

# ESTIMATIVA DA INCERTEZA ASSOCIADA À DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE Cu, Zn, Mg, Cr, Mn, Se e V EM SORO DE PACIENTES PORTADORES DO DIABETES MELLITUS TIPO II USANDO HRICP-MS

Renata Medeiros Lobo do Nascimento, Jorge Eduardo de Souza Sarkis, Maurício Hiromitu Kakazu, João Cristiano Ulrich e Nádia Rezende Barbosa

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN  
Centro de Química e Meio Ambiente - CQMA  
Laboratório de Caracterização Química – LCQ  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária – São Paulo, Brasil  
[rmnascim@ipen.br](mailto:rmnascim@ipen.br); [jesarkis@ipen.br](mailto:jesarkis@ipen.br)

## INTRODUÇÃO

Os metais são elementos importantes na manutenção da vida, participam de processos fisiológicos essenciais para o metabolismo protéico e lipídico, reações enzimáticas e são componentes essenciais de muitas enzimas<sup>1</sup>, as chamadas metalo-enzimas, que estão envolvidas na síntese, na regeneração e na degradação de moléculas biológicas, assim como na liberação e no reconhecimento de certas moléculas sinalizadoras biológicas e, por fim, na transferência de pequenas moléculas e elétrons e processos cruciais como a respiração.

Assim sendo o preciso conhecimento dos níveis de alguns metais, tais como: cobre (Cu), zinco (Zn), magnésio (Mg), cromo (Cr), manganês (Mn), selênio (Se) e vanádio (V) em amostras de soro de pacientes portadores do Diabetes Mellitus Tipo II<sup>1</sup> constitui-se num importante dado para o diagnóstico, prognóstico e acompanhamento da doença. Dessa forma, torna-se fundamental a obtenção de dados confiáveis obtidos por meio de procedimentos claramente definidos e rastreáveis de acordo com os critérios estabelecidos pela ISO<sup>2</sup>.

Dentre os pontos de validação, tem-se a o estudo da incerteza, realizada conforme os critérios estabelecidos pela ISO, que está baseada na identificação e quantificação dos efeitos dos parâmetros de influência sobre a incerteza global, e requer a compreensão do procedimento de medição e das incertezas associadas a cada um dos fatores que influenciam o resultado.

O termo “incerteza” está relacionado a “dúvida” e a “incerteza de medição” é uma dúvida com relação ao valor obtido durante o procedimento de medição. A definição formal do termo incerteza de medição segundo o “Guia para a expressão da incerteza de medição” é “parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem se razoavelmente atribuídos ao mesurando”. As definições de vários termos metrológicos gerais e relevantes podem ser encontrados no mesmo guia, descrito acima, ou também no “Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia-VIM”.

O resultado de uma medição ou do cálculo de uma grandeza representa somente uma aproximação, ou uma estimativa do valor do mensurando e, portanto, somente é completo quando acompanhado de uma declaração da incerteza associada.

A medição de uma grandeza é sempre iniciada através da identificação do mensurando, associado aos respectivos métodos de medição e procedimento de medição<sup>3</sup>.

Antes de combinar todas as contribuições de incerteza para obtenção da incerteza global do mensurando, essas devem ser agrupadas em duas categorias baseadas no método de avaliação: tipo A, incerteza padrão proveniente de *efeitos aleatórios*, estimada a partir de uma série de experimentos em replicata, sendo sua estimativa quantificada em termos de desvio padrão dos valores medidos e Tipo B, quando a avaliação é realizada através de um julgamento científico, baseado em todas as informações possíveis sobre a variabilidade da grandeza

medida. Torna-se, portanto, necessário quantificar cada fonte potencial de incerteza através de sua medição direta, de sua avaliação a partir de dados experimentais obtidos previamente, ou então, através de sua dedução a partir de análises teóricas<sup>4,5</sup>.

Com o objetivo de identificar e analisar as possíveis fontes de incerteza na medição das grandezas avaliadas, os procedimentos adotados em cada etapa devem ser detalhados e estruturados de forma a garantir a máxima abrangência, evitando a duplicidade de fontes de incerteza. Normalmente, este objetivo pode ser alcançado e melhor visualizado através da utilização de *diagramas de causa e efeito*, também conhecidos como diagramas de Ishikawa ou de espinha de peixe. O uso desse diagrama é extensamente descrito no guia Eurachem<sup>5</sup>.

A determinação simultânea de elementos essenciais em amostras biológicas usando uma única metodologia é uma rotina na maioria dos laboratórios analíticos. A técnica de espectrometria de massas de alta resolução com fonte de plasma indutivo (HRICP-MS) é rápida, precisa e amplamente utilizada para análises rotineiras que necessitam de uma produtividade grande e capacidade multielementar<sup>6</sup>. A análise de soro por HRICP-MS tem sido reportada por vários autores<sup>7,8,9</sup>.

Neste trabalho é apresentado uma metodologia para a estimativa de incerteza de medição na determinação de Cu, Zn, Mg, Cr, Mn, Se e V em amostras de soro de portadores do Diabetes Mellitus tipo II por meio da técnica de espectrometria de massas de alta resolução com fonte de plasma indutivo (HRICP-MS).

## **MÉTODOS**

### Instrumentação

As análises foram realizadas no espectrômetro de massas de alta resolução com fonte de plasma indutivo modelo Element 1, fabricado pela Finnigan MAT, Bremen, Alemanha.

### Reagentes e soluções padrão

O ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) grau analítico (Merck, Darmstadt, Germany) foi utilizado após purificação adicional por destilação sub-boiling em destilador de quartzo, para a diluição das amostras, preparação das soluções branco e da curva analítica, e água milli-Q (Millipore Milli-Q, Bedford, USA) com resistividade 18,2MΩ para a preparação da solução de ácido nítrico.

Soluções padrão Spex® dos elementos estudados, foram utilizados na preparação das soluções da curva analítica.

### Preparação da amostra

As amostras procedentes de pacientes acompanhados pelos Serviços de Endocrinologia e de Nefrologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora foram armazenadas em criotubo à temperatura de - 80°C, garantindo a integridade e identidade das espécies até o momento da análise. Uma alíquota de 0,5g de cada amostra foi transferida para tubos de poliestireno graduados e o volume final de 10g foi obtido adicionando-se solução de com HNO<sub>3</sub> 0,14M, obtendo uma proporção final de 1:20. Solução do elemento Índio (In) foi utilizada como traçador nas determinações.

### Taxa de Recuperação

Cinco experimentos realizado através da adição de padrão (Cu, Zn, Mg, Cr, Mn, Se e V) 25; 50; 100; 150 e 200 µg kg<sup>-1</sup>.

## ANÁLISE E QUANTIFICAÇÃO DAS FONTES DE INCERTEZA

A partir de estudos detalhados dos procedimentos realizados, as fontes de incerteza que contribuem na metodologia são: a concentração da solução diluída do padrão estoque,  $C_{dil}$ , que por sua vez produziu as soluções de calibração, a concentração do elemento na alíquota analisada,  $c_o$ , a precisão do método que foi obtida por comparação dos desvios padrão relativos em solução padrão analisada, o fator de diluição na amostra, a massa da amostra obtida por pesagem e a recuperação do método.

Uma solução estoque de  $1000\mu\text{g g}^{-1}$  foi diluída na base massa-massa. A incerteza da solução diluída é calculada por<sup>10</sup>:

$$u(C_{dil}) = \sqrt{\left(\frac{u(C_{estoque})}{C_{estoque}}\right)^2 + \left(\frac{s_1}{1}\right)^2 + \left(\frac{s_2}{2}\right)^2} \quad (1)$$

Onde:  $u(C_{diluída})$  = incerteza da solução diluída;  $C_{diluída}$  = concentração nominal da solução diluída;  $u(C_{estoque})$  = incerteza da solução padrão estoque. Esta é dividida por  $\sqrt{3}$  pois a única informação é que tem 95% de confiança;  $C_{estoque}$  = concentração real da solução estoque;  $s_1$  = desvio padrão obtido de pesagens sucessivas de uma massa ( $m_1$ ). Esta massa pode ser a massa mínima usada no processo e  $s_2$  = desvio padrão obtido de pesagens sucessivas de uma massa ( $m_2$ ). Esta massa pode ser a massa máxima usada no processo.

A concentração do elemento na alíquota analisada é obtida utilizando-se a equação dada no guia Eurachem<sup>5</sup>:

$$u(c_o) = \frac{S}{A_1} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(c_o - \bar{c})^2}{(A_1)^2 Q_{xx}}} \quad (2)$$

Onde:

S = desvio padrão residual dado por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [Y_j - (L + A_1 \cdot c_j)]^2}{m - 2}} \quad (3)$$

$Y_j$  = sinal de resposta do equipamento; L = coeficiente linear da função calibração; A = coeficiente angular da função calibração;  $c_j$  = concentração real de cada solução utilizada na curva analítica; m = número total de medidas para a calibração; todos os dados de  $Y_j$ , L, A,  $c_j$ , m são para cada analito analisado; n = número de medições realizadas para determinar  $c_o$ ;  $c_o$  = concentração do analito determinada na solução de análise;  $Q_{xx}$  = somatório das concentrações dado por:

$$Q_{xx} = \sum_{i=1}^m (c_i - \bar{c})^2 \quad (4)$$

Onde:

$c_i$  = concentração calculada a partir da equação da curva;  $\bar{c}$  = concentração média das soluções da curva.

A precisão do método, como dito anteriormente, foi obtida por comparação dos desvios padrões relativos (desvio padrão obtido é dividido pelo valor médio da concentração obtida na análise da solução padrão).

O fator de diluição é dado por:

$$\frac{M_f}{M_i} \quad (5)$$

Onde:

$M_f$  = massa final

$M_i$  = massa inicial, ou seja, massa de solução de amostra a diluir.

A diluição foi feita em base massa, então deve se considerar a balança. As massas de  $m_1$  e  $m_2$  foram checadas na balança dando desvio padrão  $s_1$  e  $s_2$ . Estes valores são usados para estimar a incerteza da precisão da balança. A incerteza associada com o fator de diluição é dada por<sup>11</sup>:

$$(D) \quad \sqrt{\left(\frac{s_1}{1}\right)^2 + \left(\frac{s_2}{2}\right)^2} \quad (6)$$

A massa da amostra foi obtida por base peso, sendo assim, as fontes de incerteza a serem consideradas são aquelas aplicadas ao processo de pesagem, ou seja, a contribuição da incerteza informada no certificado de calibração da balança utilizada, os dados obtidos a partir de gráficos de controle do laboratório e a repetitividade da balança.

A incerteza total da massa final é calculada por:

$$u(m_a) = \sqrt{(u_1)^2 + (u_2)^2 + (u_3)^2} \quad (7)$$

A taxa de recuperação é calculada por:

$$\frac{C_{obs}}{C_{adicionado}} \quad (8)$$

E a incerteza da recuperação é dada por<sup>10</sup>:

$$u(R) = R \times \sqrt{\left(\frac{u(C_{dil})}{C_{dil}}\right)^2 + \frac{s_{obs}^2}{n + C_{obs}^2}}$$

Onde:

$C_{obs}$  = concentração obtida na análise;  $C_{ad.}$  = concentração do adicionado padrão;  $R$  = taxa de recuperação;  $u(C_{dil})$  = incerteza da solução diluída,  $C_{dil}$  = concentração nominal da solução diluída;  $s_{obs}^2$  = variância, ou seja, desvio ao quadrado, das medições da solução diluída;

$n$  = número de replicatas (medições) da solução diluída;  $C_{obs}^2$  = concentração média obtida das medições da solução diluída, ao quadrado.

A partir das equações acima, a quantificação de cada fonte de incerteza foi efetuada e assim a incerteza padrão combinada para os elementos foi calculada, em duas amostras de voluntários, a partir da equação:

$$(Conc_{Metad}) = C_{MetalAm} \times \sqrt{\frac{u(C_{dil})^2}{dil} + \frac{u(C_{aliquota})^2}{aliquota} + \frac{u(precisão)^2}{n} + (\mu(R))^2 + (\mu(D))^2 + \left(\frac{u(M_{amostra})}{amostra}\right)^2} \quad (9)$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

São apresentados na tabela 1 os resultados do estudo de recuperação através da adição de padrão, e na tabela 2, os valores de concentração de duas amostras de voluntários, com seus respectivos desvios padrão e limite de determinação.

Adicionado $\mu\text{g kg}^{-1}$	Recuperados (%) $\pm$ DP ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )						
	Cu $\pm$ DP	Zn $\pm$ DP	Mg $\pm$ DP	Cr $\pm$ DP	Mn $\pm$ DP	Se $\pm$ DP	V $\pm$ DP
25	120 $\pm$ 1.5	120 $\pm$ 3.91	98 $\pm$ 1.5	97 $\pm$ 1.61	95 $\pm$ 1.0	114 $\pm$ 1.6	100 $\pm$ 1.2
50	117 $\pm$ 2.0	123 $\pm$ 5.5	102 $\pm$ 2.0	103 $\pm$ 2.1	104 $\pm$ 1.9	122 $\pm$ 2.0	105 $\pm$ 1.7
100	115 $\pm$ 3.0	118 $\pm$ 5.2	97 $\pm$ 1.2	108 $\pm$ 3.5	107 $\pm$ 3.0	125 $\pm$ 3.2	109 $\pm$ 3.6
150	102 $\pm$ 7.6	101 $\pm$ 8.2	101 $\pm$ 3.1	98 $\pm$ 6.4	96 $\pm$ 8.5	124 $\pm$ 4.3	99 $\pm$ 7.1
200	114 $\pm$ 8.7	117 $\pm$ 8.9	98 $\pm$ 5.5	113 $\pm$ 7.2	112 $\pm$ 5.5	131 $\pm$ 6.0	113 $\pm$ 8.0
$\bar{R} \pm \bar{DP}$	113.6 $\pm$ 4.5	115.8 $\pm$ 6.3	99.2 $\pm$ 2.6	103.8 $\pm$ 4.1	102.8 $\pm$ 19.9	123.2 $\pm$ 3.4	105.2 $\pm$ 4.3

Elementos	Voluntário (1)	Voluntário (2)	Limite de Determinação (L.Q.) $\mu\text{g kg}^{-1}$
	Concentração ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) $\pm$ DP	Concentração ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) $\pm$ DP	
Cu	1112.64 $\pm$ 39.5	1870.16 $\pm$ 81	1.32
Zn	1013.93 $\pm$ 28.61	1109.41 $\pm$ 45.28	20.45
Mg	14271.35 $\pm$ 469.78	21318.91 $\pm$ 771	10.3
Cr	0.44 $\pm$ 0.60	0.64 $\pm$ 0.23	0.93
Mn	0.76 $\pm$ 0.42	0.87 $\pm$ 0.62	0.3
Se	88.99 $\pm$ 12.82	48.14 $\pm$ 7.03	4.0
V	0.12 $\pm$ 0.23	0.18 $\pm$ 0.17	0.084

Nas tabelas abaixo, são apresentados os valores das fontes de incerteza em cada etapa do procedimento analítico.

Tabela 3: Fontes de Incerteza com suas respectivas incertezas padrão para o cobre

Fontes de Incerteza <b>Cu</b>	Valor Fontes de Incerteza $X_i$	Incerteza Padrão $u(X_i)$	Incerteza Relativa $u(X_i)/X_i$
Concentração diluída	1.592 $\mu\text{g g}^{-1}$	0.004992	0.003135716
Concentração na alíquota	1) 55.632 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 2) 93.043 $\mu\text{g kg}^{-1}$	1) 1.661206 2) 1.128708	1) 0.029860627 2) 0.012131031
Precisão	65	0.057	0.000876923
Massa de amostra	1) 0,5 g 2) 0,5 g	1) 0.00076829 2) 0.00076829	1) 0.001536576 2) 0.001536576
Fator diluição	20 g	0.007256	0.000363
Recuperado	1.136	0.0158	0.013908
A Incerteza combinada para a concentração de Cobre é: $C_{Cu} = 1112.64 \pm 6.6 \mu\text{g kg}^{-1}$ (1) $C_{Cu} = 1870.16 \pm 3.8 \mu\text{g kg}^{-1}$ (2)			

Tabela 4: Fontes de Incerteza com suas respectivas incertezas padrão para o zinco

Fontes de Incerteza <b>Zn</b>	Valor Fontes de Incerteza $X_i$	Incerteza Padrão $u(X_i)$	Incerteza Relativa $u(X_i)/X_i$
Concentração diluída	0.99987 $\mu\text{g g}^{-1}$	0.00314	0.003140372
Concentração na alíquota	1) 50.6966 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 2) 55.4707 $\mu\text{g kg}^{-1}$	1) 1.403632 2) 2.817014	1) 0.055560641 2) 0.050783825
Precisão	40	0.06145	0.00153625
Massa de amostra	1) 0,5 g 2) 0,5 g	1) 0.00076829 2) 0.00076829	1) 0.001536576 2) 0.001536576
Fator diluição	20 g	0.007256	0.000363
Recuperado	1.158	0.0223	0.019237
A Incerteza combinada para a concentração de Zinco é: $C_{Zn} = 1013.93 \pm 11.8 \mu\text{g kg}^{-1}$ (1) $C_{Zn} = 1109.41 \pm 10.9 \mu\text{g kg}^{-1}$ (2)			

Tabela 5: Fontes de Incerteza com suas respectivas incertezas padrão para o magnésio

Fontes de Incerteza <b>Mg</b>	Valor Fontes de Incerteza $X_i$	Incerteza Padrão $u(X_i)$	Incerteza Relativa $u(X_i)/X_i$
Concentração diluída	10.028686 $\mu\text{g g}^{-1}$	0.031436	0.00313462
Concentração na alíquota	1) 713.5674 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 2) 1065.946 $\mu\text{g kg}^{-1}$	1) 19.9077201 2) 77.194835	1) 0.02789886 2) 0.07241912
Precisão	800	0.054	0.0000675
Massa de amostra	1) 0,5 g 2) 0,5 g	1) 0.00076829 2) 0.00076829	1) 0.001536576 2) 0.001536576
Fator diluição	20 g	0.007256	0.000363
Recuperado	0.992	0.0084	0.008468

A Incerteza combinada para a concentração de Magnésio é:  
 $C_{\text{Mg}} = 14271.35 \pm 5.9 \mu\text{g kg}^{-1}$  (1)  
 $C_{\text{Mg}} = 21318.91 \pm 14.6 \mu\text{g kg}^{-1}$  (2)

Tabela 6: Fontes de Incerteza com suas respectivas incertezas padrão para o manganês

Fontes de Incerteza <b>Mn</b>	Valor Fontes de Incerteza $X_i$	Incerteza Padrão $u(X_i)$	Incerteza Relativa $u(X_i)/X_i$
Concentração diluída	0.20095 $\mu\text{g g}^{-1}$	0.00063	0.0313282
Concentração na alíquota	1) 0.0381 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 2) 0.0438 $\mu\text{g kg}^{-1}$	1) 0.0015884 2) 0.0016371	1) 0.041638 2) 0.037335
Precisão	0.7	0.0977	0.139571
Massa de amostra	1) 0,5 g 2) 0,5 g	1) 0.00076829 2) 0.00076829	1) 0.001536576 2) 0.001536576
Fator diluição	20 g	0.007256	0.000363
Recuperado	1.028	0.0617	0.060019

A Incerteza combinada para a concentração de Manganês é:  
 $C_{\text{Mn}} = 0.76 \pm 32.1 \mu\text{g kg}^{-1}$  (1)  
 $C_{\text{Mn}} = 0.87 \pm 31.9 \mu\text{g kg}^{-1}$  (2)

Tabela 7: Fontes de Incerteza com suas respectivas incertezas padrão para o selênio			
Fontes de Incerteza Se	Valor Fontes de Incerteza $X_i$	Incerteza Padrão $u(X_i)$	Incerteza Relativa $u(X_i)/X_i$
Concentração diluída	0.1944501 $\mu\text{g g}^{-1}$	0.000611	0.00314037
Concentração na alíquota	1) 4.4498 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 2) 2.407 $\mu\text{g kg}^{-1}$	1) 0.06680871 2) 0.08488404	1) 0.0150138 2) 0.0352654
Precisão	8.0	0.07845	0.0098062
Massa de amostra	1) 0,5 g 2) 0,5 g	1) 0.00076829 2) 0.00076829	1) 0.001536576 2) 0.001536576
Fator diluição	20 g	0.007256	0.000363
Recuperado	1.232	0.0132	0.010714
A Incerteza combinada para a concentração de Selênio é: $C_{Se} = 88.99 \pm 4.2 \mu\text{g kg}^{-1}$ (1) $C_{Se} = 48.14 \pm 7.7 \mu\text{g kg}^{-1}$ (2)			

A maior contribuição na incerteza das alíquotas analisadas para o Se pode ser explicada pelo fato de que nas alíquotas analisadas as concentrações obtidas foram muito menor (2.4 e 4.4  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) do que as obtidas para os outros elementos (Cu, Zn e Mg), e também pelo fato destas concentrações estarem abaixo e muito próximas do limite de determinação (4.0  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), respectivamente. Comparando-se os resultados para Cu e Zn, verifica-se que estes elementos apresentam concentrações aproximadas presentes na alíquota, e suas contribuições de incerteza em valores numéricos, são similares, isto significa que, segundo o método empregado, apresentaram características analíticas idênticas. Ou seja, nível de concentração compatível com a técnica e condições experimentais, como branco e curva.

Para o Mg, a maior contribuição na incerteza total foi a incerteza na concentração da alíquota, no entanto era de esperar, em virtude do magnésio apresentar-se em altas concentrações na matriz estudada, e ao se verificar o limite de determinação do método (10.3  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ).

Os resultados obtidos para o Mn permitem a análise de dois fatores fundamentais relacionados à qualidade de um resultado analítico. A primeira diz respeito à precisão da medida. Este elemento está presente em baixos níveis nas amostras analisadas (0.038-0.043  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), níveis estes inferiores ao limite de determinação estabelecido pelo método (0.3  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). Como consequência, os níveis de precisão do sinal analítico foram de cerca de 20%, aumentando, com isso, a contribuição da incerteza neste perímetro. A segunda refere-se à curva analítica. Observa-se aqui uma característica importante e muito comum em trabalhos analíticos de rotina. A curva analítica (0.02 - 2.0  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) utilizada apresentou-se linear na faixa analítica de cobertura do elemento de interesse, mas também abaixo do limite de determinação estabelecido pelo método. Isto significa que os pontos inferiores da curva, região de maior influência para o analito de interesse, apresentaram também uma precisão inferior aumentando o valor da incerteza na medição. O mesmo aconteceu para o Cr e V, que nas amostras estão em baixos níveis (0.0222-0.0322 e 0.0061-0.0092  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , respectivamente), níveis estes inferiores ao limite de determinação do método (0.93 e 0.084  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), e a curva analítica (0.003-1.0  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) linear na faixa analítica de cobertura do analito de interesse, apresentou-se também abaixo do limite de determinação.

Neste caso, a ação do analista seria verificar a possibilidade de melhorar o branco do procedimento analítico, visando uma melhora no limite de determinação, trabalhar em níveis altos, diminuindo o fator de diluição, aumentar os pontos da curva em torno do elemento de interesse, eliminando pontos da curva muito fora da faixa, fazer uma pré-concentração da amostra, ou até mesmo estudar uma nova técnica analítica apropriada para o analito em questão.

## CONCLUSÃO

Ao se analisar variados elementos em uma mesma amostra, verifica-se que diferentes fontes de contribuição na incerteza total podem estar presentes. Enquanto que, para determinados elementos (como Cu, Zn, Mg e Se) a incerteza relativa na concentração da alíquota analisada contribui de forma significativa, para outros (como Mn, Cr e V) a precisão de medida é fonte responsável da contribuição.

Percebe-se que algumas fontes de incerteza, como fator de diluição (massa final) e massa da amostra, podem ser consideradas como insignificantes no processo de obtenção da incerteza expandida. Porém, sempre deve haver a consideração dessas fontes e avaliá-las tecnicamente, principalmente se houver mudança dos equipamentos utilizados ou do grupo envolvido na preparação das amostras.

A incerteza expandida para os elementos determinados, em todas as amostras, variou de 3.8-32.1  $\mu\text{g.g}^{-1}$  sendo este último para o elemento Mn. Exceto para Mn, Cr e V, os dados obtidos estão de acordo com a literatura. Em linhas gerais os maiores fatores que influenciam no cálculo consistem na concentração do analito e na curva de calibração. Estes parâmetros podem ser variáveis dentro da rotina de um laboratório exigindo do analista uma contínua avaliação dos resultados obtidos em função das principais figuras de mérito da técnica e procedimento analítico empregado corrigindo cada etapa conforme a necessidade.

Importante notar que, durante a rotina do laboratório seria difícil para o analista fazer o cálculo da incerteza para cada amostra analisada. Dessa forma, recomenda-se que o laboratório, além dos padrões certificados usualmente utilizados na validação das metodologias analíticas, disponha de amostra(s) de controle (QA/QC) que representem o material em estudo e que devem ser analisadas no início, meio e final de cada grande seqüência avaliando-se o comportamento instrumental e as incertezas durante o período de medição.

Finalmente cabe acrescentar que, conforme apresentado neste trabalho, o cálculo da estimativa de incerteza associada ao processo de medição é importante para a compreensão do procedimento analítico possibilitando assim melhorias ou ajustes. Cabe, portanto, ao analista decidir, em função dos objetivos da análise, se a introdução de etapas adicionais em seu procedimento padrão poderá ser vantajosa ou não, levando em conta os objetivos da análise e influência da qualidade dos resultados obtidos na interpretação final dos dados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. THOMPSON, K.H.; BHANOT, S.; MCNEILL, J.H. Essential trace elements of potential importance in management of diabetes mellitus. **Nutrition Research**, v. 14 (4), p. 593-604, abril 1994;
2. INTERNATIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION. International vocabulary of basic and general terms in metrology. 2<sup>nd</sup> ed. Geneva, Switzerland, 1993;
3. INMETRO. Vocabulário internacional de termos fundamentais e gerais de metrologia. 2ed. 75p., convênio SENAI/INMETRO, Brasília, 2000;
4. ISO Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement 1. Edition, Switzerland, 1995;
5. EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Editors: Ellison, S.R.L., Rosslein, M., Williams, A. 2<sup>nd</sup>. 2000;
6. HILL, S.J.; AROWOLO, T.A.; BUTLER, O.T.; COOK, J.M.; CRESSER, M.S.; HARRINGTON, C.; MILES, D.L. Atomic Spectrometry Update. Environmental Analysis, Journal of Analytical Chemistry, 24(3), 243-254, 2005;
7. MOENS, L.; VERREPT, P.; DAMS, R.; GREB, U.; GERHARD, J.; LASER, B. New high-resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Technology Applied for the Determination of V, Fe, Cu, Zn and Ag in Human Serum. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v.19, September 1994;
8. RIONDATO, J.; VANHAECKE, F.; MONES, L.; DAMS, R. Determination of Trace and Ultratrace Elements in Human Serum With a Double Focusing Magnetic Sector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, V.12 (933-937), September 1997;
9. SCHRAMEL, P.; WENDLER, I. Capabilities of double focusing magnetic sector –ICP-MS for the determination of trace elements in body fluids (blood serum, urine) at the example of control materials. Journal Analytical Chemistry (1998) 361:487-491;
10. Barwick, V.J., Ellison, S.L.R., Fairman, B. Estimation of uncertainties in ICP-MS analysis: a practical methodology. Analytica Chimica Acta 394, p. 281-291, 1999.