

## Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para quantificação de sódio e cálcio em carbonato de lítio empregando a técnica de ICP OES com amostragem automatizada

Development and validation of analytical methodology for quantifying sodium and calcium in lithium carbonate using the ICP OES technique with automated sampling

 DOI: 10.55892/jrg.v6i13.803

 ARK: 57118/JRG.v6i13.803

Recebido: 07/10/2023 | Aceito: 20/11/2023 | Publicado: 23/11/2023

### Cintia de Souza Maria Matricardi<sup>1</sup>

 <https://orcid.org/0009-0004-0535-2248>

 <http://lattes.cnpq.br/2800118157532186>

Associação de Ensino, Pesquisa e Extensão - Faculdade Biopark, PR, Brasil

E-mail: cintiamatricardi22@gmail.com

### Daiane de Almeida<sup>2</sup>

 <https://orcid.org/0009-0009-7785-8375>

 <http://lattes.cnpq.br/3312178092152129>

Associação de Ensino, Pesquisa e Extensão - Faculdade Biopark, PR, Brasil

E-mail: daianealmeida239@gmail.com

### Cristiano Cabral Muller<sup>3</sup>

 <https://orcid.org/0000-0001-7445-8565>

 <http://lattes.cnpq.br/7996264403105084>

Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

E-mail: cristiano\_c.muller@hotmail.com

### Letycia Lopes Ricardo<sup>4</sup>

 <https://orcid.org/0000-0002-5862-7768>

 <http://lattes.cnpq.br/5938193273335937>

Associação de Ensino, Pesquisa e Extensão - Faculdade Biopark, PR, Brasil

E-mail: letyca.ricardo@bpkedu.com.br



## Resumo

O processo de validação de metodologias analíticas em laboratórios de pesquisa é essencial para obter a aprovação da ANVISA e, conseqüentemente, o registro e a comercialização de medicamentos, sejam eles de referência ou genéricos. Isso envolve a realização de testes específicos em Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs), que devem atender às especificações em farmacopeias e/ou compêndios reconhecidos ou, se necessário, métodos validados que sejam realizados e comprovados sua eficiência. Neste contexto, o trabalho visa validar uma metodologia analítica para quantificar Cálcio e Sódio na matéria prima Carbonato de Lítio, utilizando a técnica de ICP-OES com avaliação de diversos parâmetros, incluindo seletividade, linearidade, limite de quantificação, precisão (repetibilidade e

<sup>1</sup> Graduanda em Farmácia pelo Parque Científico e Tecnológico de Biociências, Biopark, Brasil.

<sup>2</sup> Graduanda em Farmácia pelo Parque Científico e Tecnológico de Biociências, Biopark, Brasil.

<sup>3</sup> Graduado em Química Licenciatura pela Universidade de Cruz Alta (2009); Mestre em Química pela Universidade Federal de Santa Maria (2012); Doutor em Programa de pós-graduação em química - Universidade Federal de Santa Maria.

<sup>4</sup> Graduada em Química Licenciatura (2006-2010); Mestra Química Orgânica Universidade Estadual de Maringá; Doutora em Química Orgânica com ênfase em Produtos Naturais pela Universidade Estadual de Maringá. Pós-Doutorado em Agronomia (2017-2018)

intermediária), exatidão, faixa de trabalho e robustez. O objetivo é garantir que o método atenda aos requisitos da legislação em vigor. Para realizar as análises, as amostras foram preparadas dissolvendo-as em uma solução de ácido clorídrico 5 mol L<sup>-1</sup>. Os resultados demonstraram que o método analítico é capaz de identificar e quantificar os analitos de interesse sem interferências espectrais, mantendo uma relação direta entre a concentração e a resposta analítica, além de apresentar conclusões e exatidão sob as condições experimentais condicionais.

**Palavras-chave:** Impurezas. Quantificação. Validação de método analítico.

### **Abstract**

*The validation process of analytical methodologies in research laboratories is essential for obtaining approval from ANVISA (Brazilian Health Regulatory Agency) and, consequently, for the registration and commercialization of drugs, whether they are reference or generic. This involves conducting specific tests on Active Pharmaceutical Ingredients (APIs), which must meet the specifications in pharmacopoeias and/or recognized compendia or, if necessary, validated methods that have been performed and proven to be efficient. In this context, the work aims to validate an analytical methodology for quantifying Calcium and Sodium in the raw material Lithium Carbonate, using the ICP-OES technique with the evaluation of various parameters, including selectivity, linearity, limit of quantification, precision (repeatability and intermediate), accuracy, working range, and robustness. The goal is to ensure that the method meets the requirements of current legislation. To perform the analyses, the samples were prepared by dissolving them in a 5 mol L<sup>-1</sup> hydrochloric acid solution. The results demonstrated that the analytical method is capable of identifying and quantifying the analytes of interest without spectral interferences, maintaining a direct relationship between concentration and analytical response, and exhibiting precision and accuracy under the specified experimental conditions.*

**Keywords:** Lithium Carbonate. Impurities. ICP OES. Analytical Method Validation

## **1. Introdução**

A produção de medicamentos requer um rigoroso controle da qualidade das matérias-primas. As matérias-primas extraídas de fontes naturais possuem um risco maior de apresentarem problemas relacionados a pureza e a presença de contaminantes tóxicos ou não-tóxicos. O Lítio (Li), na forma de Carbonato, é um agente reconhecidamente utilizado como estabilizador de humor no Transtorno Afetivo Bipolar (TAB), e sua produção é realizada através da extração deste cátion de fontes naturais como os *salares* encontrados na Argentina, Chile e China. Os *salares* apresentam teores de Óxido de Lítio que variam entre 1% e 3%. Outra fonte apreciável para obtenção de Li é o *espodumênio*, que possui aproximadamente 8% de Li em sua composição (PEIRÓ; MÉNDEZ; AYRES, 2013). A obtenção de Carbonato de Lítio com grau de pureza farmacêutico,  $\geq 99\%$ , ocorre através de sucessivas etapas de purificação da fonte mineral empregada como matéria-prima. A *Orocobre Limited* desenvolveu um processo para obtenção de Carbonato de Lítio de alta pureza a partir da purificação de sais concentrados de Li obtidos de *salares*. Neste processo o Carbonato de Lítio é separado dos demais Carbonatos pela formação de Bicarbonato de Lítio que tem solubilidade apreciável em solução aquosa. Em etapa posterior o Bicarbonato de Lítio é convertido novamente a Carbonato que sofre precipitação (EHREN; ALEM, 2014).

A pureza do Carbonato de Lítio é um fator determinante para o sucesso do tratamento contra a TAB, uma vez que a janela terapêutica para o Li é considerada estreita, entre 0,6 a 1,0 mmol.L<sup>-1</sup> de plasma sanguíneo. Assim, tanto a intoxicação por Li quanto a ineficácia do tratamento podem ocorrer devido a baixa qualidade da matéria-prima (ICH, 2022). Entre os potenciais contaminantes do Carbonato de Lítio, produzido a partir de matérias-primas extraídas de *salares*, destacam-se o Sódio e o Cálcio. Estes cátions são usados no processo produtivo do Carbonato de Lítio onde são empregados nas formas de Carbonatos e Hidróxidos, sendo estes usados para a carbonatação e alcalinização do meio reacional (EHREN; ALEM, 2014).

A importância do controle destas espécies em Carbonato de Lítio de grau farmacêutico é reconhecida pelas Farmacopeias Americana (USP) e japonesa (JP), que requerem o controle destas impurezas em suas monografias. Enquanto a USP especifica limites para Sódio e Cálcio de 0,15% e 0,10%, respectivamente (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2023). A JP tem especificações mais restritivas pois especifica limites para Sódio e Cálcio de 0,05% para ambas as impurezas (JAPANESE PHARMACOPEIA, 2021). A USP sugere em monografia o uso das técnicas de Turbidimetria e Fotometria em Chama para detecção de Cálcio e Sódio, respectivamente (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2023). Já a JP também sugere o uso de Fotometria em Chama para detecção de Sódio, mas para detecção de Cálcio sugere a Titulação de Oxidação-Redução com Permanganato de Potássio (JAPANESE PHARMACOPEIA, 2021).

Tratando-se de simplicidade, os métodos clássicos, como a volumetria, apresentam vantagens sobre as técnicas instrumentais. Contudo, os métodos clássicos possuem desvantagens que podem ser consideradas como fatores mandatórios na escolha da técnica. Neste sentido, podemos destacar a morosidade destes métodos que necessitam de várias etapas para a confirmação dos resultados. Produção de soluções estoque e padronização de soluções são etapas indispensáveis na condução de métodos clássicos, e que tem impacto significativo no tempo total da análise. Obviamente que os métodos clássicos apresentam vantagens econômicas com relação aos métodos instrumentais, contudo muitas vezes o tempo necessário para obtenção de resultados é o fator predominante. Uma redução significativa do tempo de análise pode ser alcançada através da implementação de metodologias que utilizam apenas uma técnica para quantificação de todos os analitos requeridos. Neste sentido a técnica de ICP OES destaca-se pois realiza a detecção e quantificação de grande parte dos elementos da tabela periódica de forma simultânea ou sequencial (BRITO et al., 2003; ISHIHARA et al., 2018). Esta técnica é reconhecida, também, por sua precisão e eficiência notáveis para determinações multielementares (PINHEIRO; BAIRRO; NÓBREGA, 2019; GUINÉ, 1998).

Este artigo demonstra os resultados obtidos durante o desenvolvimento e a validação de metodologia analítica para a quantificação de Sódio e Cálcio em Carbonato de Lítio com grau de pureza farmacêutico. Na etapa de validação de metodologia analítica foram realizados ensaios objetivando atender aos requisitos legais da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que estão dispostos na RDC 166 de 2017 (ANVISA, 2017).

## 2. Materiais e métodos

Todas as soluções aquosas foram produzidas com água ultrapura de Tipo I, resistividade  $\geq 18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$  ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) e Carbono Orgânico Total (TOC)  $\leq 5,0 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , obtida de sistema de Milli-Q Direct (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha). As soluções contendo ácido clorídrico foram preparadas a partir de Ácido Clorídrico  $\geq 30\%$  (grau traço, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha). Os padrões empregados para a calibração do espectrômetro foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), ambos os padrões de Sódio e Cálcio nas concentrações de  $10.000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e grau pureza para ICP (TraceCERT®, Sigma-Aldrich, EUA). As curvas de calibração foram produzidas a partir de solução estoque de Sódio e Cálcio nas concentrações de  $50,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $75,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. Tais soluções foram preparadas com água ultrapura e em frascos de centrifuga de  $50,0 \pm 0,25 \text{ mL}$  (Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Alemanha). Todas as transferências volumétricas com precisão requerida foram realizadas com pipetador eletrônico (Multipette®, Eppendorf SE, Madri, Espanha). A calibração instrumental para Sódio e Cálcio foi realizada com 7 soluções – SP<sub>0</sub> a solução branco e SP<sub>1</sub>, SP<sub>2</sub>, SP<sub>3</sub>, SP<sub>4</sub>, SP<sub>5</sub> e SP<sub>6</sub> contendo Sódio nas concentrações de 150, 250, 375, 500, 625 e 750  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , e Cálcio nas concentrações de 225, 375, 562,5, 750, 937,5 e 1125  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

As pesagens foram realizadas em balança analítica digital (XPR226DR/A, Mettler Toledo, Ohio, EUA). As amostras de Carbonato de Lítio foram obtidas dos fabricantes Blanver e Globe Química. Todas as medições de Sódio e Cálcio foram realizadas empregando espectrômetro de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (Optima 8000, Perkin Elmer, Massachusetts, EUA), munido de sistema de introdução de amostras composto por câmara ciclônica em vidro e nebulizador Miramist® tipo *parallel flow* em PEEK. A bomba peristáltica do espectrômetro carregou as soluções até o sistema de introdução de amostras a uma vazão constante de  $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  empregando tubulação Tygon código Black/Black para as soluções e tubulação Tygon código Red/Red para o descarte. A tocha em quartzo foi mantida a -3 mm do *Flat Plate*, indutor do plasma, e o tubo injetor empregado foi um tubo em alumina com D.I. de 2 mm. As observações no plasma foram realizadas em vista axial para Cálcio e vista radial para Sódio, ambas na configuração atenuada. A purga da ótica do espectrômetro foi realizada empregando vazão normal. O plasma de argônio (pureza  $\geq 99,99\%$ , White Martins, São Paulo, Brasil) foi mantido com potência de 1400 Watts e vazão do gás do plasma de  $15 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ , gás auxiliar de  $0,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  e nebulização de  $0,60 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ . A medições para Sódio foram realizadas em 393,366 nm e para Cálcio em 589,892 nm, a forma de aquisição dos espectros (*Read Time*) foi realizada de forma automática empregando 5 medições por análise. O tempo de estabilização do sinal (*Read delay time*) empregado foi de 80 segundos.

A amostragem das soluções analisadas, carregamento das soluções até o espectrômetro, foi realizada com um amostrador automático (Model S10, Perkin Elmer, Massachusetts, EUA). O tempo de lavagem empregado foi de 120 segundos, empregando troca da solução de lavagem do reservatório a taxa de  $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . A solução de lavagem empregada foi Ácido Nítrico a 2% v/v, preparada a partir de Ácido Nítrico  $\geq 65\%$  (grau traço, Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha).

As amostras foram preparadas a partir da pesagem de 125 mg de Carbonato de Lítio. A amostra foi transferida para frasco de centrifuga de  $50,0 \pm 0,25 \text{ mL}$ , onde esta foi convertida a cloreto pela adição cuidadosa de solução de Ácido Clorídrico  $5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  até a marcação de 40 mL. Após completo desprendimento do dióxido de carbono, o frasco foi completado para 50 mL com Ácido Clorídrico  $5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Esta solução foi diluída 5 vezes, uma alíquota de 3 mL da solução amostra foi transferida

para frasco de centrifuga de 15 mL, que foi completado com água ultrapura. Então a solução foi analisada no espectrômetro.

### 3. Resultados e Discussão

Na etapa inicial de desenvolvimento da metodologia analítica, foram realizados testes de solubilidade das amostras de Carbonato de Lítio em água ultrapura. A solubilização completa da amostra, 125 mg para 50 mL de água ultrapura, ocorreu sob aquecimento a temperatura de 80 °C. Apesar das amostras demonstrarem completa solubilidade em água ultrapura, as análises de Sódio e Cálcio mostraram a presença de efeito de matriz. Tal efeito de matriz foi verificado através de testes de recuperação de analito na solução amostra. Novos testes de solubilização foram realizados com objetivo solubilizar completamente a amostra e remover o Carbonato com o uso de Ácido Clorídrico. A remoção do Carbonato ocorre através da reação ácido-base que converte o Carbonato a Dióxido de Carbono que é removido na forma de gás. Foram realizados testes com Ácido Clorídrico nas concentrações de 1,0 e 5,0 mol.L<sup>-1</sup>.

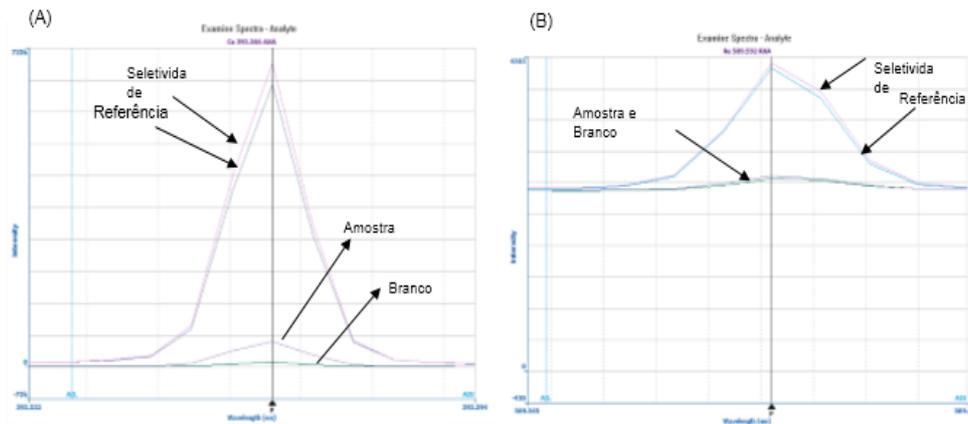
O emprego de solução de Ácido Clorídrico a 1,0 mol.L<sup>-1</sup> não foi capaz de remover quantitativamente o Carbonato da solução amostra, e os efeitos de matriz, apesar de minimizados, mantiveram-se. Já o uso de Ácido Clorídrico a 5,0 mol.L<sup>-1</sup> demonstrou eficiência na remoção do Carbonato. Isso pode ser verificado pois o efeito de matriz foi completamente resolvido.

#### Seletividade

A demonstração da seletividade do método pode ser realizada de diferentes formas. De forma geral, o objetivo da seletividade é demonstrar que possíveis interferentes, componentes da matriz da amostra, não interfiram positivamente ou negativamente nos resultados da análise. A seletividade ou especificidade é uma classificação de qualidade essencial em métodos analíticos. Ela se refere à capacidade do método de identificar e quantificar um analito específico em uma amostra, mesmo na presença de outros componentes, como impurezas ou componentes da matriz (conforme definido na RDC Nº 166/2017). De acordo com os critérios da RDC Nº 166/2017, a seletividade dos métodos de identificação deve ser demonstrada aplicando-se ensaios a substâncias que sejam estruturalmente semelhantes à análise de interesse. Com um método específico a concentração do componente pode ser determinada na íntegra independente da presença de outras substâncias na amostra (LACHMAN; A. LIEBERMAN; J. KANING, 2015).

Segundo as exigências da RDC nº 166/2017, para demonstrar a seletividade dos métodos de identificação, os ensaios devem ser aplicados a substâncias estruturalmente semelhantes ao analito, sendo o critério de aceitação a obtenção de resultado negativo. Desta forma, a avaliação da seletividade foi realizada por meio de análise qualitativa, sendo esta uma avaliação visual dos espectros de emissão e comparação das intensidades dos sinais analíticos e, de análise quantitativa, obtida por meio da avaliação do teste de Exatidão.

A Figura 1 apresenta a avaliação visual dos espectros de emissão para (A) Cálcio e (B) Sódio. A Tabela 1 apresenta as respostas numéricas para os sinais analíticos obtidos pelas análises das soluções Branco (Ácido Clorídrico 5 mol.L<sup>-1</sup>), Referência Cálcio (padrão de cálcio), Referência Sódio (padrão de sódio), Amostra (matéria prima de Carbonato de lítio) e Seletividade (padrão de mercúrio, cobalto e molibdênio).



**Figura 1** – Espectros de emissão de (a) Ca 393.366 e (b) Na 589.592, obtidos nas análises das soluções empregadas no estudo da seletividade em Carbonato de Lítio.

**Tabela 1** – Dados de intensidade do sinal analítico para avaliação da seletividade para as impurezas cálcio e sódio.

Solução	Intensidade	
	Ca 393.366	Na 589,892
Branco	964,8	-87,2
Referência	1300479,8	3207,7
Amostra	99527,3	-15,1
Seletividade	1403203,1	3347,3

Um método específico deve ser capaz de resolver do pico de interesse todos os outros componentes, inclusive impurezas (LACHMAN; A. LIEBERMAN; J. KANING, 2015). Como pode-se observar, tanto na Tabela 1, quanto na Figura 1, as áreas das soluções referência de Cálcio e Sódio são maiores que a área da solução branco, e a área da solução seletividade é maior que a área da solução amostra, indicando que o método é capaz de identificar os analitos de interesse em meio a matriz e na presença de potenciais interferentes (solução seletividade). Além disso, não foram observadas interferências espectrais, uma vez que o espectro da solução Referência e Seletividade apresentaram intensidades correspondentes aos analitos Sódio e Cálcio, como pode ser observado na Figura 1.

### Linearidade

A linearidade de um método analítico indica como os parâmetros, como a absorvância, a altura do pico, a área ou a intensidade da resposta, se comportam em relação à concentração do analito que está sendo medido. Para avaliar essa linearidade, é necessário utilizar pelo menos cinco concentrações diferentes de uma solução padrão idêntica, e é recomendável fazer pelo menos três replicatas para cada uma dessas concentrações. É importante que essas concentrações estejam dentro de uma faixa que abranja de 80% a 120% ou mesmo 50% a 150% do intervalo de trabalho esperado para o método (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2015).

Desta forma, a avaliação da linearidade do método foi efetuada mediante a obtenção de curva analítica com seis níveis de concentração e com cinco réplicas para cada nível, compreendendo o intervalo de 30% a 150% da concentração nominal

dos analitos estudados. Cada uma das 6 diferentes curvas de calibração foi preparada a partir de uma solução padrão estoque diferente.

A avaliação estatística foi realizada empregando a aplicação do programa estatístico Action Stat®. A Tabela 2 apresenta o resumo dos resultados obtidos durante o estudo da linearidade para as linhas de emissão de Ca 393.366 e Na 589,592.

**Tabela 2** – Resumo das conclusões do estudo de linearidade para a impureza Cálcio usando o método dos mínimos quadrados ponderados e sódio usando o método dos mínimos quadrados ordinários.

Teste	Conclusão	
	Ca 393.366	Na 589.592
Teste F da ANOVA	Não rejeitamos a significância do modelo linear	Não rejeitamos a significância do modelo linear
Teste do Intercepto	Intercepto significativo	Intercepto significativo
Coefficiente de Correlação de Pearson	R = 0.9997 que é maior que o proposto (0,99)	R = 0.999 que é maior que o proposto (0,99)
Teste de Normalidade dos Resíduos	Não rejeitamos a hipótese de normalidade dos resíduos	Não rejeitamos a hipótese de normalidade dos resíduos
Teste de Homocedasticidade	Não rejeitamos a homocedasticidade da variância	Não rejeitamos a homocedasticidade da variância
Valores extremos na resposta	Não detectamos pontos extremos.	Não detectamos pontos extremos.
Teste de independência das observações	Não detectado dependência das observações	Não detectado dependência das observações

A análise estatística demonstrou o cumprimento dos critérios estabelecidos para o parâmetro de linearidade, e desta forma, pode-se considerar o método linear. A avaliação dos resíduos demonstrou que a distribuição destes é homocedástica, apresenta normalidade, apresentam independência e valores extremos (*outliers*) não foram observados. Considera-se então, a faixa de trabalho para cálcio de 225,0 a 1125,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$  como sendo linear, enquanto que para a sódio a faixa de trabalho com linearidade comprovada foi de 150,0 a 750,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . A análise estatística realizada no estudo da Linearidade demonstrou que o intercepto é significativo, contudo tendo em vista que o método a ser utilizado em rotina analítica empregará calibração externa por meio de curva de calibração com 6 concentrações distintas, abrangendo a faixa entre 30% a 150 %, o efeito do intercepto para os resultados não será observado.

#### Limite de quantificação

Conforme definido no capítulo da USP<730>, o Limite de Quantificação (LQ) representa a menor quantidade de analito que pode ser quantificada com níveis aceitáveis de precisão e exatidão, dentro das condições experimentais utilizadas. O LQ é estimado ao calcular o desvio padrão de 10 medidas replicadas de uma solução em branco e, em seguida, multiplicar esse valor por 10. Matematicamente, o LQ pode ser calculado usando a seguinte fórmula:  $LQ = 10DP + C_{branco}$ . É importante destacar que o valor do LQ deve ser igual ou inferior à concentração mais baixa que foi experimentalmente determinada com precisão e exatidão (nível de 30%).

Para este estudo foram consideradas como LQ, as concentrações iguais à menor concentração usada para curva de calibração, a mesma utilizada como a menor

concentração empregada no teste de Linearidade. Abaixo são demonstrados os resultados para as concentrações de 10 soluções branco independentes e os resultados para os LQs dos analitos estudados.

**Tabela 3** – Limite de quantificação.

Soluções	Ca		Na	
	Conc., $\mu\text{g.L}^{-1}$	Limite de quantificação, $\mu\text{g.L}^{-1}$	Conc., $\mu\text{g.L}^{-1}$	Limite de quantificação, $\mu\text{g.L}^{-1}$
Branco (1)	1,05		17,23	
Branco (2)	0,04		7,35	
Branco (3)	0,86		2,68	
Branco (4)	-0,19		-7,73	
Branco (5)	-0,22		-8,45	
Branco (6)	-0,93	8,3	0,42	80,4
Branco (7)	-0,61		-5,68	
Branco (8)	-0,25		-3,69	
Branco (9)	-0,41		-6,99	
Branco (10)	1,67		-0,15	
Desvio padrão	0,8		8	

O limite de quantificação obtido por meio da análise de 10 soluções branco foi de 8,3  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para cálcio e 80,4  $\mu\text{g.L}^{-1}$  para sódio, sendo assim a menor concentração do analito avaliado em toda a faixa de trabalho não deve ser inferior a esta.

#### Faixa de trabalho

De acordo com o capítulo descrito pela USP<730>, faixa de trabalho é o intervalo entre as concentrações superiores e inferiores do analito na amostra para o qual foi demonstrado que o procedimento analítico tem um nível adequado de precisão, exatidão e linearidade que é demonstrado pelo atendimento aos requisitos desses parâmetros, demonstrando que o método em questão é linear, preciso e exato. Os analitos estudados foram avaliados na faixa de 30% a 150% das especificações. Diante disso, as faixas de trabalho foram comprovadas por meio dos estudos de linearidade, precisão e exatidão. A Faixa de trabalho de 450 a 2250  $\mu\text{g.g}^{-1}$  foi demonstrada para cálcio como sendo adequada, enquanto que para sódio a faixa considerada adequada foi de 300 a 1500  $\mu\text{g.g}^{-1}$ .

#### Precisão

A precisão refere-se a dispersão de um conjunto de valores a volta de um valor central e é geralmente expresso como o desvio padrão de uma série de medições obtidas para uma amostra (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2015). Assim, é demonstrada em termos de desvio padrão relativo (DPR) que é a razão entre o desvio padrão de um grupo de dados e o valor médio do mesmo, multiplicado por 100. De acordo com o capítulo descrito pela USP<730>, o procedimento analítico é avaliado medindo as concentrações de seis soluções de amostra preparadas independentemente em 100% em relação a sua especificação.

Conforme o capítulo USP<730>, para avaliar a precisão, é recomendado realizar previsões em dias diferentes, utilizando instrumentação distinta, ou

executando o método por dois ou mais analistas. O ideal é que, no mínimo, três experimentos sejam realizados, considerando qualquer combinação desses fatores, a fim de obter uma estimativa da precisão intermediária.

A precisão do método analítico foi verificada em dois níveis: precisão I e II (repetibilidade) e precisão intermediária, esta última verificada através dos dados obtidos de 2 testes de precisão, sendo estes realizados em dias diferentes e por analistas diferentes.

**Tabela 4** – Resultados para o estudo de precisão (1) e (2) e precisão intermediária para Cálcio em Carbonato de Lítio.

	Precisão (1)	Precisão (2)	Precisão intermediária
[Ca] <sub>rec</sub> , %	102,5	99,7	
	102,1	97,8	
	102,7	97,2	
	100,9	98,4	-
	98,2	98	
	100,6	98,4	
<i>Média</i>	<i>101,2</i>	<i>98,3</i>	<i>99,7</i>
<i>DPR (%)</i>	<i>1,5</i>	<i>0,8</i>	<i>2</i>
<b>Especificação (%)</b>	<b>≤ 20,0</b>		<b>≤ 25,0</b>

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos das precisões I (repetibilidade), precisão II e precisão Intermediária para Cálcio em amostra de Carbonato de Lítio. O estudo de repetitividade para o Analito Cálcio demonstrou DPRs para as precisões I e II de 1,5% e 0,8%, respectivamente. A precisão intermediária, teve DPR de 2,0%, valor este adequado quando comparado aos critérios de aceitação preconizados pela USP<730>. Sendo estes de ≤ 20,0% e ≤ 25,0%, para precisão (repetibilidade) e precisão intermediária, respectivamente.

**Tabela 5** – Resultados para o estudo de precisão [(1) e (2)] e precisão intermediária para Sódio em Carbonato de Lítio.

	Precisão (1)	Precisão (2)	Precisão intermediária
[Na] <sub>rec</sub> , %	100,8	99,3	
	104,9	99,4	
	103,7	99,1	
	101,9	97,7	
	101,6	98,4	
	103,7	98,3	
<i>Média</i>	<i>102,8</i>	<i>98,7</i>	<i>100,7</i>
<i>DPR (%)</i>	<i>1,4</i>	<i>0,7</i>	<i>2,4</i>
<b>Especificação (%)</b>	<b>≤ 20,0</b>		<b>≤ 25,0</b>

A tabela 5 apresenta os resultados obtidos das precisões I (repetibilidade), precisão II e precisão Intermediária para Sódio em amostras de Carbonato de Lítio. O estudo de repetitividade demonstrou DPRs para as precisões I e II de 1,4% e 0,7%, respectivamente. A precisão intermediária, teve DPR de 2,4%, valores estes abaixo

dos critérios de aceitação preconizados pela USP <730>, que são de  $\leq 20,0\%$  e  $\leq 25,0\%$ , para precisão (repetibilidade) e precisão intermediária, respectivamente.

### Exatidão

De acordo com a RDC 166/2017, a exatidão de um método analítico deve ser obtida por meio do grau de concordância entre os resultados individuais do método em relação a um valor aceito como verdadeiro. Deve ser verificada a partir de, no mínimo, 9 determinações, contemplando o intervalo linear do método analítico, ou seja, 3 concentrações: baixa, média e alta, com 3 réplicas em cada nível. As amostras para devem ser preparadas de maneira independente, podendo ser utilizadas soluções diluídas de uma mesma solução mãe da SQR (Substância Química de Referência).

O teste de recuperação foi realizado utilizando concentrações conhecidas das soluções padrões para os níveis de concentração de 30%, 100% e 150% da especificação.

Na Tabela 6 são mostrados os resultados da exatidão para Cálcio em Carbonato de Lítio. As recuperações médias foram de 100,1%, 100,0% e 98,6% para as concentrações relativas de 30%, 100% e 150%, respectivamente. Os valores de DPR para todos os níveis avaliados foram abaixo da especificação ( $\leq 20,0\%$ ) sendo os valores de 0,4%, 1,1% e 0,6%, respectivamente. Todos os valores foram considerados satisfatórios tendo em vista os critérios de aceitação descritos na USP<730>.

**Tabela 6** – Resultados do estudo de exatidão para Cálcio nos níveis baixo, médio e alto em Carbonato de Lítio.

	Exatidão 30%	Exatidão 100%	Exatidão 150%
[Ca] <sub>rec</sub> , %	99,4	101,2	98,6
	100,4	99	98
	100,4	99,6	99,2
Média (%)	100,1	100	98,6
DPR (%)	0,4	1,1	0,6
<b>Especificação</b>	<b>Recuperação: 70,0 – 150,0%</b>		
	<b>DPR: <math>\leq 20,0\%</math></b>		

Na Tabela 7 são mostrados os resultados da exatidão para Sódio em Carbonato de Lítio. As recuperações médias foram de 102,1%, 100,8% e 99,0% para as concentrações relativas de 30%, 100% e 150%, respectivamente. Os valores de DPR para todos os níveis avaliados foram abaixo da especificação, sendo os valores de 1,3%, 1,9% e 1,1%, respectivamente. Todos os valores foram considerados satisfatórios tendo em vista os critérios de aceitação descritos na USP <730>.

**Tabela 7** – Resultados do estudo de exatidão para Sódio nos níveis baixo, médio e alto em Carbonato de Lítio.

	Exatidão 30%	Exatidão 100%	Exatidão 150%
	104,4	103,3	97,7
[Na] <sub>rec</sub> , %	100,9	99,5	99,6
	101	99,7	99,8
<i>Média (%)</i>	<i>102,1</i>	<i>100,8</i>	<i>99</i>
<i>DPR (%)</i>	<i>1,3</i>	<i>1,9</i>	<i>1,1</i>
<b>Especificação</b>	<b>Recuperação: 70,0 – 150,0%</b>		
	<b>DPR: ≤ 20,0%</b>		

### Robustez

A robustez indica a capacidade do método analítico em resistir a pequenas e determinadas variações das condições experimentais (L. Schons, 2019). Caso haja susceptibilidade do método a variações nas condições analíticas, estas deverão ser controladas por meio de precauções descritas no método (RDC 166/2017). De acordo com o capítulo descrito pela USP<730>, a robustez é demonstrada pelo cumprimento dos requisitos de precisão intermediária, sendo essa, a média das precisões I e II. Assim, para avaliação da robustez foi empregado apenas o estudo de estabilidade da amostra. Outros parâmetros como tempo de extração, filtração, variação do pH, temperatura não se aplicam ao método ou a técnica utilizada, e por isso não foram avaliados.

A estabilidade das soluções amostra foram verificadas mediante reanálise de soluções utilizadas no teste de precisão do método analítico (soluções branco, amostra e precisão). A reanálise foi realizada após 24 horas do teste de precisão. Os resultados obtidos foram avaliados em termos de recuperação e são mostrados nas Tabela 8 e Tabela 9.

**Tabela 8** – Resultados obtidos para o estudo de estabilidade de Cálcio em soluções teste.

	Precisão	Reanálise	P <sub>i</sub> <sup>1</sup>
			P <sub>i</sub> <sup>2</sup>
	99,7	100,4	
	97,8	102	
[Ca] <sub>rec</sub> , %	97,2	102	
	98,4	101,3	-
	98	101,1	
	98,4	99,9	
<i>Média</i>	<i>98,3</i>	<i>101,1</i>	<i>99,7</i>
<i>DPR (%)</i> <sup>2</sup>	<i>0,8</i>	<i>0,8</i>	<i>1,7</i>
<i>Especificação</i>	<b>70,0 – 150,0%</b>		
<i>Recuperação (%)</i>	<b>70,0 – 150,0%</b>		
<b>Especificação DPR (%)</b>	<b>≤ 20,0%</b>		<b>≤ 25,0%</b>

<sup>1</sup> Resultados obtidos a partir da Precisão (1) e a reanálise.

<sup>2</sup> Os DPRs foram calculados com base nas concentrações (µg.L<sup>-1</sup>) obtidas das soluções analisadas na precisão e sua reanálise após repouso de 24h.

**Tabela 9** – Resultados obtidos para o estudo de estabilidade de Sódio em soluções teste.

	Precisão	Reanálise	$p_i^1$
			$p_i^2$
[Na] <sub>rec</sub> , %	99,3	99,6	
	99,4	101,4	
	99,1	100,9	
	97,7	101,4	
	98,4	101,8	
	98,3	101,2	
<i>Média</i>	98,7	101	99,9
<i>DPR (%)<sup>2</sup></i>	0,7	0,8	1,4
<i>Especificação Recuperação (%)</i>	<b>70,0 – 150,0%</b>		
<i>Especificação DPR (%)</i>	<b>≤ 20,0%</b>		<b>≤ 25,0%</b>

<sup>1</sup> Resultados obtidos a partir da Precisão (1) e a reanálise.

<sup>2</sup> Os DPRs foram calculados com base nas concentrações ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ ) obtidas das soluções analisadas na precisão e sua reanálise após repouso de 24h.

Os resultados das Tabelas 8 e 9 demonstram que as recuperações ficaram dentro da faixa especificada pela USP <730>, que é de 70,0 a 150,0%, a recuperação de cálcio foi de 99,7% e sódio 99,9%. Quanto ao DPR ficou 1,4, sendo que a especificação é de  $\leq 20,0\%$  de DPR para as precisões repetibilidades e  $\leq 25,0\%$  de DPR para a análise de impurezas na precisão intermediária. Assim, as soluções amostram possuem estabilidade de pelo menos 24 horas para ambos os analitos.

#### 4. Conclusão

Por meio da avaliação dos parâmetros de seletividade, linearidade, limite de quantificação, faixa de trabalho, precisão (repetibilidade), precisão intermediária, exatidão e robustez para quantificação de Cálcio e Sódio em Carbonato de Lítio, foi comprovado que a proposta de método analítico atende aos requisitos estipulados pela legislação vigente. Além disso, os resultados indicam que o preparo das amostras é estável por um período de 24 horas. Essa descoberta é de grande relevância, pois permite a preparação antecipada de amostras sem impacto na precisão do método.

Em resumo, o estudo valida a robustez e a eficácia do método analítico proposto para a quantificação de cálcio e sódio em carbonato de lítio, atendendo às exigências regulatórias e fornecendo uma ferramenta confiável para futuras análises nesse campo de pesquisa.

## Referências

ALMEIDA, Agostinho. O Lítio na bioquímica e terapêutica. **Revista de Ciência Elementar**, v.8, [S. l.], 2020. Disponível em: <https://rce.casadasciencias.org/rceapp/art/2020/036/>. Acesso em: 10 abr. 2023.

ANVISA. **Guia para impurezas elementares**: Conferência internacional sobre a harmonização de exigências técnicas para o registro de produtos farmacêuticos de uso humano (ICH), 2019. Disponível em: [guia-ich-q3d-r1-rev2.pdf](#). Acesso em: 9 maio 2023.

BRASIL. **Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017**. Disponível em: [https://www.uspfnf.com/sites/default/files/usp\\_https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC\\_166\\_2017\\_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401](https://www.uspfnf.com/sites/default/files/usp_https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401). Acesso em 05 de fevereiro de 2023.

CARBONATO DE LÍTIO: comprimido revestido. Responsável técnico Ivanete A. Dias Assi. São Paulo: EUROFARMA LABORATÓRIOS SA, 2019. Disponível em: <https://eurofarma.com.br/produtos/bulas/patient/pt/bula-carbonato-delitio.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2023

COLZATO, Marina. **Fundamentos ICP OES**. Google, 2020. Disponível em: <https://cmaa.esalq.usp.br/fundamentos-icp-oes/>. Acesso em: 03, abr. 2020. Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia. Pubchem. 2023. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lithiumcarbonate#section=Computed-Properties>. Acesso em: 15, abr. 2023.

DRUGBANK. CÁTION de lítio. [S. l.], 2023. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01356>. Acesso em: 4 abr. 2023.

EHREN, Peter e ALEM, Jose de Castro. Process for producing lithium carbonate from concentrated lithium brine. United States Patent Application Publication. US 2014/0334997 A1. Nov. 13, 2014.

FERREIRA P., Glauca M. As principais vantagens do uso de ICP-OES e ICPMS na determinação de impurezas elementares em medicamentos. Google, 2022. Disponível em: < <https://cromvallab.com/2022/07/18/as-principaisvantagens-do-uso-de-icp-oes-e-icp-ms-na-determinacao-de-impurezaselementares-em-medicamentos/L>>. Acesso em: 05, abr. 2023.

FERREIRA P., Glauca M. As principais vantagens do uso de ICP-OES e ICPMS na determinação de impurezas elementares em medicamentos. Google, 2022. Disponível em: < <https://cromvallab.com/2022/07/18/as-principaisvantagens-do-uso-de-icp-oes-e-icp-ms-na-determinacao-de-impurezaselementares-em-medicamentos/L>>. Acesso em: 05, abr. 2023.

GINE, Maria. **Espectrometria de emissão atômica**: Plasma Acoplado Indutivamente. (ICP-AES). V.3. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA, 1998. Disponível em:

file:///D:/Arquivos%20Usu%C3%A1rio/Downloads/5%20-%20Livro%20ICP%20OES%20Maria%20Gin%C3%A9%20(CENA).pdf. Acesso em: 12 abr. 2023.

GOODWIN, GUY; SACHS, Gary. **Transtorno Bipolar**. [S. l.]: Impresso Brasil, 2012. Disponível em: [http://www.sbamt.org.br/docs/Livro\\_trans\\_bip.pdf](http://www.sbamt.org.br/docs/Livro_trans_bip.pdf). Acesso em: 16 maio 2023.

KAPCZINSKI, Flávio; QUEVEDO, João. **Transtorno bipolar: Teoria e clínica**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Disponível em: <http://www.repositorio.bahiana.edu.br/jspui/bitstream/bahiana/3478/1/ARTIGO%20-%20ANDR%C3%89%20CARIB%C3%89%20-%202019.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2023.

KENNETH J., Charles; FREDEEN, Boss. **Conceitos, Instrumentação e Técnicas Em Indução Óptica de Plasma Acoplado Espectrometria de Emissão**. EUA: Perkin-Elmer Corporation 1997.

LACHMAN, Leon; LIEBERMAN, Herbert; KANING, Joseph. **Teoria e pratica na indústria farmacêutica**. 3 ed. Lisboa: Fundação Kalouste Gulbenkian, 2015.

FOUNTOULAKIS, Konstantinos N; TOHEN, Mauricio; ZARATE, Carlos A. Lithium treatment of bipolar disorder in adults: A systematic review of randomized trials and meta-analyses. **European Neuropsychopharmacology**, v. 54, p. 100–115, 2022.

MARTINS, Luís et al. **Valorização de pegmatitos litiníferos**. [s.n.]. Lisboa: Edição Eletrônica e Capa: Fátima Engel ,2011. Disponível em: <https://www.prospeg.org/wp-content/uploads/2017/06/PDF-Livro-Pegmatitos-1.pdf>. Acesso em: 20 de abr. 2023.

PACHOLKO, Anthony; BEKAR, Lane. Lithium orotate: A superior option for lithium therapy? *Brain and Behaviour*, [S. l.], v. 11, p. 1-15, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/brb3.2262>. Acesso em: 05, abr. 2023.

TALENS PEIRÓ, Laura; VILLALBA MÉNDEZ, Gara; AYRES, Robert U. Lithium: Sources, Production, Uses, and Recovery Outlook. **JOM**, v. 65, n. 8, p. 986–996, 2013.

USP: 730 ESPECTROQUÍMICA DE PLASMA. Convenção Farmacopéica dos Estados Unidos: [s. n.], 2018. Disponível em: [https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp\\_pdf/EN/USPNF/usp-nf/notices/m74200.pdf](https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/usp-nf/notices/m74200.pdf) Acesso em 05 de fevereiro de 2023.

ZIMMERMANN, Lucineia et al. Proposta de metodologia analítica para determinação de Arsênio e Selênio em sacarina sódica dihidratada pela técnica de HG-ICP OES. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, Toledo, p. 1-23, jul., 2013. Disponível em: <https://revistajrg.com/index.php/jrg/article/view/607>. Acesso em: 9 maio de 2023.