o teste *t student* comparado ao valor teórico evidenciando um resultado aceitável.

As amostras das marcas A, B e C apresentaram resultados satisfatórios muito próximos do identificado no rótulo, porém seus fabricantes não revelam dados com parâmetros estatísticos que permitem a aceitação das medidas descritas que possam garantir a qualidade e exatidão da concentração estabelecida. Sendo assim, os dados e medidas obtidos em uma análise não devem ser consideradas como verdade absoluta, um tratamento estatístico deve ser utilizado com o objetivo de aceitar ou rejeitar o resultado e concluir se os dados obtidos são satisfatórios ou não.

A aula experimental realizada na turma PARFOR presencial, utilizando o roteiro proposto, atingiu os objetivos realizar análises quantitativas e aplicar ferramentas estatísticas aos resultados, validando o método de análise e facilitando o processo de ensino aprendizagem. O tempo necessário execução da aula foi de 4h.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; JR. ALLEN, L. V. Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos. Cap. 11: Preparação de Uso Tópico, p. 439-469, ed. Premier, 2000. São Paulo.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 210, de 04 de Agosto de 2003. *Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 de agosto de 2003b.

BRITO, N. M., AMARANTE JÚNIOR, O. P., POLESE L, RIBEIRO, M. L.; Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. *Pesticidas* 2003; 13:129-46.

HARRIS, Daniel C. Análise química quantitativa. 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2012. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - INMETRO. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQCGCRE-008.2003.

MATIOLI, G; VALENTINI, S. R.; SOMMER, W. A.; Validação de métodos analíticos na quantificação de comprimidos de captopril - comparação de metodologias para um programa de garantia da qualidade. *Acta Scientiarum Health Sci* 2004; 16(2):357-64.

OHLWEILER, Otto Alcides. Química analítica quantitativa (v.1). 2. ed. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos, 1978.

VOGEL, Arthur Israel. Análise química quantitativa. 5. ed. Rio de Janeiro, RJ: Livros Técnicos Científicos, 1992.