AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR DE ELEMENTOS TRAÇOS EM
RADIOFÁRMACOS PRODUZIDOS NA DIRETORIA DE RADIOFARMÁCIA POR
ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO POR PLASMA**

Angélica Tamião Tavares

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de Tecnologia
Nuclear - Aplicações**

**Orientadora:
Profa. Dra. Margareth M. N. Matsuda**

**São Paulo
2013**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR DE ELEMENTOS TRAÇOS EM
RADIOFÁRMACOS PRODUZIDOS NA DIRETORIA DE RADIOFARMÁCIA POR
ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO POR PLASMA**

Angélica Tamião Tavares

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área de Tecnologia
Nuclear - Aplicações**

Orientadora:
Profa. Dra. Margareth M. N. Matsuda

Versão Corrigida
Versão Original disponível no IPEN

São Paulo
2013

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho e todas as minhas conquistas à minha mãe, Marilza, que sempre esteve ao meu lado. Seu apoio e seus ensinamentos foram a base para eu realizar meus sonhos. Ao meu pai, Watson, por toda paciência e companhia na época dos vestibulares, e ao meu irmão, Guilherme. Obrigada pelo apoio incondicional. Vocês dão sentido a minha vida.

Ao meu marido, Eric, com quem divido minha vida, obrigada pela paciência, dedicação, companheirismo e amor.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Margareth M. N. Matsuda pela orientação, ensinamentos e a oportunidade de desenvolver esse trabalho.

À MSc. Neuza T. S. Fukumori pelo apoio e incentivo.

Às minhas amigas e companheiras Stella e Patrícia. Aos funcionários da Diretoria de Radiofarmácia pela amizade.

Ao Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo e CNPq pelo curso de pós graduação, infra estrutura e auxílio financeiro.

À todos os meus professores que contribuíram para minha formação. Em especial a Dra. Clarice Aoki pelo exemplo e incentivo.

*“...Um dia me perguntaram: pra que isso?
Pra quando me pedirem água, eu saiba como foi passar sede;
Pra quando me pedirem comida, eu saiba como foi passar fome;
Pra quando eu estiver em uma situação difícil, lembrar que já passei por
situações piores, e superei;
Pra que eu me lembre de valorizar as coisas simples, como poder tomar
banho ou até mesmo fazer uma refeição.
O sofrimento é passageiro, o aprendizado é pra toda vida...”*
Ten. Guilherme Derrite

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO.....	2
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
3.1 Radiofármacos.....	3
3.1.1 Gerador de radionuclídeo.....	4
3.1.2 Fludesoxiglicose (^{18}F)	5
3.1.3 Reagentes liofilizados para marcação com $^{99\text{m}}\text{Tc}$	5
3.1.4 Iodeto de sódio (^{131}I)	8
3.2 Controle de qualidade.....	8
3.3 Aspectos da proposta de revisão dos capítulos 232 e 233 na USP.....	10
3.4 Métodos instrumentais para análise de elementos químicos.....	12
3.4.1 Análise por ativação neutrônica (AAN)	12
3.4.2 Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS)	13
3.4.3 Espectrometria de emissão atômica (ICP).....	14
3.4.3.1 Plasma.....	15
3.4.3.2 A tocha.....	16
3.4.3.3 Introdução da amostra.....	17
3.4.3.4 Tipos de interferências	19
3.4.3.4.1 Interferência espectral.....	20
3.4.3.4.2 Interferência não espectral.....	21
3.4.3.4.2.1 Interferência não espectral causada por elementos facilmente ionizáveis	22

3.4.3.4.2.2 Interferência não espectral causada pelo estanho.....	23
3.4.4 Espectrometria de massa acoplado ao plasma indutivamente (ICP-MS)...	24
3.5 Toxicologia.....	25
3.6 Os passos do método analítico.....	29
3.6.1 Amostragem e conservação da amostra.....	29
3.6.2 Pretratamento e solubilização da amostra.....	30
3.7 Desenvolvimento e validação do método analítico.....	31
3.8 Parâmetros analíticos.....	32
3.8.1 Especificidade e seletividade.....	32
3.8.1.1 Técnica de adição de padrão ou efeito de matriz.....	32
3.8.2 Robustez.....	33
3.8.3 Precisão.....	33
3.8.4 Exatidão.....	34
3.8.5 Linearidade.....	34
3.8.6 Limite de detecção (LD)	35
3.8.7 Limite de quantificação (LQ)	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1 Materiais.....	37
4.1.1 Reagentes e solventes.....	37
4.2 Preparo das amostras.....	38
4.3 Equipamentos.....	38
4.4 Condições de operação do ICP-OES.....	39
4.4.1 Validação do método analítico por ICP-OES.....	39
4.4.1.1 Otimização das condições de operação do equipamento ICP-OES.....	39
4.4.1.2 Limpeza e manutenção do equipamento.....	40
4.4.1.3 Seleção das linhas analíticas.....	40

4.4.1.4 Limites de detecção e quantificação	42
4.4.1.5 Recuperação	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1 Otimização das condições de operação do equipamento ICP-OES.....	44
5.2 Parâmetros de validação.....	46
5.2.1 Condições de operação do ICP-OES.....	46
5.2.2 Influência da limpeza e manutenção do equipamento.....	47
5.2.3 Linearidade.....	49
5.2.3.1 Seleção das curvas analíticas	49
5.2.3.1.1 Análise de Alumínio	49
5.2.3.1.2 Análise de Sódio.....	53
5.2.3.1.3 Análise de Potássio.....	56
5.2.3.1.4 Análise de Cálcio.....	57
5.2.3.1.5 Análise de Zinco.....	59
5.2.3.1.6 Análise de Telúrio.....	61
5.2.3.1.7 Análise de Estanho.....	63
5.2.4 Limites de detecção e quantificação.....	67
5.3 Curvas analíticas selecionadas.....	68
5.4 Ensaio de recuperação.....	70
6 CONCLUSÃO.....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77

LISTA DE FIGURAS

		Página
FIGURA 1	Representação do decaimento do ^{99}Mo a $^{99\text{m}}\text{Tc}$	4
FIGURA 2	Esquema do funcionamento do gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$	4
FIGURA 3	Reação de oxi-redução para obtenção de radiofármaco marcado com $^{99\text{m}}\text{Tc}$	6
FIGURA 4	Processo de captura de nêutron por um núcleo seguindo-se a emissão de raios gama	13
FIGURA 5	Comportamento do elétron quando excitado. (A) No estado excitado, o elétron absorve uma determinada energia e eleva-se para nível mais energético. (B) Ao retornar para a órbita original, o elétron perde energia na forma de ondas eletromagnéticas	14
FIGURA 6	Representação esquemáticos do ICP-OES	15
FIGURA 7	Esquema de tocha em ICP-OES. H – campo magnéticos induzido. I – bobina de indução	16
FIGURA 8	Tocha com vista axial	17
FIGURA 9	Nebulizador pneumáticos	18
FIGURA 10	Representação das etapas que ocorrem com a amostra na tocha	19
FIGURA 11	Exemplos de interferências espectrais em análise por ICP-OES. A – linhas coincidentes dos elementos Ti (228,618nm) e do Co (228,616). B – sobreposição parcial das linhas Al (220,467) e do Pb (220,353). C – interferência da radiação de fundo na linha emissão do Au causado pela linha Al	20
FIGURA 12	Espectro de emissão do plasma de Ar na faixa de 330 a 475 nm. As linhas horizontais indicam as faixas de comprimento onde as bandas de emissão moleculares do NO, OH e N_2^+ e linhas de emissão do Ar são mais frequentes	21
FIGURA 13	Equipamento de ICP-OES	39
FIGURA 14	Efeito da potência de operação no ICP-OES na razão das intensidades das linhas Mg II / Mg I	45
FIGURA 15	Espectros de emissão de $[\text{Al}] = 0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Comprimentos de onda de emissão: 237,312; 237,335; 308,215; 309,271 e	50

396,152 nm

FIGURA 16	Curva analítica de Al para diferentes linhas de emissão. [Al] = 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. (A) 237,312 nm; (B) 237,335 nm; (C) 308,271 nm; (D) 309,271; (E) 396,152 nm.	51
FIGURA 17	Curva analítica para a faixa de concentração de Al de 0,025 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, de comprimento de onda de emissão 396,152 nm, $y=18141,0 + 129,9$, $r = 0,99998$	52
FIGURA 18	Curva analítica do Na na faixa 10 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Curva A: linha de emissão 588,995 nm $y= 15453,164x + 72421$, $r = 0,57000$. Curva B: linha de emissão 568,821 nm $y= 195,9659x + 4058, 205$, $r = 0,99745$	54
FIGURA 19	Curva analítica do Na na faixa de concentração 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Curva A: linha de emissão 588,995 nm ($y=208565,6x - 317,7$, $r = 0,99999$). Curva B: linha de emissão 568,821 nm ($y=104,85x - 44,010$, $r = 0,99921$).	55
FIGURA 20	Espectros de emissão de [Na] = 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ nos comprimentos de onda 568,821 e 588,995 nm	55
FIGURA 21	Curva analítica K na faixa de concentração de 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimento de onda de emissão 766,491 nm, $y=25479,3x - 5558,1$, $r = 0,99987$	56
FIGURA 22	Espectros de emissão de [K] = 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ no comprimentos de onda 766,491nm	57
FIGURA 23	Curva analítica de Ca na faixa de concentração de 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, A) comprimento de onda 422,673 nm, $y=45816,6x + 22169,8$, $r = 0,99932$. B) comprimento de onda 373,690 nm, $y=1280,318x + 405,322$, $r = 0,99912$	58
FIGURA 24	Espectros de emissão de [Ca] = 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Nos comprimentos de onda de emissão: 373,690 e 422,673 nm	59
FIGURA 25	Curva analítica Zn na concentração 0,025 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimento de onda 213,857 nm, $y=12236,1x + 43,7$, $r = 0,99989$	60
FIGURA 26	Espectro de emissão de [Zn] = 0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ no comprimento de onda 213,857nm	60
FIGURA 27	Curva analítica de Zn na faixa de concentração 0,025 a 2,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimento de onda 213,857nm, $y=13130,826x + 198,819$, $r = 0,99927$	61

FIGURA 28	Curva analítica Te na faixa de concentração 0,5 a 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimento de onda 214,282 nm, $y = 573,4x + 3,0$, $r = 0,99993$	62
FIGURA 29	Espectro de emissão $[\text{Te}] = 5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ no comprimento de onda 214,282 nm	62
FIGURA 30	Curva analítica de Sn na faixa de concentração 20 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimento de ondas 189,927; 242,170; 242,950; 300,913; 317,503nm	63
FIGURA 31	Curva analítica de Sn na faixa de concentração 1 a 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimento de onda 189,927; 242,170; 242,950; 300,913; 317,503nm	64
FIGURA 32	Curva analítica de Sn na faixa de concentração de 0,1 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	64

LISTA DE TABELAS

		Página
TABELA 1	Quantidade (mg) de cloreto estanoso diidratado e estanho nos reagentes liofilizados	7
TABELA 2	Classificação dos elementos segundo a toxicidade e os respectivos limites de concentração em medicamentos	10
TABELA 3	Vazão do gás argônio na tocha	17
TABELA 4	Pontenciais de ionização dos metais alcalinos e alcalinos terrosos	22
TABELA 5	Comparação entre os LD ($\mu\text{g L}^{-1}$) para as técnicas de ICP-MS, ICP-OES, AAS (espectrometria com absorção atômica) e ET-AAS (espectrometria com absorção atômica em forno de grafite).	25
TABELA 6	Ingestão diária recomendada para adultos	26
TABELA 7	Parâmetros do equipamento para avaliação da robustez (razão entre as linhas de emissão do Mg)	40
TABELA 8	Linhas de emissão (nm) e faixa analíticas estudadas para cada elemento	41
TABELA 9	Robustez do método a partir da relação do Mg II 285nm / Mg I 280 nm	45
TABELA 10	Condições de operação do ICP-OES	47
TABELA 11	Comparação das equações das retas antes e após a limpeza	48
TABELA 12	Parâmetros das equações de reta das linhas de emissão do Al na faixa de concentração 0,5 a 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.	50
TABELA 13	Comparação entre o teor de Al obtido por diferentes técnicas	53
TABELA 14	Parâmetros das equações de reta das linhas de emissão do Sn na faixa de concentração 20 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$	65
TABELA 15	Parâmetros das equações de reta das linhas de emissão do Sn na faixa de concentração 1,0 a 30,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	65
TABELA 16	Parâmetros das equações de reta das linhas de emissão do Sn na faixa de concentração 0,1 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	65
TABELA 17	Concentração Sn em reagentes liofilizados	66

TABELA 18	Limites de detecção e quantificação para os 27 elementos	67
TABELA 19	Parâmetros das curvas analíticas para 27 elementos	69
TABELA 20	Exemplo de resultados para a solução multielementar de controle de 1 µg mL ⁻¹ utilizado em todas as análises	70
TABELA 21	Concentração dos elementos nas amostras de radiofármacos	71
TABELA 22	% Recuperação de Cu em amostras de MIBI-TEC	73
TABELA 23	% Recuperação de Zn em amostras de MIBI-TEC	73
TABELA 24	% Recuperação de Zn em amostras de FDG-Flúor-18	74
TABELA 25	% Recuperação de Al em amostras de FDG-Flúor-18	74
TABELA 26	% Recuperação de Zn em amostras de GERADOR IPEN-TEC	74
TABELA 27	% Recuperação de Al em amostras de GERADOR IPEN-TEC	74
TABELA 28	% Recuperação de Te em amostras de Iodo-131 SOLUÇÃO	75

DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR DE ELEMENTOS TRAÇOS EM RADIOFÁRMACOS PRODUZIDOS NA DIRETORIA DE RADIOFARMÁCIA POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO POR PLASMA

Angélica Tamião Tavares

RESUMO

Os radiofármacos são preparações farmacêuticas, que contém radionuclídeo, utilizados em medicina nuclear. O objetivo desse trabalho foi estudar as concentrações de elementos químicos, principalmente metais, em amostras de radiofármacos ALBUMINA-TEC, DEX 70-TEC, DEX 500-TEC, DISIDA-TEC, DMSA-TEC, EC-TEC, DTPA-TEC, FITATO-TEC, GHA-TEC, MDP-TEC, MIBI-TEC, PIRO-TEC, FDG-Flúor-18, GERADOR IPEN-TEC, IODO-131 SOLUÇÃO. As análises foram realizadas em equipamento Vista MPX simultâneo ICP-OES (Agilent, Australia). A validação do método foi realizado segundo os critérios descritos na RDC n° 899: Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos de 29 de maio de 2003. De acordo com a Farmacopeia Americana (USP), as impurezas elementares com potencial toxicidade devem ser quantificados. Uma proposta de revisão USP 35 introduz a técnica de espectrometria de emissão atômica para a análise de elementos. Os resultados de validação das análises no ICP-OES indicam a necessidade de controle da limpeza e manutenção do equipamento, alterações do *sample uptake delay* e avaliação da robustez com as linhas do Mg. As curvas analíticas e faixas de concentrações analisadas foram lineares com $r > 0,99$. Os resultados de DPR foram abaixo de 5%. Todos os resultados dos parâmetros avaliados estão de acordo com os estabelecidos pela ANVISA.

MULTIELEMENTAL DETERMINATION OF TRACE ELEMENTS IN RADIOPHARMACEUTICALS PRODUCED AT THE RADIOPHARMACY CENTER USING ICP-OES TECHNIQUE

Angélica Tamião Tavares

ABSTRACT

Radiopharmaceuticals are pharmaceutical preparations containing radionuclide used in nuclear medicine. The aim of this work was to study the concentrations of chemical elements, especially metals, in samples of radiopharmaceuticals ALBUMINA-TEC, DEX 70-TEC, DEX 500-TEC, DISIDA-TEC, DMSA-TEC, EC-TEC, DTPA-TEC, FITATO-TEC, GHA-TEC, MDP-TEC, MIBI-TEC, PIRO-TEC, FDG-FLÚOR-18, GERADOR IPEN-TEC, IODO-131 SOLUÇÃO. The analyses were carried out simultaneously in an ICP-OES Vista MPX (Agilent). The method validation was performed according to the criteria defined in RDC No. 899 : Guide for validation of analytical and bioanalytical methods for May 29, 2003 of the ANVISA. According to the U.S. Pharmacopeia (USP), the elemental impurities with potential toxicity must be quantified. A proposed revision to USP 35 introduces the technique of atomic emission spectrometry for the analysis of elements. The validation results of the ICP- OES analyzes indicated the necessary to control the cleaning and maintenance of equipment, changes in sample uptake delay and robustness evaluation with the lines of Mg. The analytical curves and concentration ranges analyzed were linear with $r > 0.99$. The results of DPR were below 5%. All the parameters were below the established by ANVISA .

1 INTRODUÇÃO

A medicina nuclear é uma especialidade médica que, com o uso de radiofármacos e técnicas de imagem, permite verificar o metabolismo de tecidos e órgãos, com a finalidade de diagnóstico ou terapia ^(1,2). O método de diagnóstico por imagem é um dos procedimentos mais realizados na área da medicina nuclear. A radiação emitida pelo radionuclídeo do radiofármaco é captada por equipamentos específicos e convertida em imagens planares ou tridimensionais ⁽¹⁾.

Os radiofármacos são administrados por via oral, parenteral ou inalatória e por isso devem cumprir os requisitos das Boas Práticas de Fabricação (BPF) exigidos aos produtos farmacêuticos convencionais ⁽³⁻⁵⁾. O controle de qualidade deve assegurar a qualidade dos produtos para uso em seres humanos, através da avaliação de parâmetros analíticos e biológicos, antes de serem liberados para uso ⁽⁴⁻⁶⁾.

A validação de métodos utilizados em procedimentos laboratoriais visa garantir a confiabilidade dos resultados e demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida ^(8,9).

A técnica de espectrometria atômica é amplamente empregada para a determinação de elementos químicos. A espectrometria de emissão atômica foi introduzida como técnica de análise na década de 70 e, atualmente, é muito utilizada para as análises de elementos químicos em amostras ambientais, medicamentos e alimentos ^(10,11).

Para utilizar a espectrometria de emissão atômica com acoplamento indutivo, também conhecida como espectrometria de emissão por plasma (ICP-OES) como técnica de rotina no controle de qualidade dos radiofármacos produzidos no Centro de Radiofarmácia (CR) do Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares (IPEN), faz-se necessário o desenvolvimento e validação do método que atendam às especificações das legislações vigentes.

2 OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi estudar as concentrações de elementos químicos, principalmente metais, presentes como impurezas traços, impurezas de processos e impurezas componentes nos radiofármacos Fludesoxiglicose (^{18}F), Pertecnetato de Sódio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), Iodeto de Sódio (^{131}I) e alguns reagentes liofilizados para marcação com $^{99\text{m}}\text{TCO}_4^-$ como: Albumina, Agregado de Albumina, Dextrana 70, Dextrana 500, Disofenina, Succimer, Estanho coloidal, Glíoepionato, Pentetato de sódio, Bicisato, Medronato de sódio, Pirofosfato de sódio, Fitato de sódio, Etilenodicisteína e Sestamibi. liofilizados produzidos no Centro de Radiofarmácia, utilizando-se a técnica de ICP-OES.

O objetivo específico foi obter uma curva analítica para quantificar o maior número de elementos com uso de volume mínimo de amostra de radiofármaco.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Radiofármacos

Os radiofármacos são preparações farmacêuticas constituídas de substâncias inorgânicas, peptídeos, proteínas, anticorpos ou oligopeptídeos, que quando prontas para o uso, contém um radionuclídeo ^(12 modificado). Esses radiofármacos são empregados com finalidade diagnóstica ou terapêutica ⁽¹²⁾.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe de resoluções para a normatização da fabricação de radiofármacos no Brasil. Atualmente estão em vigência as Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) n° 17, de 16 de abril de 2010 que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação (BPF) de medicamentos, a RDC n° 63, de 18 de dezembro de 2009, que complementa a RDC n° 17 para as BPF de Radiofármacos e RDC n° 64, de 18 de dezembro de 2009 que dispõe sobre o registro de radiofármacos ⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Segundo a RDC n° 64, os radiofármacos são classificados como:

- componentes não radioativos para marcação: são reconstituídos ou combinados com um radionuclídeo para a síntese do radiofármaco final, antes da administração ao paciente. São conhecidos como *kits* ou reagentes liofilizados;
- radionuclídeos: isótopos instáveis os quais sofrem perda radioativa e transmutam-se em novo elemento. Nesse grupo inclui-se o eluato de geradores de radionuclídeos. Os geradores são sistemas que incorporam um radionuclídeo pai adsorvido numa coluna que, por decaimento, produz um radionuclídeo filho que pode ser removido por eluição; e
- radiofármacos pronto para o uso. Nessa classificação incluem-se radiofármacos conhecidos como moléculas marcadas.

As técnicas utilizadas na medicina nuclear são divididas em “*in vivo*” e “*in vitro*”. Nos procedimentos “*in vitro*” é retirada uma amostra biológica do paciente, que depois é marcada com uma substância radioativa numa técnica conhecida como radioimunoensaio ⁽¹⁾. Na técnica “*in vivo*”, o radiofármaco pode atingir o órgão alvo através da perfusão sanguínea ou podem ser direcionados por moléculas biologicamente ativas, com anticorpos específicos ^(1,7,15).

Cada um dos radiofármacos deve possuir características específicas, a saber decaimento compatível com o procedimento a ser realizado, baixa toxicidade, alto grau

de pureza radionuclídica, radioquímica e química, alta atividade específica e disponibilidade, baixo custo, ser biologicamente estável, dentre outras ^(1,9).

3.1.1 Gerador de radionuclídeo

O gerador de tecnécio, comercializado com o nome de GERADOR IPEN-TEC, é um sistema composto por uma coluna cromatográfica empacotada com óxido de alumínio ou alumina (Al_2O_3), onde é depositado e adsorvido o radionuclídeo pai ^{99}Mo na forma de $(^{99}\text{MoO}_4^{2-})$, que decai para o radioisótopo filho ($^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$). A atividade do radioisótopo filho aumenta enquanto a do pai diminui, a maior atividade do radioisótopo filho é alcançada após 24 horas ⁽¹⁶⁾. O ^{99}Mo decai por emissão de partículas β em $^{99\text{m}}\text{Tc}$ que possui uma meia-vida física ($t_{1/2}$) de aproximadamente 6 horas. O $^{99\text{m}}\text{Tc}$ decai para ^{99}Tc por emissão de radiação γ . O decaimento do ^{99}Mo está representado na FIG. 1.

FIGURA 1 - Representação do decaimento do ^{99}Mo a $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ⁽¹⁶⁾

O gerador é eluído com solução de NaCl 0,9%, e o $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ é coletado em um frasco em vácuo, enquanto o $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ permanece retido na coluna ⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. O esquema de eluição do gerador está representado na FIG. 2.

FIGURA 2 - Esquema do funcionamento do gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ ⁽¹⁶⁾

Com a utilização de alumina na coluna do gerador e a radiólise, íons alumínio podem desprender-se durante o processo de eluição. Por esse motivo, íons alumínio no eluído devem ser quantificados no controle de qualidade químico ^(9,18).

Os radiofármacos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ são amplamente utilizados na medicina nuclear devido às características físicas e químicas do tecnécio, a saber: meia-vida física de 6,01h, decaimento por emissão de radiação gama puro (fótons de 140 keV), praticidade de obtenção, possibilidade de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ atingir vários estados de oxidação e originar vários radiofármacos a partir da complexação com os reagentes liofilizados ^(9,19).

3.1.2 Fludesoxiglicose (^{18}F)

O radionuclídeo de ^{18}F é um emissor de pósitron muito utilizado em radiofármacos devido suas características, tais como: emissão de pósitron (0,64 MeV) e curto alcance de penetração tecidual (2,4 mm) ⁽²⁰⁾.

O radionuclídeo ^{18}F é produzido, livre de carregador, em ciclotron, com a irradiação de alvo contendo H_2O enriquecido com ^{18}O através da reação nuclear $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$. A molécula de triflato de manose reage com o ^{18}F na presença de acetonitrila, K_2CO_3 e Kryptofix. O ^{18}F substitui o triflato do C2 da molécula de manose criando uma ligação carbono- ^{18}F . Essa substituição leva a uma inversão da estereoquímica da manose para a configuração de glicose originando o radiofármaco Fludesoxiglicose (^{18}F). No processo de glicólise, o Fludesoxiglicose (^{18}F) assemelha-se à molécula de glicose e mimetiza sua entrada na célula. Dentro da célula, ele é fosforilado em ^{18}F -FDG-6-fosfato pela enzima hexoquinase, resultando no seu acúmulo dentro da célula, o que permite a obtenção das imagens “*in vivo*”. Esse radiofármaco é

utilizado em diagnóstico para diferenciação de doenças malignas e benignas e detecção de tumores primários ⁽²¹⁾.

Comercialmente, o Fludesoxiglicose (¹⁸F) é conhecido como FDG-Flúor-18

3.1.3 – Reagentes liofilizados para marcação com ^{99m}Tc

Componentes não radioativos para marcação, também conhecidos como kit ou reagentes liofilizados, devem ser reconstituídos ou combinados com pertecnetato de sódio (^{99m}TcO₄⁻) antes de administrados ao paciente ⁽¹⁶⁾. Essa reação de oxi-redução e complexação para formação do radiofármacos está representada na Fig. 3.

FIGURA 3 - Reação de oxi-redução para obtenção de radiofármaco marcado com ^{99m}Tc. ⁽¹⁶⁾

O cloreto estano diidratado é empregado nas formulações como um oxidante e está presente em quantidades diferentes em cada componente não radioativo para marcação. As concentrações de SnCl₂.2H₂O e Sn nos reagentes liofilizados estão relacionados na TAB. 1.

TABELA 1 – Quantidade (mg) de cloreto estano diidratado e estanho nos reagentes liofilizados produzidos no IPEN - CNEN/SP ⁽²²⁻²⁷⁾

Reagente Liofilizado	Nome Comercial	SnCl₂.2H₂O (mg)	Sn (mg)	Indicação
Albumina (^{99m} Tc)	ALBUMINA - TEC	0,040	0,021	Linfocintilografia e perda proteica intestinal
Dextrana 70	DEX 70-TEC	0,750	0,395	Linfocintilografia
Dextrana 500	DEX 500-TEC	1,500	0,789	Linfocintilografia
Disofenina (^{99m} Tc)	DISIDA-TEC	0,500	0,263	Cintilografia hepática e vias biliares
Succimer (^{99m} Tc)	DMSA-TEC	0,44	0,232	Cintilografia renal
Pentetato de sódio (^{99m} Tc)	DTPA-TEC	1,00	0,526	Cintilografia renal e cerebral
Etilenocisteína (^{99m} Tc)	EC-TEC	0,30	0,158	Cintilografia renal
Bicisato (^{99m} Tc)	ECD-TEC	0,125	0,065	Cintilografia cerebral
Fitato de sódio (^{99m} Tc)	FITATO-TEC	1,00	0,526	Cintilografia hepática
Agregado de albumina (^{99m} Tc)	MACRO-TEC	0,220	0,116	Cintilografia pulmonar
Sestamibi (^{99m} Tc)	MIBI-TEC	1,00	0,526	Cintilografia de mama e cardíaca
Medronato de sódio (^{99m} Tc)	MDP-TEC	1,20	0,630	Cintilografia óssea
Pirofosfato tetrassódico (^{99m} Tc)	PIRO-TEC	2,00	1,052	Cintilografia óssea e cardíaca

3.1.4 Iodeto de sódio (^{131}I)

O iodo é um elemento não metal pertencente à família química dos halogênios. Pode ser encontrado naturalmente na forma de iodeto em substâncias orgânicas e inorgânicas e apresenta um único isótopo natural. Esse elemento pode originar vários isótopos radioativos. Em medicina nuclear, os isótopos ^{123}I e o ^{131}I são os mais utilizados ^(28,29).

O radioisótopo ^{131}I possui meia vida física de 8,04 dias, desintegra por emissão β^- e sua produção ocorre em reator nuclear por dois processos. No método direto, ^{131}I é obtido como subproduto da fissão do ^{235}U . No método indireto, o ^{131}I é obtido através da irradiação de ^{130}Te e consequentemente esse elemento químico pode aparecer como impureza em ^{131}I e a sua concentração final não pode exceder $10\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ⁽³⁰⁻³¹⁾.

Os radioisótopos de iodo são produzidos na forma de ânion iodeto e podem apresentar-se com alta atividade específica. Um dos radiofármacos de iodo utilizado na medicina nuclear é o Iodeto de sódio ^{131}I , comercialmente conhecido como Iodo 131 SOLUÇÃO. Este radiofármaco é empregado no diagnóstico e tratamento de doenças da tireóide ⁽³²⁾.

3.2 Controle de Qualidade

O controle de qualidade é definido como o conjunto de medidas destinadas a verificar a qualidade de cada lote de medicamento, para o atendimento às normas de atividade, pureza, eficácia e inocuidade ⁽¹²⁾.

Todos os procedimentos de controle de qualidade que são aplicados aos fármacos tradicionais, como controle biológico, físico-químico e químico são igualmente aplicáveis para os radiofármacos, além de ensaios de pureza radioquímica e radionuclídica ⁽¹⁶⁾.

A pureza radioquímica é determinada pela fração do radioisótopo presente na forma química desejada do radiofármaco. O método de cromatografia em camada delgada (CCD) ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) são amplamente empregados para determinar a pureza radioquímica ⁽³³⁾.

No controle químico de radiofármacos é determinada a pureza química através da quantificação da espécie química ou da impureza ⁽¹⁾.

A pureza radionuclídica é definida pela fração da radioatividade total, na forma do radionuclídeo. A avaliação quantitativa e qualitativa pode ser realizada por espectrometria gama, utilizando um detector coaxial de germânio hiperpuro (HPGe),

refrigerado com nitrogênio líquido. Esse detector possui boa resolução e ampla região onde se verifica a linearidade entre as energias e as alturas dos impulsos emitidos pelos radionuclídeos para o cálculo da pureza radionuclídica ^(1,32-33). A identidade radionuclídica pode ser determinada utilizando um contador de poço para estabelecer $t_{1/2}$ ⁽¹⁾.

Um dos objetivos a ser alcançado durante a produção de medicamentos é assegurar a reprodutibilidade da qualidade e da segurança do produto ⁽¹⁷⁾.

Com a diversidade de produtos radiofarmacêuticos, as impurezas podem ser provenientes da matéria-prima, reagentes adicionados nas etapas da produção, equipamentos ou recipientes utilizados na preparação, ou provenientes da degradação do produto, como por exemplo a presença de alumínio no eluído de gerador de $^{99m}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ ^(10-11, 18).

A decomposição do radiofármaco também pode introduzir impurezas com formação de sub-produtos não radioativos. A temperatura ou a acidez do meio pode provocar a hidrólise do radiofármaco. A presença de oxidantes, agentes redutores, íons metálicos, excipientes como estabilizantes, antioxidantes e também fatores ambientais podem causar a decomposição por oxirredução ⁽¹⁾.

A presença de substâncias indesejáveis nos radiofármacos pode alterar as características organolépticas, afetar a radiomarcagem e alterar o diagnóstico por imagem, influenciar a segurança e a eficiência dos radiofármacos e causar efeitos adversos ^(1, 15-16).

Uma importante categoria de impurezas em compostos farmacêuticos é de natureza inorgânica. Dentre as impurezas químicas mais comuns estão os íons metálicos, que podem ser responsáveis pelo baixo rendimento de marcação, podendo alterar a biodisponibilidade dos radiofármacos e serem tóxicos para o paciente ^(1,10).

De acordo com a Farmacopeia Americana (USP), os elementos químicos podem ser divididos em duas classes de acordo com o grau de toxicidade. As impurezas classificadas como Classe 1 devem estar ausentes nos medicamentos e excipientes por serem altamente tóxicas à saúde e ao meio ambiente. Estas substâncias, quando presentes, devem estar em níveis bastante restritivos ⁽³⁴⁾.

Os elementos da Classe 2 são menos tóxicos que os da Classe 1 e as concentrações nos medicamentos são menos limitadas; deverão ser quantificados apenas quando adicionados à matéria-prima ou ao produto acabado durante a produção ⁽³⁴⁾. Os elementos da Classe 1 e da Classe 2 e a dose diária permitida estão relacionados na TAB. 2.

TABELA 2 - Classificação dos elementos segundo a toxicidade e os respectivos limites de concentração em medicamentos ⁽³⁵⁾.

Classe do elemento químico (impureza)	Elemento	Dose oral diária (µg/dia)	Dose parenteral diária (µg/dia)	Dose inalatória diária (µg/dia)
Classe 1	Arsênio (As)	1,5	1,5	1,5
	Cádmio (Cd)	25	2,5	1,5
	Chumbo (Pb)	5	5	5
	Cobre (Cu)	1000	100	NC
	Cromo (Cr)	NC	NC	25
	Mercúrio (Hg)	15	1,5	1,5
Classe 2	Molibdênio (Mo)	100	10	NC
	Níquel (Ni)	500	50	1,5
	Paládio (Pd)	100	10	1,5
	Platina (Pt)	100	10	1,5
	Vanádio (V)	100	10	30

NC: não consta

3.3 Aspectos da proposta de revisão dos Capítulos 232 e 233 na USP

Atualmente, há uma proposta de revisão dos capítulos 232 e 233 da USP em análise referente aos limites de elementos químicos considerados impurezas elementares e procedimentos de análises que tem como objetivo proteger a saúde pública, estabelecendo métodos e limites aceitáveis de impurezas em medicamentos e matérias primas.

Com o aumento da importação de produtos farmacêuticos entre os países, há a necessidade de assegurar a conformidade destes requisitos estabelecidos pelos órgãos de fiscalização de maneira a garantir a qualidade dos produtos ⁽³⁶⁾.

Atualmente o método descrito no capítulo 231 da USP para determinação dos elementos químicos Ag, As, Bi, Cd, Cu, Hg, Mo, Pb, Sb e Sn baseia-se em métodos de precipitação com sulfeto em solução aquosa e comparação visual da cor com a solução padrão ⁽¹¹⁾. Esse método apresenta limitações, a saber, consumo de tempo, baixa sensibilidade e especificidade e frequentemente é incapaz de detectar a presença de elementos de grande interesse toxicológico, como o As, Cd, Hg, Pb. Esses pontos

negativos estão descritos pela Agência de Medicamentos da Europa (EMA). Embora o capítulo 231 da USP seja intitulado “*Elementos Pesados*”, não fica claro em seu texto quais elementos esse método é capaz de detectar e outros métodos qualitativos descritos nos capítulos 241, 251, 261, 291, 591 e 296 são utilizados para a determinação de elementos como Al, Fe, Hg, Pb, Se e Zn ⁽³⁷⁻⁴²⁾. Além disso, Lewen e colaboradores sugerem que o nome “elemento pesado” é uma definição dúbia, pois pode induzir a ideia de massa atômica, densidade, propriedades físico-químicas ou toxicidade ^(11,37).

Especialistas sugerem a substituição desse método por métodos instrumentais mais específicos e sensíveis que englobem uma ampla faixa de elementos ⁽³⁶⁾.

O desenvolvimento da técnica de espectrometria atômica vem tornando possível a análise quantitativa de elementos químicos em todas as fases do processo de desenvolvimento de medicamentos, garantido rapidez e especificidade às análises ⁽³⁷⁾.

O Fórum da USP número 36 realizado em 20 de julho de 2010 sugeriu a implementação de três novos capítulos referentes aos limites de impurezas elementares, métodos e procedimentos para a análise, e limites destes em suplementos alimentares baseados na toxicidade ⁽³⁶⁻³⁷⁾.

O Capítulo 232 especifica os limites para algumas impurezas químicas elementares em medicamentos baseados no limite de exposição diária para cada elemento. Esses limites não se aplicam aos excipientes, produtos veterinários e suplementos alimentares, exceto quando especificados nas monografias oficiais. Entretanto, os níveis de impurezas nos fármacos e excipientes devem ser mensurados e relatados ^(34, 37).

O Capítulo 233 descreve dois procedimentos analíticos para a determinação dos níveis de impurezas elementares. Esses métodos são mais sensíveis e específicos do que os usados atualmente. O procedimento 1 sugere o uso do ICP-OES, e o procedimento 2, ICP-MS, ambos para a determinação de impurezas elementares. Como essas técnicas são alternativas e ainda não estão descritas em compêndios oficiais, faz-se necessário a validação dos métodos através da demonstração experimental com o uso adequado dos equipamentos.

Os parâmetros de validação descritos para a aceitação do método são: seletividade, especificidade, precisão, exatidão, robustez e repetibilidade ⁽⁴²⁾.

O capítulo 2232 descreve os limites de elementos contaminantes em suplementos alimentares ⁽⁴²⁾.

Os capítulos 232 e 233 estão em revisão desde 2010 e há uma proposta de implementação em 14 de maio 2014. Essa prorrogação visa uma maior discussão entre

especialistas, toxicologistas, indústria, organização de comércio e órgãos regulatórios sobre o assunto. Por enquanto, não há necessidade de submeter os medicamentos e matérias primas aos procedimentos descritos nesses capítulos ⁽³⁶⁾.

3.4 Métodos instrumentais para análise de elementos químicos

Muitos métodos analíticos têm sido utilizados para determinação de elementos químicos em matéria-primas, produtos intermediários e produto final, incluindo análise por ativação neutrônica (AAN), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS), ICP-OES e ICP-MS ^(13-14, 43-48).

3.4.1 Análise por ativação neutrônica (AAN)

A análise por ativação com nêutrons (AAN) consiste no bombardeamento de um material, seguido da medição da radioatividade induzida, como representado na FIG 4. A irradiação é feita com nêutrons e a radioatividade resultante é medida usando-se espectrometria de raios gama. Uma vez que no processo de ativação cada isótopo produzido possui características de emissão próprias, $t_{1/2}$ e energia das partículas ou radiação gama específicas, é possível efetuar determinações quantitativas da concentração dos elementos constituintes do material, realizando-se comparação com padrões ⁽⁴⁹⁾.

A ausência de pré-tratamento da amostra proporciona redução de contaminação e evita a ocorrência de fracionamento ou recuperação parcial dos elementos ⁽⁴⁹⁾.

A AAN é um procedimento analítico sensível, de alta qualidade metrológica, um método de análise não destrutivo que permite, em alguns casos, determinar a concentração de 20 a 40 elementos em uma única amostra, e por isso se tornou uma ferramenta interessante para avaliar a repetibilidade e reprodutibilidade. Por ser de caráter independente e particularmente insensível às interferências de matriz, este método é empregado para verificar a robustez e validar métodos e materiais de referência. Essa técnica apresenta como desvantagem a necessidade de uma fonte de nêutrons e dificuldade de acesso aos reatores nucleares e instrumentação para medir a radioatividade gama, o que leva a um alto custo de operação ⁽⁴⁹⁾.

FIGURA 4 - Processo de captura de nêutron por um núcleo seguindo-se a emissão de raios gama ⁽⁴⁹⁾.

3.4.2 Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS)

ETAAS baseia-se na medição da absorção de intensidade de radiação eletromagnética por átomos gasosos no estado fundamental. Esta técnica é importante pela sua capacidade de determinação de elementos-traço e ultratraço em diversos tipos de matrizes ^(17,49). A amostra é pré-tratada quimicamente no próprio tubo de grafite, utilizando-se programação de temperatura de aquecimento do tubo, o que diminui as fontes de erros associadas ao processo de digestão de amostra ⁽⁵⁰⁻⁵¹⁾.

Na análise por absorção atômica, a amostra é introduzida em um atomizador eletrotérmico. O tubo de grafite é um dos atomizadores mais utilizados, mas alguns equipamentos também utilizam outros tubos, como filamento de tântalo, tungstênio ou carbono ⁽⁵⁰⁾. O aquecimento do tubo é obtido através de uma resistência elétrica, programado para intervalos de tempo e temperatura, permitindo evaporar o solvente da amostra, carbonizar a matéria orgânica, atomizar os elementos a serem analisados e também limpar o tubo, ao final da análise ⁽⁵¹⁻⁵²⁾.

A técnica apresenta seletividade, requer pequenos volumes de amostras, de 10 a 100 μL , e possui limite de detecção (LD) para a maioria dos elementos no intervalo de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$. Apesar de oferecer LD muito baixo, sofre interferência de matriz, o que pode ser minimizado com o ajuste de temperatura e usos de padrões internos ⁽⁵²⁻⁵³⁾. Apesar da ETAAS ser muito sensível para alguns elementos, esta técnica não é a de primeira escolha, pois apresenta a desvantagem de não permitir análise simultânea de um número apreciável de elementos, necessitar de muitas etapas de análise, como

secagem, carbonização e atomização da amostra, tempo e temperatura específicos para cada elemento, o que aumenta o tempo e o custo da análise ⁽¹¹⁾.

3.4.3 Espectrometria de emissão atômica (ICP)

A espectrometria de emissão atômica vem ganhando espaço nos laboratórios de controle de qualidade para a análise quantitativa de elementos químicos antes dominada pelo método ETAAS. A USP vem sugerindo o uso desta tecnologia para esse fim ^(42,51).

O princípio básico da análise por ICP-OES norteia-se em identificar e quantificar os elementos químicos através da medição da emissão da radiação eletromagnética de átomos e íons gerada a partir da ionização do gás argônio formando um plasma livre da interferência de suas matrizes ⁽⁵⁴⁾.

Os átomos e íons no estado fundamental possuem baixa energia, porém quando se aplica uma energia, os elétrons se elevam a um estado de energia maior. Ao retornarem ao estado fundamental, eles emitem a diferença de energia na forma de fóton, produzindo um comprimento de onda, ou espectro de emissão, específico para cada elemento. A FIG. 5 representa o comportamento do elétron excitado ⁽⁵⁴⁾.

FIGURA 5 - Comportamento do elétron quando excitado. (A) No estado excitado, o elétron absorve uma determinada energia e eleva-se para nível mais energético. (B) Ao retornar para a órbita original, o elétron perde energia na forma de ondas eletromagnéticas ⁽⁵⁴⁾.

O ICP-OES é constituído por uma fonte de radiofrequência, bobina, ignitor, tocha e um sistema de introdução de amostra, como representado na FIG. 6 ⁽⁹⁾.

FIGURA 6 - Representação esquemática do ICP-OES ⁽⁵⁵⁾.

3.4.3.1 Plasma

A primeira etapa para o funcionamento do ICP consiste na purga do argônio. Uma corrente elétrica gerada pela fonte de radiofrequência (27 – 40 MHz) ligada a bobina induz um campo magnético na tocha. Essa bobina em espiral contém ouro ou prata que são bons condutores de frequência e evitam a formação de óxidos na presença de ar ⁽⁵⁶⁾.

O gás argônio é ionizado através de um ignitor, também conhecido como Tesla. Os elétrons provenientes da descarga elétrica gerada pela Tesla na região de entrada do argônio formam as primeiras ionizações do argônio. Esses elétrons são acelerados pelo campo magnético, aumentando a energia cinética. Essa energia é transferida para outros átomos através de colisões, produzindo mais íons e elétrons e assim sucessivamente formando o plasma. A formação do plasma de argônio é um processo de ionização em cadeia ⁽⁹⁾.

As principais vantagens do plasma indutivamente acoplado são: a elevada temperatura da tocha (até 10000 K) capaz de promover a transição eletrônica da maioria dos elementos químicos, baixo limite de detecção de elementos traço com alta sensibilidade, elevada densidade eletrônica (10^{14} a 10^{15} e⁻ cm⁻³), formação de elevada população de átomos livres, ausência de eletrodos, possibilidade de se fazer

determinações multielementares simultâneas em um curto tempo, comprimento de onda entre 120 – 900 nm, frequência 27,12 a 40 MHz, potência 1 - 2 KW e uso de gases não explosivos ^(1,9,37,56).

3.4.3.2 A Tocha

O plasma é formado em um compartimento denominado tocha, constituído de 3 tubos concêntricos de quartzo, por onde flui o gás argônio ^(9,56-57).

No tubo mais externo circula o gás de refrigeração. No tubo intermediário, o fluxo do gás circula tangencialmente o tubo externo e insere na tocha o gás auxiliar responsável pela transferência de energia do plasma para a amostra e por manter o plasma afastado do tubo injetor. Isso evita a precipitação de amostras decorrente da evaporação dos solventes e consequentemente o entupimento do tubo ⁽⁵⁸⁾. No terceiro tubo, também conhecido por tubo injetor, passa o gás de nebulização. Esse gás passa pelo nebulizador, onde forma o aerossol e arrasta a amostra até o plasma ⁽⁵⁸⁾. A vazão desse gás é determinante para a otimização do método. Quanto maior a vazão do gás de nebulização, maior é a velocidade com que as espécies químicas passam pelo gás e chegam no plasma ⁽⁵⁸⁾.

O esquema dos três tubos da tocha estão representados na FIG. 7 e a vazão do gás típica em cada tubo está descrita na TAB. 3.

FIGURA 7 - Esquema de tocha em ICP-OES. H – campo magnéticos induzido.
I – bobina de indução ⁽⁵⁵⁾.

TABELA 3 - Vazão do gás argônio na tocha ⁽⁹⁾.

Parâmetros de análise	Vazão (L min⁻¹)
Vazão do gás nebulizador	0,3 – 2,0
Vazão do gás refrigeração	10,0 – 20,0
Vazão do gás no tubo intermediário	0 – 2,0

A tocha pode apresentar duas configurações distintas. A vista radial (onde a zona de observação da tocha é vertical) é indicada quando as amostras possuem matrizes complexas. A vista axial (onde a zona de observação da tocha é horizontal), representado na FIG. 8, aumenta o caminho óptico permitindo o aumento da sensibilidade e obtenção de LD menores, sendo mais indicada para a determinação de elementos traços. Essa configuração tem a desvantagem de apresentar maiores interferências devido à existência de uma zona fria do plasma onde ocorre recombinação, sendo necessário maior cuidado com limpeza e manutenção da tocha ^(9,37,53).

FIGURA 8 - Tocha com vista axial

3.4.3.3 Introdução da amostra

Após a formação do plasma, segue-se a introdução da amostra, que pode ser gasosa, líquida ou sólida. Para a introdução de amostras sólidas é necessário o uso de um ultrassom para a formação do aerossol sólido/gás que é transportado até plasma ⁽⁹⁾.

Um resultado satisfatório de análise depende de muitos fatores, inclusive da formação do aerossol, da homogeneidade e distribuição das gotas, quantidade de amostra e solvente e condução até o plasma ⁽⁹⁾.

A forma mais utilizada para a introdução de amostras líquidas é por injeção em fluxo (AIF), por fluxo proveniente do Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) ou por bomba peristáltica simples, responsável pela sucção e descarte da amostra ⁽⁹⁾.

Após a introdução da amostra, esta caminha para o nebulizador onde ocorre a formação de aerossol gás/líquido. Os nebulizadores podem ser ultrassônicos, que utilizam a vibração de uma membrana para produzir o aerossol. Esses nebulizadores são utilizados para amostras com alta concentração de sal. Outra classe de nebulizador é o pneumático, constituído de dois tubos finos por onde circulam o argônio e a amostra líquida, FIG. 9. Uma região de vácuo é formada quando o gás passa da região mais estreita para a mais larga do tubo possibilitando a aspiração da amostra ⁽⁹⁾.

FIGURA 9 - Nebulizador Meinhard tipo K ⁽⁹⁾.

Um bom nebulizador deve garantir a qualidade do aerossol formado ⁽⁹⁾. As principais propriedades desejadas para o aerossol são: o tamanho e a distribuição das gotículas, as quantidades de amostra e solvente transferidos para o plasma e as flutuações do sistema de nebulização. O transporte contínuo do aerossol até o plasma pode sofrer interferência devido ao tipo de solução (por exemplo amostras voláteis ou com alta concentração de material orgânico), o entupimento do injetor e das mangueiras e variação no sistema de amostra ⁽⁹⁾.

Após a formação do aerossol, a câmara de nebulização garante o fluxo das menores gotículas do aerossol até o plasma, sendo as maiores condensadas e descartadas ^(53,58). A eficiência da câmara é mensurada através da capacidade de separação do aerossol, eficiência de transporte, facilidade de limpeza e estabilidade sob pressão e temperatura ⁽⁹⁾.

A amostra, introduzida líquida, irá passar por uma série de transformações físicas. O aerossol formado sofre dessolvatação removendo o solvente da amostra resultando em partículas microscópicas. Essas partículas passam por um processo de vaporização dando origem à forma gasosa, que será atomizada, originando átomos

aptos a absorver radiação de determinado comprimento de onda por excitação e/ou ionização ⁽⁵⁵⁾. Essas etapas estão representadas na FIG. 10.

FIGURA 10 - Representação das etapas que ocorrem com a amostra na tocha ⁽⁵⁵⁾.

3.4.3.4 Tipos de interferência

O método ICP-OES apresenta basicamente duas limitações conhecidas como interferência espectral e não espectral ^(9,59).

3.4.3.4.1 Interferência espectral

A presença de linhas atômicas e iônicas muito intensas no espectro do ICP é responsável por muitos erros analíticos. A interferência espectral é decorrente da presença de elementos que podem co-existir com o analito de interesse. Um ou mais elementos na matriz emitem radiação com comprimentos de ondas muito próximos e dessa forma uma linha pode se sobrepor parcial ou totalmente a outra ^(55,57,59).

Na FIG. 11 estão descritas algumas interferências espectrais que podem ocorrer.

FIGURA 11 - Exemplos de interferências espectrais em análise por ICP-OES. **A** – linhas coincidentes dos elementos Ti (228,618 nm) e do Co (228,616 nm). **B** – sobreposição parcial das linhas Al (220,467 nm) e do Pb (220,353 nm). **C** – interferência da radiação de fundo na linha emissão do Au causado pela linha do Al ⁽⁵⁵⁾.

A interferência espectral é mais acentuada quando um elemento em maior concentração na solução influencia uma linha sensível de outro elemento em menor concentração. A utilização de softwares, monocromador de alta resolução e múltiplas linhas para cada elemento pode aumentar a sensibilidade, precisão, exatidão e flexibilidade das análises, além de minimizar erros ^(37,56-57,60).

Interferência da radiação de fundo pode ser causada pela presença de linhas atômicas e iônicas muito intensas que são alargadas devido à alta concentração dos elementos presentes na amostra. A emissão de bandas moleculares do NO, OH e N₂ e

o Ar utilizado no plasma também contribuem para aparecimento da radiação de fundo principalmente nas linhas de emissão entre 175 a 474 nm⁽⁶¹⁾, FIG. 12.

FIGURA 12 - Espectro de emissão do plasma de Ar na faixa de 330 a 475 nm. As linhas horizontais indicam as faixas de comprimento onde as bandas de emissão moleculares do NO, OH e N_2^+ e linhas de emissão do Ar são mais frequentes⁽⁶¹⁾.

3.4.3.4.2 Interferência não espectral

O efeito de matriz ou interferência não espectral também pode causar imprecisão das determinações e requer desenvolvimento de testes específicos. Essas interferências podem estar associadas às mudanças nas propriedades físicas da amostra (viscosidade, densidade, tensão superficial) e também classificadas naquelas que ocorrem dentro do sistema de introdução da amostra, como as etapas de transporte da amostra, dessolvatação, vaporização, atomização, ionização, excitação, emissão e alteração energética no plasma causado por constituintes da matriz do analito^(9,57,62-64).

A formação de espécies indesejáveis, como íons e óxidos, podem causar oscilações no equilíbrio do plasma. A presença de elementos facilmente ionizáveis, compostos orgânicos e alta concentração de sólidos são alguns exemplos de compostos que podem afetar as condições de equilíbrio térmico do plasma e causar interferência na análise. Algumas estratégias podem ser utilizadas para contornar esse

efeito como por exemplo correção de matriz, uso de padrão interno, o método da adição de padrão, adição de surfactantes e diluição da amostra. A utilização de padrão interno pode ser substituída por outras técnicas mais simples como a diluição da amostra associada à limpeza frequente dos acessórios que fazem parte do caminho da amostra ao plasma ^(9,56).

3.4.3.4.2.1 Interferência não espectral causada por elementos facilmente ionizáveis

Em geral, as matrizes das amostras líquidas são compostas por ácidos inorgânicos, solventes orgânicos e elementos facilmente ionizáveis (EFI) ⁽⁶²⁾.

Os EFI são metais alcalinos e alcalinos terrosos que podem tanto aumentar como diminuir a intensidade de sinal dos demais elementos devido à mudança na transferência de energia entre a periferia e o centro do plasma ⁽⁶³⁻⁶⁶⁾. Esses EFI possuem baixo potencial de ionização, que é definido como a energia mínima necessária para retirar o último elétron da camada de valência. A TAB. 4 mostra os potenciais de ionização da série dos metais alcalinos e alcalinos terrosos ⁽⁵⁴⁾.

TABELA 4 - Potenciais de ionização dos metais alcalinos e alcalinos terrosos ⁽⁵⁴⁾.

Elemento		Primeiro potencial de ionização (Kj mol ⁻¹)	Segundo potencial de ionização (Kj mol ⁻¹)
Metais Alcalinos	Li	520,2	7298,1
	Na	495,8	4562
	K	418,8	3052
	Cs	375,7	2234,3
Metais Alcalinos Terrosos	Be	899	1757
	Mg	738	1450
	Ca	590	1145
	Sr	549	1064
	Ba	503	965

A presença de EFI aumenta a concentração de elétrons livres na região da tocha e desloca o equilíbrio do plasma acarretando o aumento do sinal de todos os analitos presentes na solução padrão multielementar ou na amostra ⁽⁶⁵⁾.

Para a análise de amostras ou uso de padrões com alta concentração de EFI pode-se usar um supressor de ionização. A adição de cézio oferece um excesso de

elétrons livres e contribui para o deslocamento do equilíbrio para forma atômica do elemento em estudo e com isso diminui a interferência ⁽⁶⁵⁾.

O efeitos dos EFI têm sido recentemente revisado. Os efeitos causados pelos elementos do grupo I, principalmente Na e K, podem ser minimizados e até eliminados utilizando potência elevada (condições robustas de operação do equipamento), enquanto que os do grupo II, Ca e Ba, são ligeiramente suavizados ⁽⁶⁶⁻⁶⁷⁾.

Ca e Ba possuem o segundo potencial de ionização menor que os elementos Na e K, e uma alta energia de atomização causando efeito de matriz mais intenso ^(59,66-67).

Estudos realizados por Velitchkova e colaboradores. demonstraram que a detecção dos elementos As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Ti, V e Zn são influenciados na presença de solução contendo Ca e Na ⁽⁶⁸⁻⁶⁹⁾. Além da potência elevada, a baixa vazão do gás de nebulização também faz parte da condição robusta de operação do ICP-OES ⁽⁵⁹⁾.

3.4.3.4.2.2 Interferência não espectral causado pelo estanho

O Sn pode ser encontrado na forma de compostos orgânicos e inorgânicos com estado de oxidação que varia de -4 a $+4$, sendo $+2$ e $+4$ os estados de valência mais estáveis ⁽⁷⁰⁾. A oxidação do Sn^{+2} para Sn^{+4} ocorre facilmente pelo oxigênio presente nas soluções aquosas e no ar ⁽⁷⁰⁻⁷¹⁾. Alguns métodos analíticos são empregados para a análise de Sn incluindo polarografia, ETAAS, CLAE, ICP-MS e ICP-OES ⁽⁷²⁻⁷³⁾.

A técnica de ICP-OES pode ser utilizada para análise de Sn, porém um pré-requisito, muitas vezes negligenciado, é que o analito presente na amostra e no padrão de calibração tenham o mesmo estado de oxidação, pois a forma química ou número de oxidação do analito pode influenciar a análise ⁽⁷⁴⁾.

O comportamento do sinal observado para os compostos de estanho pode ser explicado por 2 motivos:

1. Reações específicas que ocorrem na solução e alteram a matriz: o Sn apresenta tendência a hidrolisar em solução formando uma suspensão semicolidial. O grau de hidrólise depende do grau de oxidação do estanho $+2$ ou $+4$, da ordem de adição dos reagentes, do teor de ácido, pois dependendo do pH pode co-existir duas formas de Sn e apresentar caracteres anfotéricos e concentração do estanho na amostra ^(71,74).
2. Efeito no plasma: o cloreto estanoso (SnCl_2) possui ponto de ebulição de 114°C e devido à pressão de vapor, a geração de aerossol e o transporte da amostra

até o plasma podem ser alteradas e dessa forma aumenta a concentração do estanho no plasma, causando interferência ^(71,74).

3.4.4 - Espectrometria de massa acoplado ao plasma indutivo (ICP-MS)

Nesse método, igualmente ao ICP-OES (FIG.5), o plasma é produzido pelo gás argônio com alta frequência (30 MHz), em temperatura até 10000 K. A amostra é introduzida na forma de solução no plasma e sofre desolvatação, vaporização, atomização e ionização antes de entrar no analisador de massas ⁽⁹⁾.

ICP-MS também pode sofrer interferências físicas relacionadas com a natureza da amostra, como viscosidade e volatilidade. Essas características podem interferir na introdução e na ionização da amostra no plasma, causando a obstrução dos orifícios do atomizador pela deposição de sais e carbono nos canais de amostragem ⁽¹⁶⁾.

As interferências espectrais mais críticas que podem alterar as análises por ICP-MS estão relacionadas com elementos de massa atômica inferior a 82 u.m.a., como As, Fe e Zn. Estes elementos podem se sobrepor às leituras de outros elementos com a mesma massa nominal. Outras interferências espectrais são os íons de dupla carga. Esses íons aparecem no espectro com a metade da massa do íon desejado univalente, ocasionando interferências em massas semelhantes ⁽¹⁶⁾.

ICP-MS fornece LD extremamente baixo, na faixa de parte por bilhão (ppb) e parte por trilhão (ppt). Esses limites são de 100 a 1000 vezes menores que os limites alcançados com ICP-OES. As principais desvantagens do ICP-MS são: alto custo do equipamento, infraestrutura e alto custo operacional e necessidade de um analista especializado para interpretação dos dados ^(9,20).

A TAB. 5 mostra a comparação entre os LD das técnicas ICP-MS, ICP-OES, AAS e ET-AAS.

TABELA 5 - Comparação entre os LD ($\mu\text{g L}^{-1}$) para as técnicas de ICP-MS, ICP-OES, AAS (espectrometria com absorção atômica) e ET-AAS (espectrometria com absorção atômica em forno de grafite) ⁽⁷⁵⁾.

Elementos	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
	ICP-MS	ICP-OES	AAS	ET-AAS
As	0,05	20	500	1,0
Al	0,01	3	50	0,5
Cd	0,01	3	5	0,03
Co	0,005	10	10	0,5
Cr	0,005	10	10	0,15
Cu	0,01	5	5	0,5
Li	0,02	1	5	0,5
Mn	0,005	0,5	5	0,06
Ni	0,005	10	20	0,5
Pb	0,005	20	20	1,0
Se	0,1	50	1000	1,0
Tl	0,01	30	40	1,5
Zn	0,02	1,0	2	0,01

3.5 Toxicologia

Os elementos químicos são importantes para o metabolismo bioquímico do corpo humano, podendo estar na forma livre ou agregados em proteínas, lipídios e enzimas, desempenhando função de catálise transporte e armazenamento ⁽⁷⁶⁾.

Estima-se que 40% de todas as proteínas do organismo contenham íons metálicos em sua composição. Essa interação dos metais com as proteínas podem apresentar afinidades diferentes. As proteínas interagem fracamente com íons monovalentes como K^+ e Na^+ . Interações moderadas são esperadas com íons bivalentes Ca^{2+} e Mg^{2+} e interações fortes são observadas entre proteínas e íons de metais de transição como Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Mo^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} ⁽⁷⁶⁾.

Aproximadamente 25 elementos químicos são reconhecidos como essenciais à manutenção da vida. Os elementos encontrados em concentração muito baixas são denominados elementos traços, sendo Co, Cu, Cr, I, Mn, Mo, Ni, Se, Si, V e Zn ⁽⁷⁷⁾.

Em geral, o intervalo entre a dose recomendada e a tóxica desses elementos é estreita ⁽⁷⁷⁾. Uma alteração na concentração de metais pode resultar em uma série de

disfunções e patologias ^(53,76-77). Além do período de exposição do indivíduo, a toxicidade depende da concentração, da espécie e forma química do elemento ⁽⁷⁶⁻⁷⁷⁾.

Os níveis de Ingestão Diária Recomendada (IDR) de alguns elementos estão descritos na TAB. 6 ⁽⁷⁸⁾.

TABELA 6 - Ingestão diária recomendada para adultos ⁽⁷⁸⁾.

Elemento	IDR (mg/dia)
Ca	800
Cr	0,200
Cu	3
Fe	14
I	0,150
Mg	300
Mn	5
Mo	0,250
P	800
Se	0,070
Zn	15

Alguns elementos químicos podem causar intoxicações de forma aguda após uma exposição do corpo a estes compostos. Alguns metais se depositam em órgãos e tecidos humanos e desta forma vão se acumulando ao longo de anos, causando efeitos maléficos de forma crônica. Este fato justifica a importância de se conhecer as concentrações dos elementos químicos nas substâncias administradas aos pacientes ⁽²⁾.

O Al é conhecido como um elemento atóxico e não essencial. A concentração sanguínea de Al em um indivíduo de 70 Kg é aproximadamente de 1,4 mg L⁻¹. A intoxicação por esse elemento é prejudicial principalmente para o sistema nervoso central e pode provocar derrame, aneurisma, alteração de memória, retardo mental e sintomas similares à esquizofrenia e Alzheimer ⁽⁷⁶⁾. Evidências sugerem que a intoxicação por Al pode levar a osteopatia e encefalopatia em pacientes com problemas renais ⁽⁷⁹⁾.

O As é um elemento altamente tóxico com limite de exposição diária de 15 µg/dia. A ingestão acima de 70 mg pode ser letal. Seu mecanismo de ação está relacionado com a produção de peróxido de hidrogênio provocando um estresse oxidativo, danos no DNA e câncer ^(35,80).

O Ca é encontrado principalmente nos ossos, sendo importante também na condução nervosa, contração muscular, coagulação sanguínea, permeabilidade celular e ativação e modulação enzimática. A concentração sanguínea desse elemento varia entre 90 a 105 mg L⁻¹. Ca é um elemento essencial que pode causar efeitos adversos com ingestão diária acima de 2 gramas ⁽⁷⁷⁾.

O trato gastrointestinal é muito sensível a altas doses de B, Co e Mn podendo ocorrer alterações principalmente no fígado e vesícula biliar. A exposição crônica principalmente ao Mn pode levar a alterações neurais irreversíveis, com o aparecimento de sintomas extrapiramidais semelhantes à doença de Parkinson ^(79,81). Co é importante para a produção de células vermelhas e atua na prevenção da anemia perniciosa. As concentrações no sangue variam de 0,01 a 0,91 µg L⁻¹. Os principais efeitos colaterais pela excesso de Co pode provocar diarreia, vômito, aumento da pressão arterial, cardiomiopatias e pneumoconiose ⁽⁷⁷⁾.

O Cu é um importante constituinte de várias enzimas, como por exemplo a enzima superóxido dismutase, que age como antioxidante celular, e a proteína citocromo oxidase, envolvida na cadeia de transporte de elétrons. A concentração de referência de Cu no soro é 120 a 145 µg L⁻¹ e é importante para o desenvolvimento do tecido conjuntivo, nervos e ossos. A sua deficiência pode desencadear um processo de anemia e neutropenia. A toxicidade do Cu leva a efeitos no trato gastrointestinal, problemas renais e hepáticos, diminuição de vitamina A e consequentemente xeroftalmia e xerodermia ^(77,79).

O Fe é um importante co-fator de enzimas e pode ser encontrado na forma de hemoproteínas e citocromos que atuam no mecanismo oxidativo celular. O mineral possui uma função de destaque no ciclo de Krebs, fazendo parte das 24 enzimas deste ciclo como centro de atividade ou como co-fator essencial ⁽⁷⁹⁾. A suplementação dietética com Fe é muito comum no Brasil devido à carência deste elemento estar relacionada ao surgimento de anemia. Entretanto, o excesso de ferro pode ocasionar dores abdominais com diarreia e vômito de coloração castanha, palidez ou cianose, e diabetes decorrente de fibrose pancreática ⁽⁷⁶⁾.

A concentração de Na e K é importante para o controle da pressão osmótica. O Na e o K participam da bomba de Na/K ATPase responsável por manter o potencial elétrico celular. O K é importante no processo de liberação de insulina pelo pâncreas, na síntese proteica e no metabolismo de carboidratos, porém o aumento da concentração sanguínea do potássio acima de 5,5 mEq por litro de sangue acarreta um comprometimento do equilíbrio osmótico reduzindo o potencial de ação podendo levar a uma parada cardíaca ⁽⁸³⁾.

Alguns elementos podem alterar o metabolismo através da competição por ligantes com os grupos funcionais dos peptídios. Os elementos As, Cd, Cr, Hg e Pb ligam-se aos sítios ativos das proteínas antes ocupado por elementos essenciais como Cu, Zn e Se. Essa substituição pode alterar a síntese e distribuição de hormônios e a homeostase do organismo⁽⁸³⁾.

O surgimento de câncer de pulmão e seios nasais também está relacionado com a exposição prolongada ao Ni⁽⁸⁰⁾. A absorção dérmica é importante quando associada a problemas de pele como dermatite. No sangue, o Ni liga-se a resíduos de histidina da albumina e percorre todo o corpo. Efeitos maléficos nos pulmões pode ser explicado pelo acúmulo de macrófagos e material granular encontrado nos alvéolos⁽⁸²⁾.

O Pb é um elemento tóxico e exposição ocupacional é a principal fonte de contaminação. Depois de absorvido, esse metal se distribui de forma heterogênea pelo corpo, sendo os ossos o principal local de deposição. O Pb é capaz de interagir com aminoácido, resíduos de enxofre, grupamento H_3PO_3 e NH_2 , formando complexos que interferem nas funções hematopoiética, renal e do sistema nervoso. A exposição ocupacional diminui o desempenho dos trabalhadores por causar fraqueza nos dedos, pulsos e tornozelos. Em gestantes pode causar aborto. A exposição excessiva ao Pb é mais prejudicial às crianças. Uma concentração acima de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ no sangue leva a encefalopatia, diminuição do aprendizado e do desenvolvimento cognitivo. Além disso, este metal também causa alteração nefropática e anemia^(80,82,84).

Outro elemento tóxico é o Cd. Quando absorvido pelo organismo deposita-se principalmente no fígado e rins devido sua ligação com a proteína metalotioneína. Essa ligação diminui a velocidade de excreção pela urina favorecendo o acúmulo do elemento no organismo. O tempo de meia vida biológico do Cd é varia entre 6 a 38 anos. O Cd pode se ligar a grupos aniônicos de outras proteínas como albumina quando está circulando no plasma. Glicosúria, aminoaciduria, poliúria, redução do glicogênio hepático, aumento da glicemia, decréscimo de absorção de fosfato e enzimas são algumas das evidências clínicas da toxicidade renal e hepática causado pelo Cd. A capacidade respiratória é afetada por lesões e necroses dos macrófagos alveolares. Concentrações acima de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ pode causar hiperemia, hipertrofia da mucosa oral e nasal e pequenas ulcerações de septo. Uma concentração sanguínea de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$ pode provocar náusea, vômito, dor abdominal, doença pulmonar obstrutiva, enfisema, doenças renais crônica, alterações cardiovasculares e esqueléticas⁽⁸⁰⁾.

O elemento Se é utilizado como antioxidante, encontra-se associado à enzima glutathione peroxidase e é utilizado contra o envelhecimento precoce. A ingestão de selênio está associada a manutenção de níveis benéficos de colesterol e proteção

cardiovascular. Deficiência desse elemento pode levar a sintomas da doença de Keshan caracterizado pelo aparecimento súbito de insuficiência cardíaca, aumento do tamanho do coração além de distrofia muscular, disfunção cerebral e hepática e desordem nos órgãos reprodutores ⁽⁷⁹⁾. A intoxicação por este metal pode causar alterações do olfato, visão e paladar, além de nos casos mais graves, levar à morte por parada respiratória ^(81,85).

A intoxicação ocupacional pelo Te é rara e pode causar dores de cabeça, sonolência, náuseas, alteração da frequência cardíaca. Os compostos de Te tem a capacidade de atravessar as barreiras hematopoiética e placentária causando má formação fetal ⁽⁸⁶⁾.

Tl e Ti estão relacionados com o surgimento de problemas respiratórios e câncer, enquanto que o V acumula-se na placenta levando a má formação fetal e aborto ⁽⁸⁵⁾.

O Zn intervém no metabolismo dos ácidos nucleicos, do sistema imunológico, atua como co-fator para muitas enzimas e é importante no processo de divisão celular, crescimento, cicatrização, regulação do metabolismo, no sistema imunológico e na glicólise ⁽⁷⁷⁾. A deficiência de Zn leva à diminuição do sistema imunológico e susceptibilidade a infecções. Em doses elevadas pode causar febre, alteração hormonal por estimulação das gônadas e hiperglicemia ^(77,85).

3.6 Os passos do método analítico

A análise quantitativa tem como objetivo determinar a concentração do analito em uma amostra desconhecida, através da execução de experimentos e obtenção de dados confiáveis e precisos. Este processo pode sofrer influência de erros aleatórios e sistemáticos, que podem ocorrer em todas as etapas da análise, sendo importante, portanto, o registro de todos os passos, principalmente daqueles ditos como pontos críticos ⁽¹⁷⁾.

3.6.1 Amostragem e conservação da amostra

A amostragem consiste na retirada de uma porção do material que será analisado. Em geral, o processo de amostragem de matérias primas em indústria farmacêutica é realizado em um laboratório com sala limpa e fluxo laminar, por técnicos treinados para esta função ⁽¹⁷⁾. A amostra inicial deve ser homogênea de maneira que a

parte retirada seja representativa do todo e possua as mesmas características da amostra original ⁽¹⁾.

Para que a amostra não sofra alterações antes de ser analisada, ela deve ser conservada e estocada de forma a não alterar suas características originais ⁽¹⁾.

Quando se analisa elementos-traço, a adsorção pode influenciar no resultado final da análise. O frasco de armazenagem da amostra pode adsorver o analito da amostra e vice-versa. Alguns materiais como o vidro, polietileno e polipropileno são utilizados para a amostragem e estocagem de amostras. Algumas soluções contendo metais não são estáveis, podendo ocorrer hidrólise, precipitação ou oxidação. Nesses casos, introduz-se a amostra em solução diluída de HNO_3 ou HCl ^(1,17).

3.6.2 - Pretratamento e solubilização de amostra sólida

Nas análises quantitativas, o preparo da amostra depende do material a ser analisado e deve seguir as monografias ou procedimentos validados ⁽⁴²⁾. Esse passo, frequentemente, é o mais importante, trabalhoso e que consome maior tempo ⁽⁸⁸⁾.

A USP descreve 3 métodos para o preparo de amostra. O método I é usado para substâncias claras e incolores e o preparo da amostra é direto. O método II é indicado para amostras coloridas ou para substâncias que interferem na precipitação de metais. Neste caso, as amostras devem ser incineradas, carbonizadas, digeridas, e novamente incineradas antes de passarem para a forma líquida. O método III é um método de digestão úmida (amostras sólidas) utilizado apenas os casos em que os métodos I e II não podem ser utilizados ⁽⁸⁸⁻⁸⁹⁾.

O primeiro passo para o pré-tratamento da amostra é distinguir a sua natureza: solução aquosa, suspensão, solução orgânica, emulsão ou sólido orgânico ou inorgânico ⁽¹⁷⁾.

As amostras sólidas podem ser analisadas diretamente apenas com ETAAS. No ICP-OES, a amostra deve ser introduzida no equipamento na forma de solução. Em muitos casos, as amostras precisam ser previamente solubilizadas (digestão da amostra) ^(53,90-91).

A solubilização e acondicionamento das amostras podem serem feitas utilizando-se HNO_3 , HCl , HF , água régia, H_2SO_4 ou H_3PO_4 . Em amostras sólidas que necessitam de digestão, a amostra acrescida de ácido é aquecida em uma chapa ou manta de aquecimento, banho-maria, estufa ou bico de Bunsen, em um sistema aberto. Esse procedimento é simples, com baixo custo, porém sofre a interferência da evaporação do ácido. Um procedimento alternativo é a solubilização por microondas, o sistema é

fechado e o calor gerado pelo aquecimento se propaga de dentro para fora do recipiente aumentando a taxa de aquecimento, diminuindo o risco de contaminação e perda de elementos voláteis ^(11,53,91).

3.7 Desenvolvimento e validação de método analítico

A validação de um método analítico é definida como o estabelecimento de evidências experimentais documentadas que fornecem um alto grau de segurança de que um processo ou método produzirá consistente e sucessivamente um produto que atenderá as características e especificações de qualidade e possa ser implementado nos protocolos de controle de qualidade ⁽⁸⁾. O desenvolvimento de metodologia analítica envolve a avaliação e otimização de vários parâmetros, desde o preparo da amostra, separação, detecção e quantificação sendo que estes devem ser intensamente estudados e intrinsicamente relacionados com o analito de interesse ^(8,94).

No Brasil, três normas regem a validação nos laboratórios das indústrias farmacêuticas:

- RDC nº 899: Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos de 29 de maio de 2003;
- RDC nº 27: Requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós registro de medicamentos de 17 de maio de 2012, ambos da ANVISA e
- Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos DOQ-CGCRE-008 de fevereiro de 2010, do INMETRO ^(8,94-95).

As referências internacionais sobre validação de métodos analíticos são constituídos pelo guia harmonizado pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC Internacional), International Standards Organization (ISO) e International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

Trabalho publicado por Bernardes e Paiva faz uma análise comparativa entre essas referências, o guia da ANVISA e o documento do INMETRO ⁽⁹³⁾.

De acordo com o guia da AOAC Internacional, ISO e IUPAC, quando um laboratório utiliza um método já validado, ele deve ser capaz de atender as características de *performance* descritas no método, com estudo de linearidade, exatidão (com variação de matriz) e precisão. A orientação do INMETRO refere-se a necessidade de validação do método, quando esse for modificado ou desenvolvido para atender a necessidade específica. Entretanto, para a ANVISA, o método é considerado válido a partir do momento que está descrito em farmacopeias ou

documentos oficiais reconhecidos por ela. A interpretação dessa resolução pode levar a conclusão equivocada de que nenhum estudo de validação é necessário nesse caso (8,93).

Essa análise comparativa sugere a necessidade de reformulação do protocolo da ANVISA, visando a harmonização e adequação em relação aos conceitos, planejamentos experimentais e critérios de aceitabilidade preconizados internacionalmente (93).

Os parâmetros analíticos em comum em todos os documentos são: linearidade, faixa ou intervalo, sensibilidade, exatidão, precisão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez. Os parâmetros de aplicabilidade e adequação ao proposto de uso, variação de matriz e incerteza de medição não estão previstos no documento e guia do INMETRO e ANVISA. Assim como o efeito de matriz, que não é abordado na RE nº899.

3.8 Parâmetros analíticos

Os parâmetros analíticos, também chamados de parâmetros de desempenho analítico, usualmente estudados para validação de métodos são: especificidade e seletividade, robustez, precisão, exatidão, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação (8,94).

3.8.1 Especificidade e Seletividade

Para a ANVISA, a especificidade e seletividade são sinônimos, enquanto que para as referências internacionais o termo especificidade não é citado (8). A especificidade e seletividade de um método refere-se à capacidade do método em quantificar com exatidão o analito presente em uma matriz complexa, sem interferência de outros componentes da amostra tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz. Esse parâmetro pode ser determinado através do método de adição de padrão (8).

3.8.1.1 Técnica da adição de padrão ou efeito da matriz

A técnica de adição de padrão é descrita no guia AOAC Internacional, ISO e IUPAC junto com os parâmetros de calibração e linearidade. O documento do INMETRO cita essa técnica, enquanto a ANVISA não aborda o tema. Essa técnica é

muitas vezes utilizada quando a composição da amostra é desconhecida e interferências da matriz são esperadas. Nesta técnica, a amostra-teste é usada simulando a matriz ⁽¹⁾. Uma curva analítica é preparada com adição da substância de interesse na amostra e o resultado da intensidade é comparado com a intensidade da curva sem a presença da matriz. Caso as duas curvas analíticas sejam paralelas, pode-se dizer que não há interferência da matriz na determinação da substância de interesse, portanto o método é seletivo ^(1,8,94).

3.8.2 Robustez

A robustez de um método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos como temperatura, acidez do meio, acidez da amostra, volume de injeção da amostra, dentre outros ^(8,94).

A resolução da ANVISA considera a avaliação da robustez para o desenvolvimento do método. Entretanto, International Conference of Harmonization (ICH), EURACHEM não consideram esse parâmetro para a validação. Esse estudo é necessário quando os limites para os parâmetros experimentais não estiverem pré-estabelecidos ⁽⁹³⁾.

3.8.3 Precisão

Precisão é o termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, em condições experimentais definidas. Quanto mais próximos os valores experimentais obtidos estiverem entre si, maior será a precisão. A precisão do método analítico pode ser expressão através do desvio padrão relativo (DPR) ou pelo coeficiente de variação (CV%). O valor máximo aceitável < 5% ^(8,94).

$$DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:

DP: Desvio padrão

CMD: Concentração média determinada.

3.8.4 Exatidão

A exatidão do método é definida pela relação entre o valor encontrado pelo método e o valor aceito como verdadeiro ou de referência ^(8,94).

A exatidão do método deve ser determinada após o estabelecimento da linearidade, do intervalo linear e da especificidade do mesmo, a partir de, no mínimo, 9 determinações, na faixa de uso do método, sendo 3 determinações com adição do analito em concentração baixa, média e alta, em triplicata. O cálculo pode ser feito pela %recuperação da quantidade conhecida do analito adicionado à amostra ou como a diferença da porcentagem entre as médias e o valor verdadeiro aceito acrescido dos intervalos de confiança ^(8,94).

Os guias de validação da ANVISA e do INMETRO não apresentam critérios de aceitabilidade para %recuperação. A AOAC International prevê recuperação de 70% a 125% para concentrações de analitos de 1,0 µg/Kg. A European Commission (EC) especifica a média de recuperação de 50% a 120%, enquanto o capítulo 233 da USP traz os valores de 70 a 150% como critério de aceitação ^(8,42, 93-94).

$$\%recuperação: \frac{CME \times 100}{CT} \quad \text{Eq. 2}$$

Onde:

CME: Concentração média encontrada

CT: Concentração teórica

3.8.5 Linearidade

Linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica em demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo específico ⁽⁸⁾.

Para a análise desse parâmetro recomenda-se a obtenção de uma curva analítica, com no mínimo 5 concentrações diferentes, dentro de um intervalo específico sendo o eixo *x* as concentrações da amostra e o eixo *y* os valores das intensidades encontradas com a variação da concentração ⁽⁸⁾. A calibração inclui a preparação e medição de soluções de calibração. É estabelecida uma relação matemática,

normalmente, uma equação linear do tipo: $y = a + bx$, entre as concentrações da substância (x) nas soluções de calibração e a intensidade medida (y)^(1,8,94).

Os resultados da curva deverão ser tratados por métodos estatísticos para determinação da intersecção com o eixo y (a), coeficiente angular (b), coeficiente de correlação (r), soma residual dos quadrados mínimos da regressão linear (r^2) e desvio padrão relativo (DPR). O critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser = 0,99, o que corresponde a $r^2 = 0,995$ ^(8,94).

Para a calibração da análise ser válida, de acordo com as condições estabelecidas pelo analista, o r deve ser superior a 0,99 e o erro máximo entre as medidas das replicatas menor que 30%. Se as condições estabelecidas não forem alcançadas, a calibração não será válida e mensagens de erros, como limite de coeficiente de correlação excedido e erro máximo excedido, apareceram no final do relatório.

3.8.6 Limite de detecção (LD)

Representa a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental. No caso de métodos instrumentais, a estimativa LD pode ser feita com a relação de 3 vezes o desvio padrão do intercepto com o eixo y ^(8,94).

$$LD: \frac{(DPa \times 3)}{IC} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde:

DPa : Desvio padrão do intercepto com o eixo y .

IC : Inclinação da curva analítica ou b .

3.8.7 Limite de quantificação (LQ)

Limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. A estimativa LQ pode ser feita com a relação de 10 vezes

o desvio padrão do intercepto com o eixo **y**. Devem ser construídas, no mínimo, três curvas de calibração para obter o DPa ^(8,94).

$$LQ: \frac{(DPa \times 10)}{IC} \quad \text{Eq. 4}$$

Onde:

DPa: Desvio padrão do intercepto com o eixo **y**.

IC: Inclinação da curva analítica ou **b**.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Reagentes e solventes

O trabalho foi realizado nos laboratórios de controle de qualidade do Centro de Radiofarmácia (CR) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP).

Os reagentes listados abaixo são de grau analítico (P.A.), pureza $\geq 99,9\%$ e foram adquiridos da Merck.

- Solução padrão multielementar de 100 mg L^{-1} de Al, B, Ba, Be, Bi, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Ga, Li, Mg, Mn, Ni, Pb, K, Se, Na, Sr, Te, Tl e Zn diluídos em HNO_3 , pH 1,0
- Solução padrão de 1000 mg L^{-1} , preparado a partir de AgNO_3 , em HNO_3 2-3%, pH 0,5
- Solução padrão de 1000 mg L^{-1} , preparado a partir de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, em HNO_3 2-3%, pH 0,5
- Solução padrão de 1000 mg L^{-1} , preparado a partir de KNO_3 , em HNO_3 2-3%, pH 0,5
- Solução padrão de 1000 mg L^{-1} , preparado a partir de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ em H_2O , pH 4,0
- Solução padrão de 1000 mg L^{-1} , preparado a partir de NaNO_3 , em HNO_3 2-3%, pH 0,5
- Solução padrão de 1000 mg L^{-1} , preparado a partir de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, em HNO_3 2-3%
- Solução padrão de 1000 mg L^{-1} , preparado a partir de SnCl_4 , em HCl 7%
- Solução padrão de 1000 mg L^{-1} , preparado a partir de H_6TeO_6 , em HNO_3 2-3%, pH 0,5
- HNO_3 65%

Os radiofármacos FDG-Flúor-18, Iodo-131 SOLUÇÃO, o eluato do GERADOR IPEN-TEC, e os reagentes liofilizados ALBUMINA-TEC, DEX-70-TEC, DEX 500-TEC, DISIDA-TEC, DMSA-TEC, EC-TEC, DTPA-TEC, FITATO-TEC, GHA-TEC, MACRO-

TEC, MDP-TEC, MIBI-TEC, PIRO-TEC utilizados neste trabalho foram produzidos no CR, IPEN-CNEN/SP.

Toda a vidraria empregada foi deixada em banho de imersão em solução de HNO_3 20% por 24 horas, lavada com água purificada e seca em temperatura ambiente.

4.2 Preparo das amostras

FDG-Flúor-18, GERADOR IPEN-TEC, Iodo-131 SOLUÇÃO, amostras dos reagentes liofilizados ALBUMINA-TEC, DEX-70, DEX 500, DISIDA-TEC, DMSA-TEC, EC-TEC, DTPA-TEC, FITATO-TEC, GHA-TEC, MACRO-TEC, MDP-TEC, MIBI-TEC, PIRO-TEC dissolvidas com 1 mL de água purificada foram analisadas separadamente, sem diluição, para quantificar os elementos químicos em maior concentração. Foram utilizados dois frascos de cada reagente liofilizado para obter o volume mínimo de 2 mL necessários para as análises.

Alíquotas de 125 μL das amostras foram transferidas, individualmente, para balões volumétricos de 5 mL e o volume completado com água purificada para obter diluição de 1:40.

Foram analisados 3 lotes de cada um dos radiofármacos em triplicata.

4.3 Equipamentos

A água purificada, obtida do sistema Elix 10 da Millipore, utilizada no preparo das amostras e curva de calibração foi analisada em todos os experimentos para verificar a presença e a concentração dos elementos químicos.

O preparo das soluções para obtenção da curva analítica foi realizado em balões volumétricos de 50 mL utilizando-se micropipetas calibradas da marca Eppendorf.

Equipamento Vista MPX simultâneo ICP-OES (Agilent, Australia) equipado com tocha de vista axial, software versão 4.1.0, nebulizador Meinhard tipo K, câmara de nebulização concêntrica e detector de estado sólido. O software do ICP-OES faz a aquisição de dados, obtém as equações das retas para a faixa analítica considerada e calcula o r^2 . O programa Origin 7.0 foi utilizado para obtenção das equações das retas e r . O valor de r foi confirmado calculando-se a raiz quadrada do r^2 .

FIGURA 13 – Equipamento de ICP-OES.

4.4 Condições de operação do ICP-OES

4.4.1 Validação do método analítico por ICP-OES

A água purificada utilizada em todos os experimentos foi analisada no ICP-OES com a curva multielementar e as concentrações dos elementos encontrados foram subtraídos dos valores finais.

4.4.1.1 Otimização das condições de operação do equipamento ICP-OES

Os parâmetros do equipamento avaliados na robustez foram: potência e *sample uptake delay*, que define o tempo para a amostra atingir o plasma antes de uma medição ser realizada.

Os parâmetros *rinse time*, que determina o tempo de rinsagem do sistema de introdução de amostras, e *pump rate*, que define a velocidade da bomba peristáltica não foram modificados. O fabricante do equipamento recomenda o uso *pump rate* em 15 rpm para amostras inorgânicas e 5 rpm para amostras orgânicas. Para amostras com alta concentração de NaCl, a USP recomenda 60 segundos de *rinse time* entre as análises para minimizar interferências ⁽⁴²⁾.

Para avaliar a robustez do método foi calculada a razão entre a intensidade de emissão de Mg II em 285 nm e Mg I em 280 nm. As condições de operação do ICP-OES estão descritas na TAB 7.

TABELA 7 - Parâmetros do equipamento para avaliação da robustez (razão entre as linhas de emissão do Mg).

Parâmetro	Condições avaliadas
Potência (kW)	1,2 ; 1,3; 1,4; 1,5
<i>Sample Uptake</i> (s)	10; 20; 30

Foram preparadas três curvas de calibração em dias diferentes e cada uma das concentrações foi analisada em triplicata.

4.4.1.2 Limpeza e manutenção do equipamento

Foi realizada a limpeza nas partes de vidro removíveis do ICP-OES, a saber, tocha, nebulizador e câmara de nebulização.

A tocha foi imersa por 24 horas em água régia (HCl concentrado: HNO₃ concentrado, 3:1). Após esse tempo, a tocha, o nebulizador e a câmara de nebulização foram mantidos em solução Extran por 2 horas, transferidos para uma solução de HNO₃ 20% por 2 horas, foram feitos enxagues com água purificada e secos em temperatura ambiente.

Foi obtida uma curva analítica multielementar antes e após a limpeza das partes de vidro removíveis e manutenção pela empresa Agilent.

4.4.1.3 Seleção das linhas analíticas

Foram avaliadas 67 linhas de emissão recomendadas pela biblioteca do ICP-OES, referentes aos 27 elementos de interesse. As linhas de emissão avaliadas e faixa analítica estão representadas na TAB. 8. Os comprimentos de ondas escolhidos neste trabalho estão grifados.

TABELA 8 - Linhas de emissão (nm) e curvas analíticas estudadas para cada elemento.

Elemento	Linhas de emissão avaliadas (nm)	Curva analítica ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Ag	<u>328,068</u>	0,025 -1,0
Al	237,312; 237,335; 308,271; 309,152; <u>396,152</u>	0,025 -1,0; 0,5 -10 ^a
B	<u>249,678</u> ; 249,772	0,025 -1,0
Ba	<u>233,527</u> ; 455,403	0,025 -1,0
Be	<u>234,861</u>	0,025 -1,0
Bi	<u>223,061</u> ; 222,821	0,025 -1,0
Ca	<u>373,690</u> ; <u>422,673</u>	1,0 - 20,0 ^b
Cd	<u>226,502</u> ; 214,439; 228,802	0,025 -1,0
Co	<u>238,892</u> ; 230,786; 236,379; 237,863	0,025 -1,0
Cr	<u>267,716</u> ; 205,560; 276,653	0,025 -1,0
Cu	<u>327,395</u> ; 324,754	0,025 -1,0
Fe	<u>259,940</u> ; 238,204; 258,588	0,025 -1,0
Ga	<u>287,423</u> ; 294,363; 417,204	0,025 -1,0
K	<u>766,491</u>	1,0 - 20,0 ^b
Li	<u>610,365</u> ; 670,783; 460,289	0,025 -1,0
Mg	<u>280,270</u> ; <u>285,213</u> ; 279,553	0,025 -1,0
Mn	<u>293,931</u> ; 257,610; 344,199; 294,921	0,025 -1,0
Mo	<u>281,615</u> ; 202,032; 281,615; 284,824; 277,539	0,025 -1,0
Na	<u>568,821</u> , <u>588,995</u>	1,0 - 20,0 ^b ; 10,0 – 1000,0 ^c
Ni	<u>230,299</u> ; 231,604; 221,648; 222,486	0,025 -1,0
Pb	<u>220,353</u> ; 405,781	0,025 -1,0
Pd	<u>340,458</u> ; 342,122	0,025 -1,0
Se	<u>196,026</u>	0,025 -1,0
Sr	<u>460,733</u> ; 407,771; 421,552	0,025 -1,0
Sn	<u>189,927</u> ; 242,270; 242,950; 300,913; 317,503	0,1 – 0,3; 1,0 – 30,0; 20,0 – 300,0 ^d
Te	<u>214,282</u>	0,025 -1,0; 0,5 – 10 ^d
Tl	<u>377,572</u> ; 190,794; 351,923	0,025 -1,0
Zn	<u>213,857</u>	0,025 - 1,0; 0,025 - 2,0 ^e

^a Curva analítica para análise de Al em concentração 0,5 a 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, obtida separadamente.^b Adição de Ca, K e Na para aumentar a concentração da curva analítica na solução multielementar.^c Curva analítica para análise de Na em concentração superior a 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, não aplicável.^d Para Te e Sn foram obtidas curvas analíticas separadamente da curva multielementar.^e Curva analítica para análise de Zn em concentração superior a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, obtida separadamente.

Para a escolha da melhor linha de emissão para cada elemento levou-se em consideração a máxima intensidade emitida das equações de reta e os valores de **a**, **b** e **r**.

Para a análise do Al foram estudadas as linhas 237,312; 237,335; 308,271; 309,152 e 396,152 nm em duas faixas analíticas distintas: uma de 0,5 a 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e outra de 0,025 a 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

A escolha da melhor faixa analítica para a análise do Na foi determinada através da construção nas curvas analíticas de faixa 1 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e outra de 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com o uso das linhas 588,995 e 568,821 nm.

Para a análise do Ca e K foi construída uma curva analítica de 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e as linhas 422,673 e 373,690 nm para o Ca e 766,491 nm para o K foram utilizadas.

A linha 213,857 nm foi selecionada para a análise do Zn nas curvas analíticas nas faixas de 0,025 a 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,025 a 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

A determinação da concentração de Te em amostras de Iodo-131 SOLUÇÃO foi realizada com a linha 214,282 nm.

Foram avaliadas 5 linhas de emissão do Sn recomendadas pela biblioteca do software do ICP-OES e descritas na literatura: 189,927; 242,170; 242,950; 300,913 e 317,503 nm.

4.4.1.4 Limites de detecção e quantificação

Os cálculos de LD e LQ foram realizados teoricamente utilizando as Eq. 3 e 4 (pág 35 e 35).

As amostras de radiofármacos descritos no item 4.3.1, pág. 38, foram analisadas no ICP-OES utilizando a curva multielementar.

Os parâmetros de precisão e exatidão foram avaliados no ensaio de %recuperação para os elementos em maior concentração em FDG- Flúor-18, GERADOR IPEN-TEC e do MIBI - TEC: alíquotas de 125 μL de cada radiofármaco foram transferidas separadamente para balões volumétricos de 5 mL completando o volume com água purificada (diluição 1:40) para ser analisada utilizando a curva multielementar e o método proposto.

Foram realizadas três determinações para cada concentração. Os resultados de precisão e exatidão foram expressos como desvio padrão relativo (DPR) e %recuperação, respectivamente, conforme Eq. 1 e 2 (PÁG. 33 e 34).

4.4.1.5 Recuperação

Para a determinação da %recuperação, alíquotas de 125 μL dos radiofármacos adicionados de 15, 25 e 40 μL da solução multielementar de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram transferidos, separadamente, para balões volumétricos de 5 mL (diluição 1:40), de maneira a obter, individualmente, concentrações finais do padrão multielementar de 0,3; 0,5 e 0,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O cálculo da concentração foi realizado utilizando-se a curva analítica multielementar.

Todas as análises para a determinação da %recuperação foram realizadas em triplicata e com três lotes diferentes.

Para o Iodo-131 SOLUÇÃO, os parâmetros de precisão e exatidão, foram avaliados transferindo alíquotas de 125 μL de amostra para balões volumétrico de 5 mL e 15, 25 e 40 μL da solução Te de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram adicionados, de maneira a se obter concentrações finais de Te de 3; 5 e 8 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e diluição do radiofármaco (diluição 1:40). A precisão e a exatidão foram calculadas conforme as Eq. 1 e 2 (PÁG. 33 e 34). O cálculo da concentração foi obtido utilizando-se a curva analítica de Te.

Para a análise do Sn nas amostras dos reagentes liofilizados ALBUMINA-TEC, DEX 70-TEC, DEX 500-TEC, DISIDA-TEC, DMSA-TEC, EC-TEC, DTPA-TEC, FITATO-TEC, MACRO-TEC, MDP-TEC, MIBI-TEC, PIRO-TEC, foram obtidas três curvas analíticas para esse elemento, em faixas de concentrações diferentes: uma curva entre de 20 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$, outra entre 1 a 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,3 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a partir de Sn de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimização das condições de operação do equipamento ICP-OES

A robustez por definição da ANVISA faz parte dos requisitos para o desenvolvimento e validação de um método analítico. A otimização dos resultados analíticos em ICP-OES visa à diminuição da interferência espectral e não espectral através da alteração dos parâmetros operacionais do equipamento ^(8,59,88).

De acordo com Dennaud e colaboradores, o conceito de robustez deve propiciar a eficiência da transferência de energia do plasma às mudanças nas condições de atomização e de excitação decorrentes da composição química da amostra.

A análise das linhas espectrais do Mg tem sido empregada como um indicador de robustez do método por apresentarem características como: espectros estreitos, mesma magnitude das intensidades das linhas, com energia de excitação da linha atômica e iônica de 4,65 eV e 4,42 eV, respectivamente, e valores de probabilidade de transição serem conhecidos com bastante precisão. Por essas características, a razão da linha iônica Mg II 280,270 nm e atômica do Mg I 285,213 nm permite avaliar a eficiência da atomização, excitação e ionização do plasma, mas não elimina interferências provocadas por diferença de viscosidade, tensão superficial e pressão de vapor entre a amostra e solução de calibração ⁽⁹⁷⁾.

No caso do plasma axial, o valor obtido da razão entre as duas linhas deve ser multiplicado por um fator de correção (ϵ) de 1,3. Esse fator é calculado a partir da razão dos valores de sinal de fundo (S_x) das linhas 285,213 e 285,270 nm do Mg. O valor da razão entre a intensidade de emissão Mg II 280nm / Mg I 285nm para ICP com vista axial superior a 8 sugere robustez e baixa sensibilidade aos efeitos de matriz, enquanto que um valor abaixo de 4 corresponde a uma alta sensibilidade aos efeitos de matriz ^(57,96-97). Em geral, a razão Mg II / Mg I para ICP com vista axial é 30% menor do que para a vista radial ⁽⁹⁷⁾.

As razões do Mg II 280,270 nm / Mg I 285,213 nm obtidas e os respectivos parâmetros avaliados estão descritos na TAB. 9.

TABELA 9 - Robustez do método a partir da relação do Mg II 285nm / Mg I 280nm, a partir da solução multielementar contendo Mg

Parâmetro	Condição de análise na obtenção da curva analítica multielementar					
	A	B	C*	D	E	F
Potência (kW)	1,2	1,2	1,2	1,3	1,4	1,5
<i>Sample Uptake</i> (s)	30	20	10	10	10	10
Consumo de amostra (mL)	2,9	2,2	1,6	1,6	1,6	1,6
Mg II / Mg I	9,42	9,47	9,40	10,01	10,37	10,8

* Condição selecionada

Na FIG. 14 está representado o efeito da potência de operação do ICP-OES na robustez do método.

FIGURA 14 – Efeito da potência de operação no ICP-OES na razão das intensidades das linhas Mg II / Mg I.

O aumento da potência do equipamento foi importante para o aumento da razão entre as linhas do magnésio. O maior valor para Mg II/ Mg I foi alcançado com a potência de 1,5 kW, com aumento de 15,95% em relação a potência de 1,2 kW.

Estudos de Romero, Dennaud e colaboradores indicaram que a elevação da potência de operação do ICP-OES aumenta a robustez. Entretanto, uma potência de

1,2 kW associada com outros parâmetros, como fluxo de gás e de introdução da amostra também podem alcançar a robustez desejada ^(68,97).

O aumento na robustez do método não é resolvido apenas com a alteração nas condições de operação do equipamento quando está associado a problemas de efeito de matriz. A utilização de potência > 1,3 kW envolve um maior desgaste dos componentes do equipamento e só é indicado quando há mudança de composição química da solução em análise, como por exemplo volatilização da amostra, necessidade de pré-tratamento e o uso de solventes orgânicos. Não há uma condição de análise padrão a ser seguida na definição do método, deve-se levar em consideração as necessidades de trabalho ⁽⁹⁶⁾.

Os radiofármacos foram diluídos em solução aquosa e não foi necessário do uso de potência elevada. Dessa forma a potência de 1,2 kW foi selecionada.

Outra condição estudada foi o efeito da variação do *sample uptake* de 30, 20 e 10s.

A alteração de 30 para 10s permitiu uma redução de 44,82% no consumo de amostra, sendo necessários 1,6 mL. Essa alteração não provocou alteração na razão entre as linhas de Mg.

A economia no consumo de amostra decorrente da alteração do *sample uptake* é crucial para as análises dos radiofármacos devido ao volume reduzido de amostras que são encaminhadas ao controle de qualidade. Um volume de amostra maior de radiofármacos pode causar um aumento de exposição de dose ao analista, o que deve ser considerado no desenvolvimento do método de análise.

Krachler e colaboradores estudando robustez do método analítico, verificaram que, embora o sistema de introdução da amostra auxilie no aumento da sensibilidade de todas as linhas de emissão, o parâmetro *sample uptake* é essencial para se obter uma ótima sensibilidade e estabilidade das análises ⁽⁹⁸⁾.

5.2 Parâmetro de validação

5.2.1 Condições de operação ICP-OES

Após os estudos de robustez descritos no item anterior, as condições de operação do ICP-OES utilizados neste trabalho para as análises dos 27 elementos em FDG-Flúor-18, GERADOR IPEN-TEC, DTPA-TEC, EC-TEC, FITATO-TEC, MIBI-TEC, MDP-TEC E PIRO-TEC estão descritos na TAB. 10.

TABELA 10 - Condições de operação do ICP-OES

Parâmetro		Condição	
Potência (kW)		1,2	
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)		15,0	
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)		1,5	
Vazão do gás do nebulizador (L min ⁻¹)		0,75	
Tempo de leitura replicata (s)		5	
Tempo de espera de estabilização (s)		15	
<i>Sample Uptake</i> (s)		10	
Consumo de amostra (mL)		1,6	
Mg II / Mg I		9,40	
Linhas de emissão (nm)	Ag (I) 328,068	Al (I) 396,152	B (I) 249,678
	Ba (II) 233,527	Be (I) 234,861	Bi (I) 223,061
	Ca (II) 373,690	Ca (I) 422,673	Cd (II) 226,502
	Co (II) 238,892	Cr (II) 267,716	Cu (I) 327,395
	Fe (II) 259,940	Ga (I) 287,423	K (I) 766,491
	Li (I) 610,365	Mg (II) 280,270	Mg (I) 285,213
	Mn (II) 293,931	Mo (II) 281,615	Na (I) 568,821
	Na (I) 588,995	Ni (II) 230,299	Pb (II) 220,353
	Pd (I) 340,458	Se (I) 196,026	Sr (I) 460,733
	Te (I) 214,282	Tl (I) 377,572	Zn (I) 213,857

(I) Linhas atômicas, (II) Linhas iônicas

5.2.2 Influência da limpeza e manutenção do equipamento

A introdução da amostra é um passo importante para otimização das condições de operação do ICP. A presença de compostos orgânicos, como por exemplo óleos, ácidos graxos e matéria orgânica proveniente do crescimento microbiológico, ou elementos contaminantes residuais, pode diminuir a eficiência da nebulização da amostra e consequentemente diminuir a quantidade de material que atinge o plasma e a intensidade de emissão do sinal do analito, causar interferência não espectral indesejável principalmente na região mais fina do plasma onde normalmente a excitação é menor e o processo de recombinação é favorecido, e até apagar o plasma^(99,100). Por esse motivo foi estudado a interferência da limpeza na obtenção da curva analítica de cada elemento. A lavagem das partes de vidro removíveis do ICP-OES (tocha, nebulizador e câmara de nebulização) com água-régia (HCl:HNO₃) e solução de Extran visou a retirada de interferentes.

Com os parâmetros da TAB. 10, a influência da limpeza das partes de vidro removíveis do ICP-OES foi realizada comparando-se as equações das retas de cada

elemento antes e após o procedimento de limpeza. Os coeficientes **a**, **b** e **r** estão relacionados na TAB. 11.

TABELA 11 - Comparação das equações das retas antes e após a limpeza.

Elemento	Antes Manutenção			Após Manutenção		
	a	b	r	a	b	r
Ag	54,9	10805,3	0,99998	122,6	25794,4	0,99995
Al	91,3	8036,8	0,99997	213,1	18771,4	0,99994
B	2043,3	499,4	0,99788	892,0	9371,3	0,99991
Ba	41,1	17182,4	0,99999	1071,4	32429,4	0,99357
Be	16,6	32526,9	0,99999	883,8	62977,9	0,99981
Bi	8,6	486,4	0,99986	28,2	1203,8	0,99949
Ca	124,1	1637,1	0,99926	283,8	3987,2	0,99910
Cd	9,7	10127,7	0,99999	73,3	24799,4	0,99999
Co	9,3	3193,8	0,99999	31,7	8152,5	0,99999
Cr	42,3	12558,6	0,99999	135,0	30329,9	0,99999
Cu	54,1	8547,6	0,99999	86,0	20697,4	0,99997
Fe	39,3	6028,9	0,99998	152,4	15160,6	0,99997
Ga	29,1	850,4	0,99999	38,7	2074,5	0,99999
K	221,5	11857,1	0,99994	379,3	24038,1	0,99989
Li	-296,7	17781,3	0,99974	-314,7	38804,5	0,99996
Mg	45,9	8494,7	0,99999	133,0	20716,5	0,99997
Mn	65,1	13885,8	0,99999	143,9	32860,3	0,99996
Mo	1,2	4304,0	0,99992	-4,1	10499,6	0,99929
Na	3544,7	90477,5	0,99878	12531	218796,0	0,99885
Ni	12,6	1789,2	0,99999	32,2	4468,9	0,99996
Pb	9,7	462,2	0,99994	16,0	1076,6	0,99997
Pd	39,4	2849,7	0,99998	64,9	6959,0	0,99997
Se	6,2	74,1	0,99931	8,7	203,3	0,99887
Sr	90,0	24445,0	0,99999	1075,7	42213,9	0,99603
Te	7,4	151,7	0,99987	10,8	396,4	0,99994
Tl	82,0	688,6	0,99974	78,6	1680,2	0,99984
Zn	19,3	4776,8	0,99999	70,6	12245,5	0,99999

Após a limpeza e manutenção do equipamento houve um aumento das intensidades de emissão e não foi observado interferências não espectral entre os elementos, pois todos tiveram $r > 0,99$. Dessa forma não foi necessário o uso padrão interno para minimizar possíveis interferência não espectral. Outra estratégia importante para não precisar usar padrão interno é o uso de diluição durante o preparo das amostras.

Para a concentração de $0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$, foi observada um aumento de 1,4; 1,6 e 1,6 vezes na intensidade de emissão dos elementos Al, Fe e Zn. Esses resultados indicam que a manutenção e a limpeza são requisitos indispensáveis para a melhor quantificação dos elementos. Observou-se que r foi superior a 0,99 e que está de acordo com o critério de aceitação da ANVISA ⁽⁸⁾.

5.2.3 Linearidade

5.2.3.1 Seleção das curvas analíticas

A análise de mais de uma linha para cada elemento pode aumentar a sensibilidade, precisão e exatidão e minimizar erros causados por interferência espectral, aumentando a capacidade analítica do ICP-OES ^(60,101). As melhores linhas foram escolhidas de acordo com a intensidade, ausência de interferência, equação da reta, r , e concentração do analito.

Alguns elementos de interesse, como por exemplo para Al, Na, Ca, K e Sn, foram estudadas mais de uma linha de emissão TAB. 7, PÁG. 39. Essas linhas foram selecionadas consultando a literatura e a biblioteca do software do ICP-OES.

A faixa analítica selecionada para os elementos Ag, Al, B, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Se, Sr, Te, Tl, Zn foi de $0,025$ a $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, de $1,0$ a $20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Ca, K e Na.

5.2.3.1.1 Análise de Alumínio

A linearidade da curva analítica do Al foi estudada em duas faixas de concentração diferentes, pois o alumínio pode ocorrer em radiofármacos em níveis abaixo de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ e também em concentrações de até $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, em algumas amostras. Para a curva de calibração $0,5$ a $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ foram analisadas 5 linhas de emissão 237,312; 237,335; 308,215; 309,271 e 396,152 nm. Na FIG. 15 estão representados os espectros de cada uma das linhas de emissão.

FIGURA 15 - Espectros de emissão de $[Al] = 0,5 \mu g mL^{-1}$. Comprimentos de onda de emissão: 237,312; 237,335; 308,215; 309,271 e 396,152 nm.

As linhas de emissão em 237,335, 308,215 e 309,271 nm apresentaram um alargamento da base e dois picos, indicando interferência de outras linhas de emissão. A linha 396,152 nm apresentou apenas um pico e menor interferência de fundo entre as linhas analisadas, além de apresentar a maior intensidade de emissão. A interferência de fundo ou ruído é todo sinal gerado a partir de variações eletrônicas da instrumentação e que não corresponde um sinal analítico, alterando a precisão e exatidão da análise⁽¹⁰⁰⁾. Os parâmetros das equações das retas das curvas analíticas na faixa de concentração de 0,5 a 10,0 $\mu g mL^{-1}$ (**a**, **b** e **r**) estão descritos na TAB. 12.

TABELA 12 – Parâmetros das equações de reta das linhas de emissão de Al na faixa de concentração 0,5 a 10,0 $\mu g mL^{-1}$.

Linha de emissão (nm)	a	b	r
237,312	1522,21	204,249	0,99972
237,335	198,347	27,93	0,99995
308,215	2993,629	569,771	0,99994
309,271	2347,084	1106,988	0,99943
396,152	13166,763	8075,974	0,99460

N=3

Na faixa analítica estudada, a linha de emissão em 396,152 nm foi a mais intensa, com $r > 0,99$. Entretanto, a representação gráfica das curvas analíticas utilizando diferentes linhas de emissão mostrou uma curvatura na linha 396,152 nm próximo à concentração de $2 \mu\text{g mL}^{-1}$, sugerindo a existência de duas curvas analíticas na faixa estudada, como ilustrado na FIG. 16

FIGURA 16 – Curva analítica de Al para diferentes linhas de emissão. $[\text{Al}] = 0,5; 1,0; 2,0; 5,0$ e $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. (A) 237,312 nm; (B) 237,335 nm; (C) 308,271 nm; (D) 309,271; (E) 396,152 nm.

O Al interfere na determinação de muitos elementos químicos como B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Si e Zn. Concentrações acima de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Al acarreta uma diminuição de 13% na intensidade do sinal do Zn em diversas linhas espectrais, além de aumentar a intensidade da radiação de fundo. O efeito de matriz torna-se gradativamente significativo com o aumento da concentração do Al ⁽¹⁰²⁻¹⁰³⁾.

Dessa forma, foi construída uma curva analítica na faixa de $0,025$ a $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, a mesma dos demais elementos de interesse, para que haja uma diminuição da interferência química com outras espécies presentes. FIG. 16.

FIGURA 17 - Curva analítica para a faixa de concentração de Al de 0,025 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, de comprimento de onda de emissão 396,152 nm, $y=18141,0 + 129,9x$, $r = 0,99998$

A linha de emissão do Al em 396,152 nm é frequentemente citada na literatura por apresentar maior intensidade ^(60,104-106). Entretanto, essa linha pode sofrer interferência da linha em 396,847 nm do elemento Ca. Como as amostras analisadas possuem baixa concentração de Ca, não foi observada interferência durante as análises. Em trabalhos realizados por Shiavo *et al.* (2009), foram analisadas múltiplas linhas para a determinação de elementos químicos em água e a linha em 396,152 nm do Al foi escolhida por ter coeficiente de correlação próximo a 1 e boa precisão.

No GERADOR IPEN-TEC, em uma coluna com óxido de alumínio (Al_2O_3), é depositado $^{99}\text{MoO}_4^{-2}$ ⁽¹⁶⁾. Durante a eluição do $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ do gerador com solução salina estéril, íons Al pode desprender-se da coluna e apresentar-se como impureza no eluato. A concentração máxima permitida pela USP é de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e pela Farmacopeia Europeia é 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ⁽¹⁰⁷⁾.

Atualmente, as análises de Al em amostras de GERADOR IPEN-TEC realizadas pelo laboratório de controle de qualidade da DIRF-IPEN são realizadas através da técnica de espectrofotometria na região do UV-Visível, utilizando o agente complexante ericromocianina. Foi realizada uma comparação entre a análise de Al pela técnica de espectrofotometria e ICP-OES. Os resultados estão relacionados na TAB. 13.

TABELA 13 - Comparação entre o teor de Al obtido por diferentes técnicas

Amostra	[Al] ($\mu\text{g mL}^{-1}$) UV-Visível	[Al] $\pm$ DP ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ICP-OES	Desvio [Al] espectrofotômetro e ICP-OES (%)
1	1,82	1,784 $\pm$ 0,082	- 1,97
2	2,24	2,076 $\pm$ 0,107	- 7,3
3	1,470	1,603 $\pm$ 0,045	9,0
4	1,910	1,874 $\pm$ 0,033	-1,9
5	1,470	1,544 $\pm$ 0,071	5,5
6	1,122	1,201 $\pm$ 0,111	7,0
7	0,974	1,111 $\pm$ 0,098	14,0
8	0,983	1,112 $\pm$ 0,074	13,0
9	1,357	1,349 $\pm$ 0,101	- 0,6
10	1,792	1,826 $\pm$ 0,123	2,0

* Valor utilizado como referência

As análises por ICP-OES foram realizadas em triplicata

$\pm$ desvio padrão entre as triplicatas

O desvio entre os resultados de concentração de Al^{3+} obtido pelo UV-Visível e ICP-OES variaram entre – 0,6 a 14 %. O limite estabelecido em um documento da AOAC Internacional para recuperação para concentrações de até $10 \mu\text{g g}^{-1}$ é de 80 a 115% ⁽⁹³⁾. A utilização da técnica ICP-OES apresentou a vantagem da rapidez de análise e menos passos envolvidos no preparo da amostra.

5.2.3.1.2 Análise de Sódio

A análise de metais alcalinos (K e Na) e alcalinos terrosos (Ca) é geralmente feita por fotometria de chama e por ICP-OES de maneira puramente qualitativa ⁽¹⁰⁵⁾.

A alta concentração de sal de metais alcalinos e alcalinos terrosos na amostra pode provocar interferência não espectral e a supressão da intensidade do sinal analítico dos demais elementos ⁽⁶⁵⁾. As concentrações, principalmente, de Na e K são elevadas nos radiofármacos, pois a solução de NaCl 0,9% é utilizado para a obtenção do eluído do gerador e ressuspensão dos reagentes liofilizados na marcação com o eluato de $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$.

As principais linhas de emissão do Na são 568,821 e 588,995 nm.

Uma solução salina de NaCl 0,9% apresenta uma concentração de Na de $5460 \mu\text{g mL}^{-1}$. Soluções altamente concentradas de Na, com alto teor de soluto dissolvidos,

comprometem a estabilidade do plasma e podem causar sua extinção. Os sólidos dissolvidos podem provocar desgaste da tocha por abrasão, acarretando uma diminuição da vida útil dos componentes do equipamento, necessidade de substituição precoce da tocha, interrupção das análises para limpeza do equipamento e consequentemente aumento do custo de manutenção ⁽¹⁰⁸⁾.

Krejcová e colaboradores analisaram amostras com alta concentração de sal com uma curva analítica de Na com faixa de concentração de 5 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e outra multielementar com K, Ca, Mg e P.

Uma curva analítica entre 10 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foi obtida com as duas linhas de emissão citadas anteriormente e representadas na FIG. 18.

FIGURA 18 - Curva analítica de Na na faixa de concentração 10 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A) linha de emissão 588,995 nm, $y = 15453,164x + 72421$, $r = 0,57000$. B) linha de emissão 568,821 nm $y = 195,9659x + 4058,205$, $r = 0,99745$

Na curva analítica (A), observou-se uma curvatura próximo à concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, resultando em $r = 0,57$, o que não é aceito pelo critério da ANVISA ⁽⁸⁾. A curva analítica (B), obtida com a intensidade de emissão em 568,821 nm apresentou $r > 0,99$. Nas duas curvas observou-se uma linearidade na faixa de concentração entre 10 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Como a alta concentração de EFI acarreta interferência não espectral, optou-se por construir uma curva analítica na faixa concentração de 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, para os dois comprimentos de onda, como descrito na FIG.19. Essa faixa analítica também foi utilizada para EFI K e Ca.

FIGURA 19 - Curva analítica de Na na faixa de concentração 1 a 20 µg mL⁻¹. A) comprimento de onda 588,995 nm, $y = 208565,6x - 317,7$, $r = 0,99999$. B) comprimento de onda 568,821 nm, $y = 104,85x - 44,010$, $r = 0,99921$.

Os espectros de emissão para Na na concentração de 1,0 µg mL⁻¹ estão representados na FIG. 20.

FIGURA 20 - Espectros de emissão de [Na] = 1,0 µg mL⁻¹ nos comprimentos de onda 568,821 e 588,995 nm

A emissão de Na em 588,995 nm apresentou um pico de intensidade elevada e bem definido, enquanto a emissão em 568,861 nm foi 100 vezes menos intensa e com interferência de fundo de outros elementos que tenham linhas de emissão próximas, como por exemplo Pr 568,718 nm, Ta em 568,824 nm e Mo em 568,915. Devido a

esses aspectos, a linha de emissão 588,995 nm foi selecionada para a análise de Na.

Krachler e colaboradores também selecionaram a linha de emissão 588,995 nm para a análise de Na em amostras de alimentos industrialmente processados devido às características analíticas apresentadas anteriormente ^(65,98).

Para verificar a equação da curva analítica na faixa de 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com a linha 588,995, foram preparados três padrões individuais de Na nas concentrações de 5, 10 e 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e analisados. Os resultados de recuperação obtidos foram 4,2; 9,2 e 13,6 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

5.2.3.1.3 Análise de Potássio

A análise de K é realizada principalmente em amostras de solo para avaliar a fertilidade do terreno. A linha de emissão mais utilizada para a análise de K é 766,491 nm. Essa linha tem uma intensidade de emissão 20% maior que as demais ^(65,98,105). Nas FIG. 21 e 22 estão representados a curva analítica e o espectro de emissão, respectivamente.

FIGURA 21 - Curva analítica de K na faixa de concentração de 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimento de onda 766,491 nm, $y = 25479,3x - 5558,1$, $r = 0,99987$.

FIGURA 22 - Espectros de emissão de $[K] = 1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ no comprimentos de onda de 766,491 nm.

A curva de calibração, utilizando-se o comprimento de onda de 766,491 nm apresentou linearidade, com $r > 0,99$. No espectro de emissão não foi identificada interferência espectral, fato que coincide com a literatura consultada ^(65, 98).

5.2.3.1.4 Análise de Cálcio

Muitos laboratórios realizam a determinação de Ca em amostra de solo utilizando titulação com EDTA na presença do indicador metalo-crômico e solução de KCl. Na indústria de alimentos fortificados e em medicamentos para o tratamento de osteoporose, a determinação de Ca por procedimentos convencionais como termogravimetria, análise térmica diferencial, colorimetria exploratória diferencial torna a análise mais demorada, havendo a necessidade de extração do elemento da matriz. As determinações destes elemento também podem ser feita pela técnica multielementar ICP-OES, com as vantagens inerentes desta técnica ⁽¹⁰⁹⁻¹¹⁰⁾.

Para a seleção da melhor linha de análise de Ca foram estudadas as linhas de emissão 422,673 e 373,690 nm, na faixa analítica de 1,0 a 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os gráficos com as equações das retas obtidos para a faixa analítica estudada estão descritos na FIG. 23.

FIGURA 23 - Curva analítica de Ca na faixa de concentração de 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A) comprimento de onda 422,673 nm, $y = 45816,6x + 22169,8$, $r = 0,99932$. B) comprimento de onda 373,690 nm, $y = 1280,318x + 405,322$, $r = 0,99912$

As curvas analíticas obtidas para as emissões nos 2 comprimentos de onda mostraram linearidade com $r > 0,99$. Os espectros de emissão apresentam a mesma largura, porém a intensidade de emissão 422,673 nm foi 10 x mais intensa que a obtida em 373,690 nm e por isso foi selecionada. Os espectros de emissão estão representado na FIG. 24.

FIGURA 24 - Espectros de emissão de $[Ca] = 1,0 \mu g mL^{-1}$. Nos comprimentos de onda de emissão: 373,690 e 422,673 nm.

5.2.3.1.5 Análise de Zinco

Para a análise de Zn na faixa analítica entre 0,025 a $1,0 \mu g mL^{-1}$ foi selecionada a linha de emissão 213,857 nm. A curva analítica obtida está descrita na FIG. 25.

FIGURA 25 - Curva analítica de Zn na faixa de concentração 0,025 a 1,0 µg mL⁻¹, comprimento de onda 213,857 nm, $y = 12236,1x + 43,7$, $r = 0,99989$.

O comprimento de onda 231,857 nm foi linear na faixa analítica de concentração de 0,025 a 1,0 µg mL⁻¹, com $r > 0,99$. O espectro de emissão mostrado na FIG. 26 exibiu um único pico bem definido e sem interferência espectral.

FIGURA 26 - Espectro de emissão de $[Zn] = 0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ no comprimento de onda 213,857 nm.

Uma outra curva analítica de concentração de 0,025 a 2,0 µg mL⁻¹ foi estudada para aumentar a faixa de quantificação do Zn. A curva analítica está representada na FIG. 27.

FIGURA 27 - Curva analítica de Zn na faixa de concentração 0,025 a 2,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimento de onda 213,857 nm, $y = 13130,826x + 198,819$, $r = 0,99927$.

Essa curva analítica também mostrou ser linear, com $r > 0,99$. Esta faixa não foi selecionada porque o aumento da concentração de Zn levou ao efeito interferente ao Al, fato já citado no trabalho, e não foi observado alteração significativa nos parâmetros analíticos das duas curvas.

5.2.3.1.6 Análise de Telúrio

O radiofármaco de Iodo-131 SOLUÇÃO é obtido do óxido de telúrio e nesse caso a concentração de telúrio mensurada é considerada uma impureza química.

Para a análise de Te foi construída uma curva analítica na faixa de concentração de 0,5 a 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com a linha de emissão 214,282 nm. O gráfico com os parâmetros da curva analítica estão descritos na FIG. 28.

FIGURA 28 - Curva analítica de Te na faixa de concentração 0,5 a 10,0 µg mL⁻¹, comprimento de onda 214,282 nm, $y = 573,4x + 3,0$, $r = 0,99993$.

A curva analítica apresentou linearidade, com $r > 0,99$. De acordo com o espectro de emissão descrito na FIG. 29, a linha 214,282 nm é apropriada para análise do telúrio, pois apresenta espectro bem definido, base estreita de 0,004 nm e sem interferência de fundo ou linhas de emissão de outros elementos.

FIGURA 29 - Espectro de emissão de $[Te] = 5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ no comprimento de onda 214,282 nm.

Foram analisadas 3 amostras de Iodo-131 SOLUÇÃO, que apresentaram concentração de Te de 6,709; 16,03 e 16,17 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

5.2.3.1.7 Análise de Estanho

Devido às interferências espectrais e não espectrais relatadas na pag. 23, a curva analítica de Sn deve ser realizada sem a presença de outros elementos.

Para a determinação Sn foram construídas 3 curvas analíticas distintas e analisadas 5 linhas diferentes: 189,927; 242,170; 242,950; 300,913; 317,503 nm.

Para os 5 comprimentos de onda foram obtidas as curvas analíticas nas faixas de 20 a 300, 1 a 30 e 0,1 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A representação gráfica e os parâmetros das curvas analíticas estão descritos FIG. 30, 31 e 32 e TAB 14, 15 e 16.

FIGURA 30 - Curva analítica de Sn na faixa de concentração 20 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimentos de ondas 189,927; 242,170; 242,950; 300,913; 317,503 nm.

FIGURA 31 - Curva analítica de Sn na faixa de concentração 1 a 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, comprimentos de ondas 189,927; 242,170; 242,950; 300,913; 317,503 nm.

FIGURA 32 - Curva analítica de Sn na faixa de concentração de 0,1 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

TABELA 14 - Parâmetros das equações de reta das linhas de emissão do Sn na faixa de concentração 20 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Linha de emissão	a	b	r
189,927	5227,570	222,689	0,99659
242,170	4649,276	332,411	0,99706
242,950	4546,934	322,184	0,99783
300,913	5135,586	456,415	0,99734
317,503	5172,487	630,193	0,99949

TABELA 15: Parâmetros das equações de reta de Sn na faixa de concentração 1,0 a 30,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Linha de emissão	a	b	r
189,927	33,9	337,4	0,99996
242,170	40,1	413,1	0,99996
242,950	42,6	402,4	0,99998
300,913	72,4	545,9	0,99998
317,503	338,7	715,6	0,99998

TABELA 16 - Parâmetros das equações de reta de Sn na faixa de concentração 0,1 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Linha de emissão	a	b	r
189,927	4,8	367,9	0,99972
242,170	20,3	443,5	0,99927
242,950	12,5	431,9	0,99929
300,913	32,1	603,0	0,99872
317,503	301,1	788,9	0,99928

As linhas 189,927 nm; 242,170 nm; 242,950 nm e 300,913 nm, na faixa de concentração de 20 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$, apresentaram curvaturas próximo à concentração de 52,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ indicando que a faixa é melhor representada por mais de uma faixa linear. A linha de emissão 317,503 nm foi mais intensa em relação as outras linhas analisadas.

Considerando –se as faixas de concentrações de 1,0 a 30,0 e 0,1 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, as linhas não apresentaram a curvatura observada na faixa de 20 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

De acordo com a literatura, as linhas 189,927 e 242,950 nm são as mais utilizadas para a análise de Sn. A linha em 189,927 nm é a que apresenta melhor sensibilidade e menor interferências espectrais ⁽⁷²⁾.

A linha 189,927 nm foi selecionada para a análise de Sn nos reagentes liofilizados, que foram diluídos 1:40. A quantificação do Sn foi realizada com a utilização das faixas analíticas de 0,1 a 1,0 e 1 a 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados estão representados na TAB. 17.

TABELA 17 - Concentração de Sn em reagentes liofilizados

Reagentes liofilizados	[Sn] ($\mu\text{g mL}^{-1}$) esperado	[Sn] $\pm$ DP ($\mu\text{g mL}^{-1}$) encontrado	desvio [Sn] esperada / [Sn] encontrada (%)
ALBUMINA-TEC	21	25,78 $\pm$ 0,10	122,76
DEX 70-TEC	395	412,80 $\pm$ 14,70	104,51
DEX 500-TEC	789	743,60 $\pm$ 39,62	94,25
DISIDA-TEC	263	248,40 $\pm$ 1,47	94,45
DMSA-TEC	232	210,14 $\pm$ 2,81	90,58
EC-TEC	157	149,46 $\pm$ 0,65	95,20
ECD-TEC	65	71,76 $\pm$ 0,50	110,40
ESTANHO-TEC	94	85,83 $\pm$ 5,55	91,31
FITATO-TEC	526	496,73 $\pm$ 2,09	94,44
MIBI-TEC	53	48,98 $\pm$ 2,90	92,42
PIRO-TEC	1053	1021 $\pm$ 4,01	96,96

N=3

$\pm$ desvio padrão das triplicatas

O reagente liofilizado ESTANHO-TEC possui em sua composição fluoreto estanoso ao invés de cloreto estanoso como agente oxidante.

Após a ressuspensão do reagente liofilizado MACRO-TEC com água purificada houve a formação de bolhas, o que impediu a realização da análise nessa amostra.

As concentrações de Sn encontrados variaram entre 25,78 a 743,80 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados indicam a capacidade do método do ICP-OES em determinar Sn total em amostras de reagentes liofilizado, onde não há a necessidade de fazer a especiação. O método é simples e rápido, sem necessidade de pré-tratamento das amostras.

5.2.4 Limites de detecção e quantificação

Os LD e LQ estão relacionados na TAB. 18. Os elementos Al, Cd, Co, Cr, Li, Mg, Mn, Ni, Sr e Zn apresentaram menores valores de LD, 0,001 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os elementos Ca e B resultaram nos maiores valores de LQ, 0,143 e 0,181 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

TABELA 18 - Limites de detecção e quantificação para os 27 elementos

Elemento	Linha de emissão (nm)	LD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Ag	328,068	0,002	0,006
Al	396,152	0,001	0,004
B	249,678	0,054	0,181
Ba	233,527	0,002	0,005
Be	234,861	0,002	0,007
Bi	223,061	0,008	0,026
Ca	422,673	0,043	0,143
Cd	226,502	0,001	0,004
Co	238,892	0,001	0,004
Cr	267,716	0,001	0,004
Cu	327,395	0,003	0,008
Fe	259,940	0,002	0,007
Ga	287,423	0,003	0,010
K	766,491	0,018	0,060
Li	610,365	0,001	0,002
Mg	280,270	0,002	0,006
Mg	285,213	0,001	0,001
Mn	293,931	0,001	0,005
Mo	281,615	0,002	0,006
Na	588,995	0,005	0,018
Ni	230,299	0,001	0,003
Pb	220,353	0,002	0,008
Pd	340,458	0,004	0,015
Se	196,026	0,025	0,084
Sn	189,927	0,003	0,009
Sr	460,733	0,001	0,005

Elemento	Linha de emissão (nm)	LD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Te	214,282	0,010	0,033
Tl	377,572	0,015	0,048
Zn	213,857	0,001	0,004

5.3 Curvas analíticas selecionadas

Os parâmetros das curvas analíticas para os 27 elementos estão relacionadas na TAB 19. A faixa linear para a determinação dos elementos Ag, Al, B, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Se, Sr, Te, Tl e Zn foi de 0,025 a 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e para Ca, Na e K foi de 1,0 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Todos os elementos apresentaram $r > 0,99$ e portanto atendem ao especificado pela ANVISA, indicando boa linearidade. O erro máximo entre as medidas das replicatas foi de até 20% exceto para os elementos Ba, Be, Se, Sr e Tl, obtiveram erro máximo de 26,6, 23,7, 25,3, 26,8 e 24,4, respectivamente. A proposta de revisão dos capítulos de análise de elementos químicos relata o valor de 20% como erro máximo entre as replicatas, enquanto a ANVISA não estabelece valor específico. Por esse motivo foi mantido o erro máximo de 20% entre as triplicatas proposto pelo fabricante do equipamento.

TABELA 19 - Parâmetros das curvas analíticas para 27 elementos.

Elemento	Linha de emissão (nm)	a	b	r
Ag	328,068	136,1	24686,7	0,99995
Al	396,152	129,9	18141,0	0,99998
B	249,678	892,0	9371,3	0,99991
Ba	233,527	1064,1	31204,0	0,99264
Be	234,861	874,7	61718,6	0,99979
Bi	223,061	14,4	1167,6	0,99999
Ca	422,673	22169,8	45816,6	0,99932
Cd	226,502	58,8	24139,8	0,99997
Co	238,892	32,0	7806,1	0,99998
Cr	267,716	130,9	29493,3	0,99997
Cu	327,395	51,8	20247,2	0,99998
Fe	259,940	145,1	14484,9	0,99996
Ga	287,423	30,3	1952,0	0,99995
K	766,491	-5558,1	25479,3	0,99987
Li	610,365	-268,7	35338,6	0,99995
Mg	280,270	1465,6	75259,4	0,99971
Mg	285,213	101,0	19474,6	0,99997
Mn	293,931	129,3	31220,4	0,99997
Mo	281,615	49,8	10122,2	0,99997
Na	588,995	-315,7	208565,6	0,99999
Ni	230,299	34,7	4351,1	0,99995
Pb	220,353	14,6	1026,8	0,99993
Pd	340,458	78,9	6662,4	0,99995
Se	196,026	8,2	208,7	0,99993
Sr	460,733	1025,5	44678,4	0,99617
Te	214,282	9,0	390,8	0,99995
Tl	377,572	74,2	1651,4	0,99995
Zn	213,857	43,7	12236,1	0,99999

Para avaliar se a condição da linearidade da curva analítica era mantida, uma solução padrão multielementar de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi preparada e analisada junto com as amostras de radiofármacos em cada ensaio. Admitiu-se um erro de até 20 % de desvio

entre o valor teórico e o obtido pela leitura do controle. Os resultados estão relacionados na TAB 20.

TABELA 20 – Exemplo de resultados para a solução multielementar utilizada como controle de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ utilizado em todas as análises.

Elemento	Concentração padrão ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Al	1,000	1,034
B	1,000	0,950
Be	1,000	0,935
Bi	1,000	1,054
Ca	1,000	1,004
Cd	1,000	1,062
Co	1,000	1,021
Cr	1,000	0,972
Cu	1,000	1,063
Fe	1,000	1,025
Ga	1,000	1,058
K	1,000	1,025
Li	1,000	0,977
Mg	1,000	1,045
Mn	1,000	1,011
Na	1,000	1,070
Ni	1,000	0,991
Pb	1,000	1,059
Se	1,000	0,982
Te	1,000	1,050
Tl	1,000	1,028
Zn	1,000	1,017

5.4 Ensaio de recuperação

A água purificada utilizada nos experimentos foi analisada no ICP-OES e apresentaram concentração média de K e Na de $0,025$ e $0,196 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Esses valores foram subtraídos das concentrações finais desses elementos nas amostras analisadas.

Os elementos encontrados em maior concentração em amostras de FDG-Flúor-18 e do GERADOR IPEN-TEC e dois frascos dos reagentes liofilizados ALBUMINA-TEC, DEX-70, DEX 500, DISIDA-TEC, DMSA-TEC, EC-TEC, DTPA-TEC, FITATO-TEC, GHA-TEC, MACRO-TEC, MDP-TEC, MIBI-TEC, PIRO-TEC estão descritos na TAB. 21.

TABELA 21 - Concentração dos elementos nas amostras de radiofármacos.

Amostra	Elemento	Concentração $\pm$ DP ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
ALBUMINA - TEC	K	$0,573 \pm 0,014$
	Na	$80,050 \pm 4,795$
	Zn	$0,104 \pm 0,001$
DEX 70 -TEC	Ca	$16,700 \pm 2,004$
	K	$0,553 \pm 0,139$
	Na	$67,880 \pm 11,591$
	Se	$0,112 \pm 0,056$
DEX 500 - TEC	K	$0,146 \pm 0,056$
	Na	$62,730 \pm 2,373$
	Se	$0,055 \pm 0,009$
	Zn	$0,029 \pm 0,002$
DISIDA - TEC	Al	$0,046 \pm 0,002$
	Ca	$0,264 \pm 0,010$
	K	$0,460 \pm 0,017$
	Na	$75,47 \pm 4,243$
	Ni	$0,054 \pm 0,004$
	Zn	$0,492 \pm 0,011$
DMSA - TEC	Al	$0,036 \pm 0,002$
	Ca	$0,142 \pm 0,055$
	Fe	$0,043 \pm 0,005$
	K	$0,503 \pm 0,010$
	Na	$69,300 \pm 3,367$
	Se	$0,093 \pm 0,033$
	Zn	$1,000 \pm 0,015$
EC-TEC	Ca	$15,97 \pm 0,350$
	Cr	$0,226 \pm 0,020$
	K	$1,565 \pm 0,246$
	Na	$41,410 \pm 8,573$
	Zn	$0,045 \pm 0,007$
DTPA-TEC	Cu	$0,442 \pm 0,021$
	K	$0,232 \pm 0,124$
	Na	$65,150 \pm 5,869$
	Zn	$0,876 \pm 0,112$

Amostra	Elemento	Concentração $\pm$ DP ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
FITATO-TEC	Al	$0,103 \pm 0,007$
	Ca	$0,202 \pm 0,012$
	K	$0,755 \pm 0,098$
	Na	$83,270 \pm 1,287$
	Ni	$0,124 \pm 0,022$
	Zn	$0,174 \pm 0,073$
GHA-TEC	Al	$0,079 \pm 0,025$
	Ca	$199,700 \pm 0,874$
	K	$1,154 \pm 0,171$
	Mg	$0,163 \pm 0,014$
	Na	$72,790 \pm 2,516$
	Se	$0,146 \pm 0,073$
MDP-TEC	Zn	$0,058 \pm 0,005$
	Al	$0,633 \pm 0,071$
	Ca	$0,537 \pm 0,080$
	Fe	$0,106 \pm 0,010$
	K	$3,177 \pm 0,456$
	Na	$65,150 \pm 5,869$
MIBI-TEC	Zn	$0,190 \pm 0,053$
	Ca	$0,288 \pm 0,067$
	Zn	$1,216 \pm 0,378$
	Cu	$1,972 \pm 0,063$
	K	$0,499 \pm 0,189$
PIRO-TEC	Na	$74,826 \pm 0,41$
	K	$0,237 \pm 0,065$
	Na	$78,020 \pm 0,014$
FDG-Flúor-18	Zn	$0,593 \pm 0,109$
	Al	$0,270 \pm 0,014$
	Ca	$0,772 \pm 0,323$
	K	$14,080 \pm 1,365$
	Na	$1326 \pm 8,080$
GERADOR IPEN-TEC	Zn	$0,072 \pm 0,011$
	Al	$2,047 \pm 0,183$
	Ca	$0,446 \pm 0,152$
	K	$0,381 \pm 0,138$
	Na	$1816,666 \pm 25,16$
	Zn	$0,068 \pm 0,006$

Após a ressuspensão do reagente liofilizado MACRO-TEC com água purificada houve a formação de bolhas, o que impediu a realização da análise nessa amostra.

A alta concentração de Na encontrado nas amostras de GERADOR IPEN-TEC, DMSA-TEC, DEX 70-TEC, DEX 500-TEC, e ALBUMINA-TEC é proveniente da solução de NaCl utilizada na preparação desses radiofármacos. Dessa forma, a %recuperação não foi realizada para o Na por esse elemento não ser uma impureza elementar e sim constituinte da formulação.

As análises da %recuperação dos elementos Al, Cu e Zn foram realizadas nas amostras de MIBI-TEC, FDG-Flúor-18 e GERADOR IPEN-TEC. Os resultados da %recuperação desses elementos em três concentrações diferentes, a saber: 0,3; 0,5 e 0,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$, podem ser observados nas TAB. 22 a 27. Os valores descritos nas tabelas são resultados das médias das análises realizadas em triplicatas com três lotes diferentes. Os resultados dos ensaios de precisão estão expressos como DPR.

TABELA 22 - % Recuperação de Cu em amostras de MIBI-TEC.

Cu adicionado ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	DPR (%)
0,3	0,349	102,14	1,14
0,5	0,551	100,52	3,97
0,8	0,848	96,65	2,5

N=3

TABELA 23 - % Recuperação de Zn em amostras de MIBI-TEC.

Zn adicionado ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	DPR (%)
0,3	0,393	111,80	4,40
0,5	0,597	112,41	3,26
0,8	0,883	105,54	2,88

N=3

TABELA 24 - % Recuperação de Zn em amostras de FDG-Flúor-18

Zn adicionado ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	DPR (%)
0,3	0,361	117,61	2,8
0,5	0,573	107,5	1,2
0,8	0,883	102,4	2,5

N=3

TABELA 25 - % Recuperação de Al em amostras de FDG-FLúor-18.

Al adicionado ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	DPR (%)
0,3	0,528	103,08	4,32
0,5	0,751	105,51	2,82
0,8	1,121	113,19	1,17

N=3

TABELA 26 - % Recuperação de Zn em amostras de GERADOR IPEN-TEC

Zn adicionado ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	DPR (%)
0,3	0,362	115,96	4,78
0,5	0,574	116,53	1,22
0,8	0,869	106,71	4,52

N=3

TABELA 27- % Recuperação de Al em amostras de GERADOR IPEN-TEC

Al adicionado ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	DPR (%)
0,3	0,321	102,92	3,59
0,5	0,526	99,92	4,00
0,8	0,835	96,48	1,44

N=3

A %recuperação Cu e Zn nas amostras de MIBI-TEC variaram de 96,65 a 102,14% e 105,54 a 118,80%, respectivamente. Nas amostras de FDG-Flúor-18, a

%recuperação do Zn variou de 102,4 a 117,61% e Al de 103,08 a 113,19%. A variação da %recuperação do Zn nas amostras de GERADOR IPEN-TEC foi de 106,71% a 116,53, e do Al de 96,48 a 102,92%.

Os valores de precisão expressos como DPR foram inferiores a 5%.

Os resultados da %recuperação e DPR estão dentro dos critérios de aceitação da ANVISA e da USP.

Para o teste de recuperação de Te em amostras de IODO-131 SOLUÇÃO, as concentrações Te adicionadas foram alteradas para 3, 5 e 8 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados obtidos estão apresentados na TAB. 28.

TABELA 28 - %recuperação de Te em amostras de Iodo-131 SOLUÇÃO

Telúrio adicionado ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	DPR (%)
3	3,806	98,44	1,96
5	6,071	103,49	1,85
8	9,328	105,21	1,47

A precisão das análise de Te nas amostras de Iodo-131 SOLUÇÃO variaram de 1,47 a 1,96 e a recuperação foi de 98,44 a 105,21%, indicando que o método é adequado para análise desse elemento.

6 – CONCLUSÃO

Várias linhas de emissão foram analisadas e alguns elementos foram avaliados em mais de uma faixa de concentração. A curva multielementar foi linear para análise de Ca, Na e K nas concentrações entre 1 a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e entre 0,025 a 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para os elementos Ag, Al, B, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Pd, Se, Sr, Tl e Zn. Para análises de Sn, em MIBI-TEC, e Te, em amostra de Iodo-131 SOLUÇÃO, foram construídas curvas analíticas separadas da curva multielementar.

A otimização das condições de operação do ICP-OES possibilitou determinar as melhores condições de análise de elementos químicos em radiofármacos. Entre as condições estudadas, o uso de potência 1,2 kw implica em um menor desgaste do equipamento sem alterar a robustez do método. O uso do *sample uptake* de 10s foi o melhor resultado obtido no estudo da otimização do ICP, pois acarretou em redução no consumo de amostra, sendo necessário 1,6 mL para cada análise.

A limpeza e manutenção do equipamento influenciou de forma positiva na intensidade de emissão dos elementos e garantiu a ausência de compostos orgânicos e elementos residuais nas análises.

O método para quantificação de Al, Zn e Cu nos radiofármacos FDG-Flúor-18 e GERADOR IPEN-TEC, MIBI-TEC mostrou-se seletivo, linear na faixa empregada, preciso (DPR < 5). A concentração de Zn variou de 0,029 a 1,216 $\mu\text{g mL}^{-1}$, o Al variou de 0,046 a 2,047 e Cu foi de 0,442 a 1,972 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Para a análise Sn foi selecionada a linha 189,927 nm e a faixa analítica de concentração de 0,1 a 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

O método para a análise de Te em amostras de Iodo-131 mostrou ser seletivo, linear na faixa de concentração de 0,5 a 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, preciso (DPR < 5) e com recuperação de 98,44 a 105,21%.

Os ensaios de validação do método analítico para determinação de elementos químicos para FDG-Flúor-18 e GERADOR IPEN-TEC, MIBI-TEC e Iodo-131 SOLUÇÃO foram realizados de acordo com os parâmetros preconizados pela ANVISA e INMETRO. Os resultados demonstraram que as elementos encontradas estão dentro dos limites de especificados no capítulo 231 da USP. As % de recuperação estão dentro dos limites estabelecidos nas normas técnicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SAHA, G. B. ***Fundamentals of Nuclear Pharmacy***. Cleveland, U.S.A., Ed. Springer, 1998.
2. PARSONS, P.J.; BARBOSA, F. Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. ***Spectrochim. Acta***. v.62, p. 992-1003, 2007.
3. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução – RDC nº17 de 04 de agosto de 2010. ***Diário oficial da União***. 14 de agosto de 2003. Disponível na internet <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 31-01-2011.
4. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 46. ***Produção e controle de qualidade para hemoderivados de uso humano***. Mai, 18 de 2000. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br> . Acesso em 01 de maio de 2013.
5. ZACHARIADIS, G. A.; KAPSIMALI, D. C. Development of a rapid multi-element method of analysis of antitussive syrups by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and direct sample introduction. ***J. Pharm. Biomed. Anal.*** v. 41, p. 1212-1219, 2006.
6. EUROPEAN PHARMACOPEIA, 5. ed. Strasbourg, Council of Europe, 2004.
7. ALMEIDA, E.V. ***Desenvolvimento e validação de metodologia para radiofármacos de tecnécio-99m empregando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)***. 2009. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
8. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RE nº 899. ***Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos***. Mai. 29, 2003. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br> . Acesso em 01 de maio de 2013.
9. GINE-ROSIAS, M.F.; ***Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente***. Piracicaba, S.P. CENA, 1998.
10. TU, Q.; WANG, T.; ANTONUCCI, V. High-efficiency sample preparation with dimethyformamide for multi-element determination in pharmaceutical materials by ICP-AES. ***J. Pharm. Biomed. Anal.***, v. 52, p. 115-124, 2010.
11. RAO, R.; TALLURI, M.V.N. K. An overview of recent application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drug and pharmaceuticals. ***J. Pharm. Biomed. Anal.***, v. 43, p. 1-13, 2007.

12. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 64. **Registro de radiofármacos**. Dez. 18, 2009. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br> . Acesso em 01 de maio de 2013.
13. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 17. **Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos**. Abr. 16, 2010. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br> . Acesso em 01 de maio de 2013.
14. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 63. **Boas práticas de fabricação de radiofármacos**. Dez. 18, 2009. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br> . Acesso em 01 de maio de 2013.
15. OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; FERREIRA, D.; COLEHO, P.; VEIGA, F. Radiopharmaceuticals and applications. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 42, p. 151-165, 2006.
16. MARQUES, F. L. N.; OKAMOTO, M. R. Y.; BUCHPIGUEL, C. A. Alguns aspectos sobre geradores e radiofármacos de Tecnécio – 99m e seus controles de qualidade. **Radiol. Bras.**, v. 34, p. 233-239, 2001.
17. WELTZ B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. Weinheim, Germany, Ed Wiley-Vch. Weinheim, 1999.
18. GARCIA, E. J. Um espaço para a radiofarmácia. **Pharm. Bras.**, v. 31, p. 4-8, 2006.
19. CASTIGLIA, S. G.; SILVA, C. P. G.; PEREIRA, N. S.; ARAYA, G.; MENDOZA, M.; FREIRE, D.; VERDERA, S. Manual de protocolos de qualidade de radiofármacos-producción y control de radiofármacos. **ARCAL XV**, 1999.
20. VALLABHAJOSULA, S.A. Broad overview of positron emission tomography radiopharmaceuticals and clinical applications: what is new? **Semin. Nucl. Med.** v. 41, p. 246-264, 2011.
21. PALESTRO, C. J. Radionuclide imaging of infects: what the future holds. **Braz. Arch. Biol. Technol.** v. 51, 2008.
22. INSTITUTO DE PESQUISA ENERGÉTICAS E NUCLEARES. **Produtos e serviços/radiofármacos: Etilenodiscisteína-EC**. Disponível em: www.ipen.br/produtos/radiofármacos/EC.php. Acesso em: 02 jun de 2013.
23. INSTITUTO DE PESQUISA ENERGÉTICAS E NUCLEARES. **Produtos e serviços/radiofármacos: ácido dietilenotriamino pentacético-DTPA**. Disponível em: www.ipen.br/produtos/radiofármacos/DTPA.php. Acesso em: 02 jun de 2013.
24. INSTITUTO DE PESQUISA ENERGÉTICAS E NUCLEARES. **Produtos e serviços/radiofármacos: fitato de sódio-FITATO**. Disponível em: www.ipen.br/produtos/radiofármacos/FITATO.php. Acesso em: 02 jun de 2013.

25. INSTITUTO DE PESQUISA ENERGÉTICAS E NUCLEARES. **Produtos e serviços/radiofármacos: metileno difosfonato de sódio-MDP**. Disponível em: www.ipen.br/produtos/radiofármacos/MDP.php. Acesso em: 02 jun de 2013.
26. INSTITUTO DE PESQUISA ENERGÉTICAS E NUCLEARES. **Produtos e serviços/radiofármacos: metoxiisobutilisonitrila-MIBI**. Disponível em: www.ipen.br/produtos/radiofármacos/MIBI.php. Acesso em: 02 jun de 2013.
27. INSTITUTO DE PESQUISA ENERGÉTICAS E NUCLEARES. **Produtos e serviços/radiofármacos/bulas**. Disponível em: www.ipen.br/produtos/radiofármacos.php. Acesso em: 02 jun de 2013.
28. DOWNS, A. J.; ADAMS, C. J. **The chemistry of chlorine, bromine, iodine and astatine**. New York, N.Y.: University of Oxford, 1975.
29. COOPER, M. Radiohalogenation. In: THEOBALDT. **Sompson's textbook of radiopharmacy**. 4th Ed. London, U.K., 2011.
30. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY: Manual for Reactor Produced Radioisotopes. Vienna, Austria. 2003. (IAEA – TECDOC – 1340).
31. UNITED STATES PHARMACOPEIA. Official monographs: **USP 30 iodine, sodium iodine 123-I solution**. Fev,16, 2003. Disponível em: <http://www.usp.org>. Acesso em 22 de maio de 2013.
32. THRALL, V.H.; ZIESSMAN, H. A. **Medicina Nuclear**. 2^o edição. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2003.
33. EARLY, P. J.; SODEE, B. D. **Principles and practice of nuclear medicine**. Cuiabá, MT.: Mosby Anual do SBPC, 2004.
34. DESTEFANO, A.; ZAIDI, K.; CECIL, T.L.; GIANCASPRO, G.L. **Elemental impurities – information**. Pharmacopeial Forum., v.36, p. 1-9, 2010.
35. PHARMACOPEIAL CONVENTION. **Chapter 232: Elemental Impurities – limits**. Fev. 01, 2013. Disponível em: http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/key-issues/c232_final.pdf. Acesso em 9 de junho de 2013
36. PHARMACOPEIAL CONVENTION. **Elemental impurities**. Jun. 28, 2013. Disponível em: <http://www.usp.org>. Acesso em 9 de junho de 2013.
37. LEWEN, N.; NUGENT, D. The use of inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES) in the determination of lithium in cleaning validation swabs. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v.52, p. 652-655, 2010.

38. PHARMACOPEIAL CONVENTION. **Chapter 241: Iron**. Out. 01, 2012. Disponível em: <http://www.usp.org/pt/node/5574>. Acesso em 9 de junho de 2013.
39. PHARMACOPEIAL CONVENTION. **Chapter 251: Lead**. Out. 01, 2012. Disponível em: <http://www.usp.org/pt/node/5574>. Acesso em 9 de junho de 2013.
40. PHARMACOPEIAL CONVENTION. **Chapter 261: Mercury**. Out. 01, 2012. Disponível em: <http://www.usp.org/pt/node/5574>. Acesso em 9 de junho de 2013.
41. PHARMACOPEIAL CONVENTION. **Chapter 291: Selenium**. Out. 01, 2012. Disponível em: <http://www.usp.org/pt/node/5574>. Acesso em 9 de junho de 2013.
42. PHARMACOPEIAL CONVENTION. **Chapter 233: Elemental Impurities – Procedures**. Fev. 01, 2013. Disponível em: http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/key-issues/c232_final.pdf. Acesso em 9 de junho de 2013.
43. ZACHARIADIS, G. A.; OLYMPIOUS, A. F. Use of slurry suspension sample introduction technique in fast multielement analysis of multimineral and multivitamin formulations by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **J. Pharm. Biomed. Anal.** v. 47, p. 541-546, 2008.
44. ALTUNDAG, H.; TUZEN, M. Comparison of dry, wet and microwave digestion methods for the multi element determination in some dried fruit samples by ICP-OES. **Food Chem. Toxicol.** v. 49, p. 2800-2807, 2011.
45. MORTE, E. S. B.; BARBOSA, I. S.; SANTOS, E. C.; NOBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. Axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry for monitoring tin concentration in canned tomato sauce samples. **Food Chem.**, v. 131, p.348-352, 2012.
46. BRESSY, F. C.; Brito, G.B.; TEIXEIRA, L. S.G.; KORN, M. G. Determination of trace element concentration in tomato samples at different stages of manuration by ICP OES and ICP-MS following microwave assisted digestion. **Microchem. J.**, v.109, p.145-149, 2013.
47. PORTUGAL, L.A.; MATOS, G.D.; LIMA, D.C.; BRITO, G.B.; FERNANDES, A. P. FERREIRA, S.L.C. Determination of lead in aluminium and magnesium antacids using electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchem. J.**, v. 98, p. 29-31, 2011.

49. BATISTA, B.L. ***Avaliação do uso da cela de reação dinâmica em espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (DRC-ICP-MS) para determinação de elementos químicos em sangue.*** 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
50. SCATAMOCHIA, D. S. ***Explorando a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e amostragem direta em superfície metálica para a determinação de Bário.*** 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
51. ALVES, A.N.L. ***Monitorização biológica na exposição ocupacional ao cobalto, aspecto toxicológicos e analíticos associados a um sistema de qualidade.*** 1999. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
52. ANTONIO, R.F. ***Avaliação da espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstenio para determinação de arsênio em água.*** 2008. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
53. QUINAGLIA, G.A. ***Caracterização dos níveis basais de concentração de metais nos sedimentos do sistema Estuário da Baixada Santista.*** 2006. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, São Paulo.
54. RUSSEL, J. B. ***Química Geral***, São Paulo, SP.: Pearson Education do Brasil, 1994.
55. JARVIS, I.; JARVIS, K.E. Plasma spectrometry in the Earth sciences: techniques, applications and future trends. ***Chem. Geol.***, v. 95, p. 1-33, 1992.
56. MANNING, T. J.; GROW, W. ***The Chemical Educator***. New York, N.Y.: Springer Verlag, 1997.
57. LARREA-MARIN, M.T.; POMARES-ALFONSO, M.S.; GOMES-JUARISTI, M.; SANCHEZ-MUNIZ, F.J. Validation of an ICP-OES method for macro and trace element determination in *Laminaria* and *Porphyra* seaweeds from four different countries. ***J. Food Composition and Analysis.***, v.23, p. 814-829, 2010.
58. AKBAR, M. Inductively coupled plasma mass spectrometry, Washington, DC.: Wiley-VCH, 1997.
59. VELITCHKOVA, N.; VELICHKOV, S.; DASKALOVA N. Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry – optimization of the operating conditions in the determination of trace of elements in line-rich emission matrices. ***Spectrochim. Acta Part B.***, v. 62, p. 386-402.

60. SCHIAVO, D.; TREVIZAN, L.C.; PEREIRA-FILHO, E. R.; NOBREGA, J.A. Evaluation of the use of multiple lines for determination of metals in water by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial viewing. ***Spectrochim. Acta Part B.***, v. 64, p. 544-548, 2009.
61. NOLTE, J. ***ICP Emission Spectrometry, A Practical Guide***; Willey – VCH: Weinheim, 2003.
62. PAREDES, E.; MAESTRE, S. E.; TODOLI, J. L. Use of stirred tanks for studying matrix effects caused by inorganic acids, easily ionized elements and organic solvents in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. ***Spectrochim. Acta Part B.***, v. 61, p. 326-339, 2006.
63. GROTTI, M.; TODOLI, J. L.; MERMET, J. M. Influence of the operating parameters and the sample introduction system on time correlation of line intensities using an axially viewed CCD-based ICP-AES system. ***Spectrochim. Acta Part B.***, v. 65, p.137-146, 2010.
64. PETROVIC, S.C.; CLARKSON, J. C. Comparison of inductively coupled plasma with classical analytical technique in the analysis of southern Oregon Lithia Water: inclusion of a local resource in the undergraduate chemistry curriculum. ***Spect. Letters.***, v. 40, p. 395-412, 2007
65. KREJCOVA, A.; LUDVIKOVA, I.; CERNOHORSKY, T.; POUZAR, M. Elemental analysis of nutritional by inductively coupled plasma mass and optical emission spectrometry. ***F. Chemi.***, v. 132, p. 588-596, 2012.
66. CHAN, G. C. Y.; CHAN, W. T. Plasma – related matrix effects in inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry by group I and group II matrix – elements. ***Spectrochim. Acta Part B.***, v. 58, p. 1301-1317, 2003.
67. CHAN, G. C. Y.; HIEFTJE, G. M. Investigation of plasma – related matrix effects in inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry caused by matrices with low second ionization potentials – identification of the secondary factor. ***Spectrochim. Acta Part B.***, v. 61, p.642-659, 2006.
68. ROMERO, X.'POUSSEL, E.; MERMET, J.M. The effect of sodium on analyte ionic line intensities in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: influence of the operation conditions. ***Spectrochim. Acta Part B.***, v. 52, p. 495-502, 1997.
69. BRENNER, I.B.; WATSON, A.E., STEELE, T.W.; JAMES, C.A.; GONCALVES, M. Application of an argon nitrogen inductively coupled radiofrequency plasma (ICP) to the analysis of geological and related materials of their rare Earth contents. ***Spectrochim. Act Part B.***, v.36, p. 785-797, 1981.

70. FAN, J.; WALMSLEY, J.C.; HOLME, B. NORDMARK, H.; NISANCIOGLU, K. Surface segregation of tin by heat treatment of dilute aluminium tin alloys. **Corros. Sci.**, v. 68, p. 204-213, 2013.
71. ALLEN, J.B. Controlled potencial coulometric determination of tin. **A. Chem.**, v.22, p. 577-582, 1960.
72. GALBACS, G.; SZORCSIK, A.; GALBACS, Z.; BUZAS, N.; HARASZTI, T. Slurry nebulization ICP-AES spectrometry method for the determination of tin in organotin (IV) complexes. **Talanta**, v. 52, p. 1061-1067, 2000.
73. YU, Z.; SUN, J.; JING, M.; CAO, X.; LEE, F.; WANG, X. Determination of total tin and organotin compounds in shellfish by ICP-MS. **F. Chem.**, v. 119, p. 364-367, 2010.
74. GAINER, P.R. Analytical tips for tin. **Net**, Virgínia, USA, 2012. Disponível em <http://www.inorganicventures.com/advice/analytical-tips-tin>. Acesso em 10 de fevereiro de 2013.
75. CEOTTO, C. S. **Comparação de técnicas analíticas para determinação de elementos traços em solução de amostras ambientais**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.
76. NAOZUKA, J. **Estudo da influência de processos de conservação na distribuição de espécies elementares em água de coco por espectrometria de absorção e emissão atômica**. 2004. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
77. HAYES, W. A. **Principles and methods of toxicology**. Philadelphia, PA.: Taylor e Travis, 2001.
78. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 33. **Ingestão diária recomendada (IDR) de proteínas, vitaminas e minerais**. Set, 23 de 2005. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br> . Acesso em 22 de fev de 2013.
79. NAOZUKA, J.; VIEIRA, E. C.; NASCIMENTO, A. N.; OLIVEIRA, P. V. Elemental analysis of nuts and seeds by axially viewed ICP-OES. **F. Chem.**, v. 124, p.1667-1672, 2011.
80. CASTRO-GONZALEZ, M.I.; MENDEZ-ARMENTA, M. Heavy metals: implications associated to fish consumption. **Envir. Toxicol. Pharmacol.**, v. 26, p. 263-271, 2008.
81. ASANO, T.; WANG, P.; IWASAKI, A. Spectrophotometric detection of labile zinc(II) released from metallothionein: A simple method to evaluate heavy metal toxicity. **Envir. Toxicol. Pharmacol.**, v. 109, p. 638-644, 2010.

82. DORMAN, D.C.; STRUVE, M.F.; VITARELA, D.; BYERLY, F.L.; GOETZ, J.; MILLER, R. Neurotoxicity of manganese chloride in neonatal and adult CD rats following subchronic (21 days) high dose oral expose. **J. Appl. Toxicol.**, v. 20, p.179-187, 2000.
83. NACANO, L. R. **Avaliação da concentração de elementos químicos tóxicos na merenda escolar de crianças da cidade de Ribeirão Preto e estimativa de suas ingestão diárias**. 2012. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
84. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace – guidelines. 1996. Disponível em www.who.int. Acesso em 23 de junho de 2013.
85. SARAIVA, E.R. **Avaliação hematológica, atividade enzimática e níveis de metais na exposição ocupacional aos defensivos agrícolas e fertilizantes**. 2009. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
86. BORGES, V.C. ROCHA, J.B. SAVEGNAGO, L. NOGUEIRA, C. W. Repeated administration of diphenil ditilluride induces hamatological desordens in rats. **Food Chem. Toxicol.**, v. 45, p. 1453-1458, 2007.
87. WANG, T.; WU, J.; HARTMAN, R.; JIA, X.; EGAN, R.S. A multi-element ICP-MS survey method as an alternative to the heavy metals limit test for pharmaceutical materials. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 23, p. 867-890, 2010.
88. WANG, T.; WU, J.; JIA, X. Direct determination of metals in organic by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry in aquarius matrices. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 33, p.639-646, 2003
89. PHARMACOPEIAL CONVENTION. **The national formulary XXII**. Out. 1990. Disponível em: <http://www.usp.org/pt/node/5574>. Acesso em 9 de junho de 2013.
90. IKEN, A.; NWANKWOALA, A.; ODUEYUNGBO, S.; NYAVOR, K.; EGIEBOR, N. Level of 26 elements in infant formula from USA, UK, and Nigeria by microwave digestion and ICP-OES. **J. Food Sci. Technol.**, v. 77, p.439-447, 2002.
91. KATAOKA, H.; OKAMOTO, Y.; TSUKAHARA, S.; FUJIWARA, T. Separate vaporisation of boric acid and inorganic boron from tungsten sample cuvette-tungsten boat furnace followed by the detection of boron species by inductively coupled plasma mass spectrometry and atomic emission spectrometry (ICP-MS and ICP-AES). **A. Chim. Acta.**, v. 610, p.179-185, 2008.
92. ARGEKAR, A.A.; KULKARNI, J. N.; MATHUR, J. N.; PAGE. A.G. Chemical separation and ICP-AES determination of 22 metallic elements in U and Pu matrices using cyanex-923 extractant and studies on stripping of U and Pu. **Talanta**, v. 56, p.591-601, 2002.

93. BERNARDES, A. C.; SOUZA, S. V. C. Análise comparativa do guia para validação de métodos analíticos proposto pela ANVISA (RE n 899 de 2003) com o documento orientativo do INMETRO e o protocolo internacional harmonizado AOAC Internacional, ISO e IUPAC. **Rev Analytica.**, v. 51, p.66-77, 2011.
94. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMATIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008. Jun, 2007. Disponível em <http://www.inmetro.gov.br>. Acesso em 17 de março de 2013.
95. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 27. **Requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós registro de medicamentos**. Mai, 17 de 2012. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br> . Acesso em 22 de fev de 2013.
96. MERMET, J. M.; POUSSEL, E. ICP emission spectrometers: 1995 analytical figures of merit. **Appl. Spectros.**, v.49, p. 12-18, 1995.
97. DENNAUD, J.; HOWES, A.; POUSSEL, E.; MERMET, J.M. Study of ionic-to-atomic line intensity ratios for two axial viewing-based inductively coupled plasma atomic emission spectrometers. **Spectrochem. Acta. Part B.**, v. 56, p. 101- 112, 2001.
98. KRACHLER, M.; WINCKEL, S. V.; CARDINALE, M.; LYNCH, B.; MURAKAMI, T. Method development for the determination of alkali metals in samples from pyrochemical reprocessing using ICP-OES and comparison with sector field CP-MS. **Microchem. J.**, v.105, p.1-6, 2012.
99. ZACHARIADIS, G. A.; KAPSIMALI, D. C. Development of a rapid multi-element method of analysis of antitussive syrups by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and direct sample introduction. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 41, p. 1212-1219, 2006.
100. SKOOG, D. H. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo, SP.: Thomson, 2006
101. KUCHARKOWSKI, R.; JANKOVA, D.; HERRMANN, E.; JOHN, A. Contributions to accuracy improvement of simultaneous ICP atomic emission spectrometry using multi-line measurements of analyte and internal elements: applications for the analysis of permolloy. **J. Anal. Chem.**, v. 361, p. 532 – 539, 1998.
102. SANTANA, F. A.; BARBOSA, J.T.P.; MATO, G.D.; KORN, M.G.A.; FERREIRA, S.L.C. Direct determination of gallium in bauxite employing ICP-OES using the reference element technique for interference elimination. **J. Anal. Chem.** v. 110, p. 198-201, 2013.

103. SALEEM, M.; ANWAR, K. ***Anal. Letters***, v. 29, p. 285, 1997.
104. VIOLANTE, N.; PETRUCCI, F.; FEMMINE, P. D.; CAROLI, S. Comments on the determination of Aluminum in Biological Fluids by ICP-AES. ***Microchem. J.*** v.46, p.199-203, 1992.
105. TREVIZAN, L. C.; SILVA, F. V.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOBREGA, J. A. Evaluation of a rapid semi-quantitative analysis approach using inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial viewing. ***Microchem. J.***, v. 86, p. 60-64, 2007.
106. GORECKA, H.; CHOJNACKA, K.; GORECKI, H. The application of ICP-MS and ICP-OES in determination of micronutrients in wood ashes as soil conditioners. ***Talanta***, v. 70, p. 950 – 956, 2006.
107. UNITED STATES PHARMACOPEIA. National Formulary 25, volume 3, 2007
108. BERNARDI, A.C.C.; SILVA, C. A.; PEREZ, D.V.; MENEGUELLI, N.A. Analytical quality program of soil fertility laboratories that adapt Embrapa methods in Brazil. ***Comm. Soil. Sci. Plant Ana.***, v. 33, p. 2661-2672, 2002.
109. SILVA, F.C.; VIERA, P.A.; BARRETO, W. O.; PEREZ, V. V.; SILVA, C.A. Manual de métodos de análise química para avaliação do fertilidade do solo. Rio de Janeiro, RJ. Embrapa-CNPQ, 1998.
110. ABREU, C.H.; MURAOK, T. LAVORANTE, A.F. Exchangeable aluminium evaluation in acid soils. ***Sci. Agric.***, v. 60., 543-548, 2003.