



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

DÊNIS GOMES DE MELO

**VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CARBONATO DE CÁLCIO EM
CÁPSULAS POR TITULAÇÃO COMPLEXOMÉTRICA**

FORTALEZA

2022

DÊNIS GOMES DE MELO

VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CARBONATO DE CÁLCIO EM
CÁPSULAS POR TITULAÇÃO COMPLEXOMÉTRICA

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Química com Habilitação Industrial.

Orientadora Pedagógica: Prof^ª. Dr^ª. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro

Orientadora profissional: Prof^ª. Dr^ª. Cristiani Lopes C. G. de Oliveira

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M485v Melo, Dênis Gomes de.
Validação da determinação do teor de carbonato de cálcio em cápsulas por titulação complexométrica /
Dênis Gomes de Melo. – 2022.
56 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Química, Fortaleza, 2022.
Orientação: Profa. Dra. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro.
Coorientação: Profa. Dra. Cristiani Lopes Capistrano Gonçalves de Oliveira.
1. Validação. 2. Carbonato de cálcio. 3. Titulação. 4. EDTA. 5. Controle de qualidade. I. Título.
CDD 540
-

DÊNIS GOMES DE MELO

VALIDAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CARBONATO DE CÁLCIO EM
CÁPSULAS POR TITULAÇÃO COMPLEXOMÉTRICA

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Química do Departamento de Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Química com Habilitação Industrial.

Aprovada em: ___/___/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro (Orientadora Pedagógica)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Cristiani Lopes C. G. de Oliveira (Orientadora Profissional)
Diretora da Farmácia Escola /FFOE/UFC

Ma. Jéssica de Castro Fonseca (Examinadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À minha família

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado força para superar todos obstáculos durante essa caminhada

À minha mãe, Sônia, e aos meus irmãos, Leandro e Rosiane, por todo apoio e pelo companheirismo. Por sempre acreditarem em mim.

Aos meus amigos, Dayane e Eduardo, pelas trocas de experiências e por estarem sempre presentes nos momentos de alegria e dificuldades.

Aos meus professores de Inorgânica, Dr. Luiz Grombone e Dr. Francisco Dias, por terem a dedicação em ensinar essa área tão linda.

Ao professor Dr. Antoninho, pela sua dedicação e simplicidade. Esteve presente do início ao fim desta etapa da minha vida, ora ensinado, ora dando auxílio.

À professora Dra Maria Idalina, por ser minha orientadora nas duas oportunidades que fui monitor. Suas orientações e dicas contribuíram muito para minha evolução durante esse período.

À professora Dra. Maria Elenir, minha orientadora pedagógica, pela oportunidade, paciência e dedicação. Agradeço seu empenho em me ajudar.

À professora Dra. Cristiani, minha orientadora profissional, por abrir as portas da Farmácia Escola para realização deste trabalho.

Às farmacêuticas responsáveis pelo laboratório de controle de qualidade físico-química, Janete e Adriana, pela paciência e dedicação durante esse período que estive lá.

À minha esposa e filho, Emiliana e Davi, por estarem sempre ao meu lado independente da circunstância. Nos momentos mais difíceis, basta parar e olhar para vocês que toda a angústia dá lugar à alegria.

“Sonhos determinam o que
você quer. Ação determina o
que você conquista.”

Aldo Novak

RESUMO

O cálcio desempenha uma gama de funções fisiológicas importantes no organismo humano, além de ser um dos constituintes da estrutura óssea. Pessoas com deficiência desse mineral necessitam de suplementação para evitar males ocasionados pelos baixos níveis no organismo. Na Farmácia Escola FFOE/UFC são disponibilizadas quatro formas de suplementos de carbonato de cálcio. Por se tratar de produtos destinados ao consumo humano, os padrões de qualidade e segurança devem ser garantidos por um rígido controle de qualidade. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo validar a determinação do teor de carbonato de cálcio em cápsulas por titulação complexométrica para o Laboratório de Controle de Qualidade Físico-Químico. A elaboração deste trabalho teve uma etapa experimental e posteriormente a análise estatística dos dados e interpretação. Para a validação do método foram seguidas as normas estabelecidas pela ANVISA por meio da RDC 166/17. A seletividade mostrou não existir diferenças significativas entre as amostras. A linearidade obteve alta correlação linear ($r = 0,9999$). A precisão apresentou DPR que variaram de 0,41% a 1,12% entre as marchas analíticas. A exatidão obteve recuperação do padrão entre 97,91% a 98,54%. A robustez teve resultados de efeito A/a (0,57 e 0,29) menores que o valor de referência (2,06 e 2,30). As amostras de carbonato de cálcio analisadas apresentaram teores que variaram de 94,48% a 107,49%. Após a avaliação de todos os parâmetros, os resultados obtidos demonstraram que a metodologia segue todas as exigências, portanto, é apta para ser utilizada nas determinações. Após a validação, as amostras de carbonato de cálcio em cápsulas foram avaliadas pelo método, sendo que ambas mostram estarem conforme os padrões de qualidade definidos pela Farmacopeia Brasileira. Por fim, tanto a metodologia em questão quanto às amostras analisadas por ela, apresentaram resultados que demonstraram estarem nos padrões exigidos pelas normas vigentes.

Palavras-chave: Validação; Carbonato de cálcio; Titulação; EDTA; Controle de qualidade.

ABSTRACT

Calcium plays a range of important physiological functions in the human body, besides being one of the constituents of bone structure. People with deficiency of this mineral need supplementation to avoid diseases caused by low levels of it in the body. Four forms of calcium carbonate supplements are available at the Farmácia Escola FFOE/UFC. Because they are products intended for human consumption, quality and safety standards must be guaranteed by strict quality control. In this context, the present work should aim to validate the determination of calcium carbonate content in capsules by complexometric titration for Laboratório de Controle de Qualidade Físico-Químico. The elaboration of this work had an experimental stage and later the statistical analysis of the data and interpretation. For the validation of the method, it was followed by the standards established by ANVISA through RDC 166/17. Selectivity showed no significant differences between the samples. Linearity obtained a high linear correlation ($r = 0.9999$). The accuracy presented DPR ranging from 0.41% to 1.12% between the analytical gears. The accuracy obtained recovery of the pattern between 97.91% and 98.54%. Robustness had a/a effect results (0.57 and 0.29) lower than the reference value (2.06 and 2.30). The calcium carbonate samples analyzed presented levels ranging from 94.48% to 107.49%. After evaluating all parameters, the results obtained showed that the methodology follows all requirements and, therefore, is suitable for use in determinations. After validation, the samples of calcium carbonate in capsules were evaluated by the method, both of which showed to be in compliance with the quality standards defined by the Farmacopeia brasileira. Finally, both the methodology in question and the samples analyzed by it presented results that demonstrated that they were within the standards required by the current regulations.

Keywords: Validation; Calcium carbonate; Titration; EDTA; Quality control.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Formas farmacêuticas de carbonato de cálcio em cápsulas..... | 13 |
| Figura 2: Frasco de carbonato de cálcio em cápsulas..... | 16 |
| Figura 3: Complexo EDTA:Ca ²⁺ | 17 |
| Figura 4: Processo genérico de troca de ligantes em uma titulação complexométrica | 18 |
| Figura 5: Estrutura química do EDTA dissódico..... | 19 |
| Figura 6: pH mínimo para a formação do quelato EDTA-Ca..... | 20 |
| Figura 7: Estrutura química do indicador..... | 21 |
| Figura 8: Curvas com comportamentos homocedástico (A) | 26 |
| Figura 9: Cor da solução antes (rosa) e após (azul) a titulação. | 36 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1: Resultados e análise das três curvas individuais. | 39 |
| Gráfico 2: Análise da existência de homocedasticidade dos dados pelo método de Breush-Pagan. | 40 |
| Gráfico 3: Histograma com distribuição normal e testes para evidenciar a normalidade dos erros. | 40 |
| Gráfico 4: Resultados dos resíduos Studentizados. | 41 |
| Gráfico 5: Curva obtida pelas determinações dos três dias e sua avaliação estatística. | 41 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Informações e propriedades do quelante EDTA dissódico. | 19 |
| Tabela 2: Informações gerais do indicador Azul de Hidroxinaftol..... | 21 |
| Tabela 3: Expressões que compõem ANOVA. | 24 |
| Tabela 4: Massas para preparo das amostras da recuperação do padrão. | 32 |
| Tabela 5: Condições para os fatores normais e alterados no ensaio de Robustez. | 33 |
| Tabela 6: Combinação fatorial de parâmetros analíticos para avaliação da robustez pelo Teste de Youden. | 33 |
| Tabela 7: Termos e expressões para os cálculos do VA..... | 37 |
| Tabela 8: Porcentagens obtidas pelas determinações experimentais e Análise ANOVA..... | 38 |
| Tabela 9: Resultados intra e inter dia da precisão das amostras. | 42 |
| Tabela 10: Resultados das recuperações das amostras entre os níveis de padrão adicionado. | 43 |
| Tabela 11: Resultados obtidos pelo teste de Youden. | 44 |
| Tabela 12: Resultados das determinações do teor e da uniformidade de conteúdo por variação de peso. | 45 |
| Tabela 13: Resultados das determinações do teor e da uniformidade de conteúdo por variação de peso. | 45 |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 | OBJETIVOS | 15 |
| 2.1 | Objetivo Geral | 15 |
| 2.2 | Objetivos específicos | 15 |
| 3 | REFERENCIAL TEÓRICO | 16 |
| 3.1 | Carbonato de cálcio | 16 |
| 3.2 | Titulação complexométrica | 18 |
| 3.2.1 | <i>Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA)</i> | 19 |
| 3.2.2 | <i>Azul de Hidroxinaftol (HBN)</i> | 20 |
| 3.3 | Validação | 21 |
| 3.3.1 | <i>Seletividade</i> | 22 |
| 3.3.2 | <i>Linearidade</i> | 22 |
| 3.3.3 | <i>Precisão</i> | 22 |
| 3.3.4 | <i>Exatidão</i> | 23 |
| 3.3.5 | <i>Robustez</i> | 23 |
| 3.4 | Análise estatística | 23 |
| 3.4.1 | <i>Análise de variância (ANOVA)</i> | 23 |
| 3.4.2 | <i>Homocedasticidade</i> | 25 |
| 3.4.3 | <i>Normalidade dos erros e Outliers</i> | 26 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 28 |
| 4.1 | Materiais | 28 |
| 4.1.1 | <i>Frascos de Carbonato de Cálcio</i> | 28 |
| 4.1.2 | <i>Reagentes</i> | 28 |
| 4.1.3 | <i>Vidrarias</i> | 28 |
| 4.1.4 | <i>Equipamentos</i> | 28 |
| 4.2 | Métodos | 28 |
| 4.2.1 | <i>Validação do método analítico</i> | 28 |

| | | |
|---------|--|----|
| 4.2.1.1 | <i>Seletividade</i> | 29 |
| 4.2.1.2 | <i>Linearidade</i> | 30 |
| 4.2.1.3 | <i>Precisão</i> | 31 |
| 4.2.1.4 | <i>Exatidão</i> | 32 |
| 4.2.1.5 | <i>Robustez</i> | 32 |
| 4.2.2 | <i>Determinação do teor de Carbonato de Cálcio</i> | 34 |
| 4.2.2.1 | <i>Determinação do peso médio com incerteza de medição</i> | 34 |
| 4.2.2.2 | <i>Ensaio para doseamento</i> | 35 |
| 4.2.2.3 | <i>Uniformidade de conteúdo por variação de peso</i> | 36 |
| 5 | RESULTADOS E DISCURSSÃO | 38 |
| 5.1 | Validação do método analítico | 38 |
| 5.1.1 | <i>Seletividade</i> | 38 |
| 5.1.2 | <i>Linearidade</i> | 39 |
| 5.1.3 | <i>Precisão</i> | 42 |
| 5.1.4 | <i>Exatidão</i> | 43 |
| 5.1.5 | <i>Robustez</i> | 44 |
| 5.2 | Determinação do teor de Carbonato de Cálcio | 44 |
| 6 | CONCLUSÃO | 46 |
| | REFERÊNCIAS | 47 |
| | APÊNDICE A – DADOS DO PARÂMETRO SELETIVIDADE | 50 |
| | APÊNDICE B – DADOS DO PARÂMETRO LINEARIDADE | 51 |
| | APÊNDICE C – DADOS GERAIS DO PARÂMETRO PRECISÃO | 52 |
| | APÊNDICE D – DADOS DO PARÂMETRO EXATIDÃO | 53 |
| | APÊNDICE E – DADOS DO PARÂMETRO ROBUSTEZ | 55 |
| | APÊNDICE F – DADOS DAS AMOSTRAS E REAGENTES | 56 |

1 INTRODUÇÃO

O cálcio desempenha uma gama de funções fisiológicas importantes no organismo humano. Dentre elas, é essencial para a integridade funcional dos nervos e músculos, liberação de neurotransmissores nas sinapses, influencia na excitabilidade neuromuscular e é um importante constituinte do sistema esquelético. Em relação à fonte deste mineral, destaca-se o carbonato de cálcio, pois 40% de sua massa é constituída pelo mineral (CINTRA, 2019).

Na Farmácia Escola/FFOE/UFC são produzidas e disponibilizadas quatro formas distintas deste suplemento a base de carbonato de cálcio. As formas oferecidas para o público são, principalmente, indicadas para a reposição do mineral para prevenção da osteoporose. Para potencializar a absorção pelo organismo, a maioria dos produtos oferecidos têm em suas composições quantidades distintas de colecalciferol (vitamina D3). A **Figura 1** abaixo expõe as formas farmacêuticas dos suplementos disponíveis na Farmácia Escola:

Figura 1: Formas farmacêuticas de carbonato de cálcio em cápsulas.



Fonte: Autor.

Principalmente por se tratar de produtos destinados ao consumo humano, os padrões de qualidade e confiabilidade devem ser bastante elevados. Além disso, deve-se sempre buscar elaborar ou aprimorar metodologias que melhorem a eficiência e agreguem economia no monitoramento da qualidade. Por fim, uma metodologia analítica deve passar por uma validação, a fim, de garantir a segurança e a obediência às normas estabelecidas.

Assim, este trabalho destinou-se a validação para a determinação de carbonato de cálcio em cápsulas por titulação complexométrica para o laboratório de controle de qualidade físico-químico da Farmácia Escola. Primeiramente, a validação e sua aplicação se justificam porque é um método bastante confiável por se tratar de uma metodologia clássica que utiliza reagentes consolidados pela confiabilidade. Em segundo lugar, os instrumentos e reagentes utilizados são de baixo custo se comparados com técnicas mais sofisticadas como, por exemplo, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Portanto, o método gera economia nas determinações.

A primeira parte deste trabalho expõe a fundamentação teórica, abordando e aprofundando os aspectos que fundamentam à técnica, bem como, ao processo de validação. A segunda parte aborda a metodologia utilizada, explicando como foram as determinações e o tratamento dos dados obtidos. Já a terceira parte, demonstra os resultados e as conclusões.

No primeiro momento, o trabalho teve uma abordagem experimental através das diversas determinações por titulações. Em segundo momento, foi empregada uma abordagem estatística para tratamento e interpretação da parte experimental.

Por fim, foi feita a análise de todos os parâmetros para a aceitação e validação da metodologia proposta, além da determinação do teor das quatro formas distintas do carbonato de cálcio produzidos e comercializados pela Farmácia Escola/FFOE/UFC.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Validar o método da determinação do teor de carbonato de cálcio em cápsulas por titulação complexométrica.

2.2 Objetivos específicos

- Validar o método analítico quanto a seletividade, linearidade, precisão, exatidão e robustez.
- Determinar o teor de carbonato de cálcio em cápsulas com carbonato de cálcio 500 mg
- Determinar o teor de carbonato de cálcio em cápsulas com carbonato de cálcio 500 mg + vitamina D 200 UI.
- Determinar o teor de carbonato de cálcio em cápsulas com carbonato de cálcio 500 mg + vitamina D 400 UI.
- Determinar o teor de carbonato de cálcio em cápsulas com carbonato de cálcio 600 mg + vitamina D 400 UI.

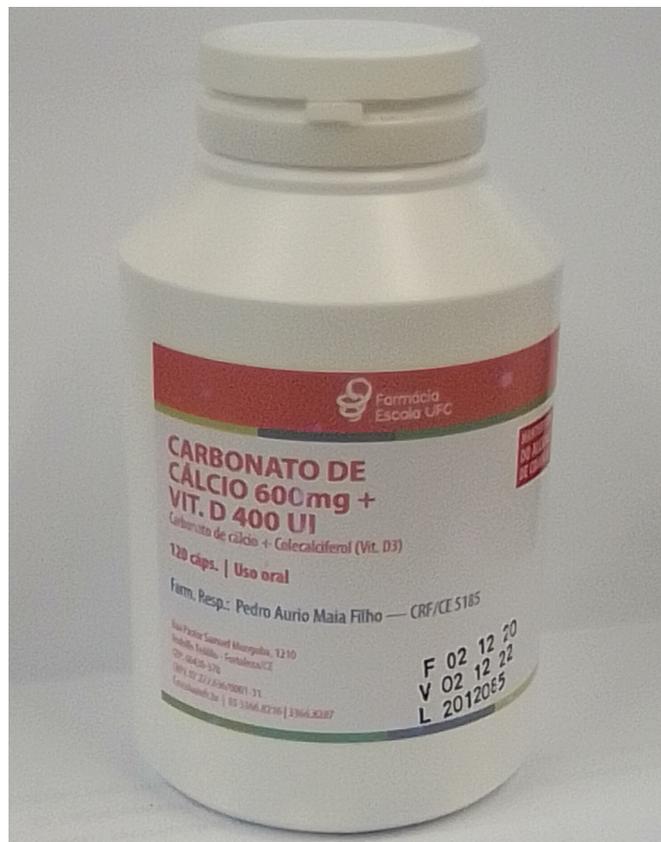
3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Carbonato de cálcio

O Carbonato de cálcio é uma fonte de suplementação de cálcio com 40% do mineral em sua composição. Sua importância como fonte de cálcio deve-se à abundância deste elemento no esqueleto e em alguns tecidos, além de ser constituinte da estrutura muscular e participar de processos metabólicos essenciais no organismo (LINO; SILVA, 2018).

Isoladamente, o carbonato de cálcio é indicado para gestantes com déficit do mineral, como prevenção dos riscos provocados pela hipertensão no período gestacional, e em pacientes com insuficiência renal no tratamento da hiperfosfatemia (CRF-RS, 2020). Além disso, associado com vitamina D, é indicado na prevenção de fraturas em idosos acometidos pela descalcificação óssea (osteoporose), sendo que as doses diárias recomendadas por estudos para evitar esses efeitos são a partir de 1200 mg e 800 UI (LUCENA, 2012). A **Figura 2** mostra uma das formas em que é disponibilizado para o consumidor pela Farmácia Escola:

Figura 2: Frasco de carbonato de cálcio em cápsulas



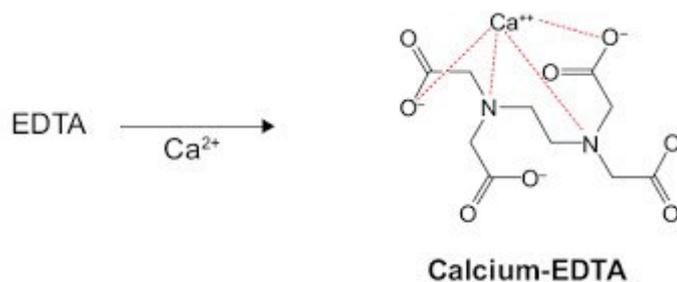
Fonte: Autor.

Dentre suas propriedades, é inodoro, estável ao ar, tem baixa solubilidade em água sendo solubilizado em ácidos com liberação de dióxido de carbono. Em relação a sua ocorrência natural, está presente em minérios (calcita e aragonita na forma cristalina), cascas de ovos e conchas de moluscos. Contudo, na indústria farmacêutica tem o destaque para o carbonato de cálcio produzido quimicamente (precipitado), em virtude da elevada pureza e em razão da sua granulometria que lhe confere alto poder de absorção. Em relação ao precipitado, suas partículas têm diâmetros que variam entre 0,5 a 2 microns e com volume aparente de 3 cm³/g (SOUTO, 2008).

Na Farmácia Escola o carbonato em cápsulas na forma granulada com composição variável a depender da indicação nutricional. Todos os granulados são compostos por carbonato de cálcio, amido de milho e dióxido de silício coloidal. Para as formas farmacêuticas com vitamina D3, é adicionado vitamina D diluída (celulose + vitamina B2 em proporção de 1:100).

O íon cálcio apresenta seletividade para a formação de complexos estáveis. É considerado um ácido duro (pouco polarizável) que interage com ânions pequenos de elevada carga e com espécies aniônicas que tenham presentes na sua estrutura um ou mais átomos de oxigênio, ou nitrogênio. Por fortes interações coulombianas, forma complexos estáveis com ligantes polidentados carregados (SHRIVER et al., 2008). A **Figura 3** ilustra o complexo formado entre o cátion cálcio e o ligante polidentado ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA).

Figura 3: Complexo EDTA:Ca²⁺



Fonte: Autor.

Em razão das especificidades nas interações químicas apresentadas pelo cátion, são comumente utilizadas técnicas de titulação complexométrica para as determinações analíticas envolvendo o composto.

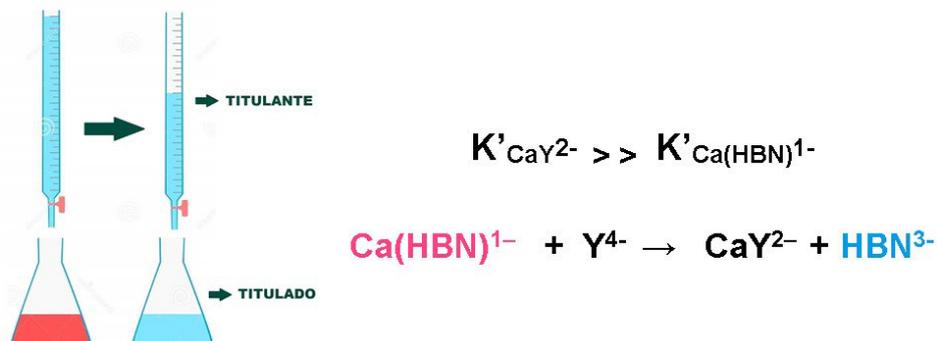
3.2 Titulação complexométrica

É uma técnica fundamentada na formação de complexos que são estáveis e que geralmente apresentam razão estequiométrica de 1:1. No seu método direto, a solução com o analito é tamponada em pH apropriado, adiciona-se um indicador com constante de formação adequada e, na sequência, titula-se com uma solução padrão de uma espécie complexante que normalmente forma um quelato. Ao longo do processo, o complexo gerado pelo indicador e o analito é substituído por um formado entre o analito e o titulante (HARRIS, 2012). Como descrito anteriormente, a complexometria baseia-se na formação de complexos e substituição de ligantes.

A formação de um complexo pode ser vista como uma reação ácido/base de Lewis, em que os ligantes são doadores e a espécie central a receptora de elétrons. Complexos formados por agentes quelantes (espécies que doam mais de dois pares de elétrons) são denominados quelatos. Em consequência das múltiplas interações e das suas estruturas, agentes quelantes formam espécies mais estáveis à dissociação se comparados com outros ligantes (BARROS, 1992). As diferenças em relação à estabilidade podem ser expressas matematicamente por meio do equilíbrio das espécies em solução.

A constante de estabilidade ou constante de formação (K) expressa quantitativamente a estabilidade e seletividade em complexos e quelatos sob forma do equilíbrio entre o metal, o ligante e a espécie formada por ambos. Também é útil para a análise das reações de substituição de ligantes, pois através do seu valor pode-se prever o deslocamento do mais fraco por um mais forte e, por consequência, a formação de um novo complexo (SOUZA, 2021). A **Figura 4** aborda de forma genérica como a constante de estabilidade determina a substituição dos ligantes, bem como, o processo que ocorre durante uma titulação.

Figura 4: Processo genérico de troca de ligantes em uma titulação complexométrica



Fonte: Autor.

3.2.1 Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA)

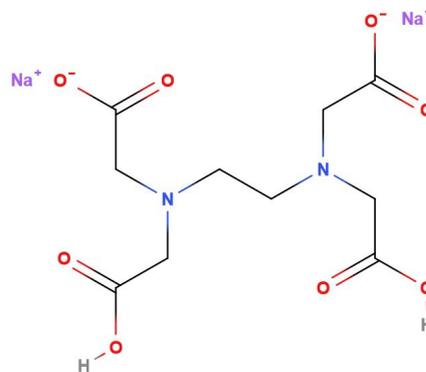
O EDTA é agente quelante hexadentado utilizado para determinações de diversos elementos metálicos por titulação direta ou por reações indiretas sempre com estequiometria de 1:1. A sua estrutura é composta de quatro grupos carboxílicos e duas aminas terciárias que se constituem em seis potenciais sítios para ligações. Em consequência da sua baixa solubilidade na forma ácida, é comum nas aplicações analíticas a utilização do seu sal dissódico dihidratado (SKOOG et al, 2014). A **Tabela 1** apresenta algumas informações que justificam o uso do sal como reagente PA, bem como, a representação da sua estrutura pela **Figura 5**.

Tabela 1: Informações e propriedades do quelante EDTA dissódico.

| | | | |
|--------------|---|----------------------|------------------------|
| MASSA MOLAR: | 372,24 g.mol ⁻¹ | ODOR: | Inodoro |
| FÓRMULA: | C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ · 2H ₂ O | DENSIDADE: | 0,7 g cm ⁻³ |
| FORMA: | Cristais | SOLUB. ÁGUA (20 °C): | 100 g L ⁻¹ |
| COR: | Branco | DECOMPOSIÇÃO | 255 °C |

Fonte: Autor.

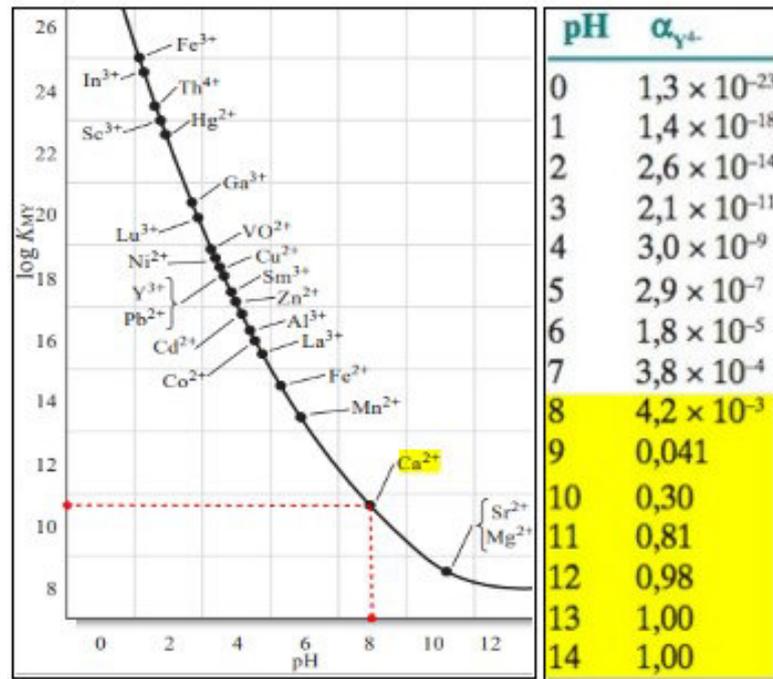
Figura 5: Estrutura química do EDTA dissódico.



Fonte: Autor.

Na forma totalmente desprotonada (Y^{4-}) produz o complexo CaY^{2-} com o cátion Ca^{+2} com constante de estabilidade de $5,0 \times 10^{12}$. Contudo, o EDTA produz quatro espécies diferentes pela dissociação dos seus grupos ácidos com a variação do pH e, em consequência disso, cada uma das formas apresenta uma constante de dissociação (α), representando a fração em solução num determinado pH. Desse modo, a estabilidade do quelato deve ser expressa pela constante de formação condicional ou de formação efetiva (K'), pois considera α em um pH específico (HARRIS, 2012). A **Figura 6** mostra graficamente o pH mínimo e os valores de α_4 para um K' significativo do quelato com cálcio.

Figura 6: pH mínimo para a formação do quelato EDTA-Ca e o log de K' com a variação.



Fonte: (HARRIS, 2005; WEST, 2006) adaptado

3.2.2 Azul de Hidroxinaftol (HBN)

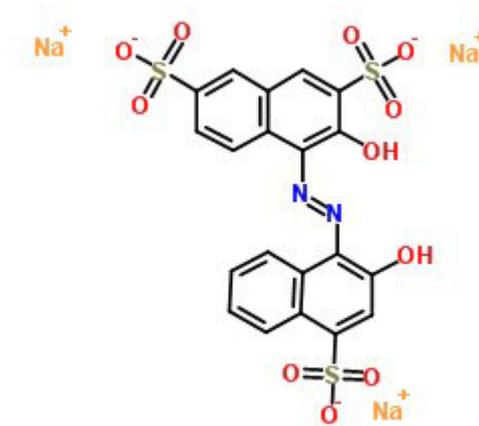
O HBN pertence à classe de moléculas orgânicas que possuem o grupo azo (-N=N-) em suas estruturas (azo-compostos). É um indicador metalocrômico que possui três sítios doadores capazes de complexar íons metálicos e apresenta coloração diferente entre a sua forma livre e o quelato formado. A faixa recomendada de pH para a titulação do íon cálcio deve ser entre 12 e 13, pois seus sítios ficam disponíveis, em virtude da desprotonação deles em meio alcalino (DANTAS, 2000).

Quando associado ao cálcio, a solução tem coloração vermelha e, ao perder o metal, fica com tonalidade azul. Em relação à estabilidade, tem um K' de $1,29 \times 10^6$ em pH = 12 (BISHOP, 1972). A Tabela 1 faz a complementação das informações sobre o indicador e a Figura 1 apresenta a sua fórmula estrutural com destaque para os grupos funcionais.

Tabela 2: Informações gerais do indicador Azul de Hidroxinaftol

| | | | |
|--------------|---|----------------------|-------------------------|
| MASSA MOLAR: | 620,47 g.mol ⁻¹ | ODOR: | Próprio |
| FÓRMULA: | C ₂₀ H ₁₁ N ₂ Na ₃ O ₁₁ S ₃ | DENSIDADE: | 0,33 g cm ⁻³ |
| FORMA: | Cristais | SOLUB. ÁGUA (20 °C): | 340 g L ⁻¹ |
| COR: | Azul Arroxeadado | | |

Fonte: Autor.

Figura 7: Estrutura química do indicador Azul de Hidroxinaftol.

Fonte: Autor.

3.3 Validação

Validação de um método é o estudo experimental e documental que objetiva demonstrar a confiabilidade e segurança com finalidade de certificar a adequação do procedimento analítico avaliado. Desse modo, consiste no primeiro nível e primeira ferramenta para a garantia de um controle de qualidade laboratorial de excelência (MAPA, 2011). Além disso, é necessária não apenas como garantia de que as características de desempenho do método sejam atendidas, mas visa comprovar cientificamente a coerência dos procedimentos sob as condições nas quais é utilizado (SOUZA et al., 2016).

Os parâmetros típicos considerados para a validação de uma metodologia são dependentes da natureza do ensaio avaliado. Para ensaios de doseamento, são aferidos a linearidade, seletividade, precisão, exatidão, robustez e faixa de trabalho. Contudo, a faixa de trabalho deve ser estabelecida pelo estudo da linearidade em conjunto com os resultados da precisão e exatidão com foco na aplicação (ANVISA, 2017a).

Para garantir a confiabilidade e lisura da validação, são adotadas algumas restrições e cuidados. Em relação aos reagentes, são permitidas apenas substâncias químicas de referência (SQR) ou, na impossibilidade delas, reagentes com estudo detalhado de sua caracterização. Além disso, é necessário a produção de registros documentais (protocolos) contendo os procedimentos adotados, dados e cálculos dos resultados obtidos, bem como, a abordagem estatística usada para a avaliação dos resultados (ANVISA, 2017a).

3.3.1 Seletividade.

“A seletividade de um método analítico pode ser definida como a capacidade do mesmo ser indiferente à presença de interferentes na amostra que possam mascarar a determinação do analito em estudo” (MANICA, 2011, pag.10). Segundo SILVA; SANTOS (2020), é o parâmetro mais importante, pois quando não atende aos critérios mínimos pode influenciar de maneira significativa nos demais. A ANVISA (2017) reforça relatando que se o método não for seletivo compromete seriamente a linearidade e precisão.

Para a ANVISA (2017), é a capacidade de identificar e quantificar o analito na presença de impurezas e outros componentes da matriz sem haver interferência dos mesmos na resposta. Portanto, deve ser demonstrada pela comprovação de que a resposta analítica se deve exclusivamente a espécie de interesse.

3.3.2 Linearidade

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica expressar resultados obtidos diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra (ANVISA, 2017a). Sua análise advém da necessidade de assegurar que um método responde em sua faixa de trabalho de maneira precisa e exata. O critério para os limites mínimo e máximo são definidos pela faixa de trabalho conforme a aplicação do método (SOUZA et al., 2016).

3.3.3 Precisão

A precisão é a demonstração de um método para obter resultados próximos em uma série de medidas em torno de um valor central (OLIVERIA et al, 2016). Para isso, devem ser realizados ensaios iguais ao descrito pelo método a ser validado. Pode ser avaliada por repetibilidade, precisão intermediária ou reprodutibilidade (ANVISA, 2017a).

A determinação por repetibilidade deve ser realizada pelo mesmo analista, instrumentos, forma de operação e em uma única corrida analítica. Pode ser feita com seis alíquotas preparadas individualmente com 100% da concentração do analito (ANVISA, 2017a).

3.3.4 Exatidão

A exatidão pode ser entendida como a proximidade ou concordância entre os valores encontrados experimentalmente e o valor teórico, ou o usado como referência (RATH; MARTÍNEZ-MEJIA; SCHRÖDER, 2015). Para a avaliação em produtos acabados, podem ser usados os resultados de um método validado para comparação, assim, admitindo os valores deste segundo método como sendo verdadeiros (ANVISA, 2017a). Em relação aos resultados, podem ser expressos sobre a forma de erros relativos ou absolutos, sendo que quanto menor o resultado, mais exata é a metodologia. (SKOOG et al., 2014).

3.3.5 Robustez

A robustez de uma metodologia pode ser entendida como capacidade de obter resultados consistentes mesmo com a variação das condições analíticas (MAPA, 2011). Para métodos quantitativos, devem ser usados os mesmos critérios da exatidão para a avaliação dos impactos provocados pelas variações (ANVISA, 2017a).

3.4 Análise estatística

3.4.1 Análise de variância (ANOVA)

ANOVA é um método para comparação simultânea das médias de vários grupos ou populações que permite avaliar a existência de diferenças significativas entre elas. Ela verifica se os fatores considerados exercem influência significativa sobre os grupos comparados (QUEIROZ, 2019). Para tanto, são feitos testes de hipótese das variâncias, assim podendo concluir se as médias são iguais ou se existem diferenças significantes entre elas (FONSECA; MARTINS, 2011).

A ANOVA adota duas hipóteses para seu teste com um nível de confiança $(1-\alpha)$ e significância (α) . A primeira é a hipótese nula (H_0), ela considera as médias como sendo

iguais entre si e, portanto, confirmando a inexistência de fatores que causam disparidade entre os grupos (1). A segunda é a hipótese alternativa (H_a), ela considera que as médias não são iguais e, portanto, não confirma a inexistência de diferenças ocasionadas por fatores que cada grupo está exposto (2) (FONSECA; MARTINS, 2011).

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k \quad (1)$$

$$H_a: \text{médias populacionais não são iguais} \quad (2)$$

De forma prática, o método estabelece se H_0 é uma hipótese verdadeira por meio do resultado do quociente da variância populacional pela variância amostral, denominado de teste F. O resultado calculado do teste F é comparado com valores tabelados de acordo com os graus de liberdade adotados (RUMSEY, 2014). A **Tabela 3** apresenta as expressões para a ANOVA, bem como, a condição para H_0 ser verdadeira.

Tabela 3: Expressões que compõem ANOVA.

| Fonte de Variação | Soma dos Quadrados | Graus de Liberdade | Quadrados Médios | Teste F |
|--|--------------------|--------------------|--|---|
| Entre Populações | S_Q | $k - 1$ | $\sigma^2_{pop.} = \frac{S_Q}{k - 1}$ | $F = \frac{\sigma^2_{populacional}}{\sigma^2_{amostral}}$ |
| Entre Amostras | S_q | $n - k$ | $\sigma^2_{amos.} = \frac{S_q}{n - k}$ | |
| $F_{calculado} \leq F_{tabelado} \rightarrow H_0 \text{ é verdadeira (médias sem diferenças significativas)}$ | | | | |
| $F_{calculado} > F_{tabelado} \rightarrow H_0 \text{ não é verdadeira (sem comprovação que não existam diferenças)}$ | | | | |

Fonte: (FONSECA; MARTINS, 2011) adaptado

Outro importante parâmetro é o Valor-p, já que pode servir como confirmação de H_0 ou como um fator de rejeição. Se o valor-p for menor que α (3), então pode-se concluir que as médias populacionais (k) não são todas iguais e, conseqüentemente, rejeita-se a H_0 . Por outro lado, se o valor-p for maior que α (4), então não existem provas que entre as médias (k) têm diferenças, portanto, não H_0 não pode ser rejeitada (RUMSEY, 2014).

$$P < \alpha, \text{ então } H_0 \text{ não é verdadeira} \quad (3)$$

$$P > \alpha, \text{ então } H_0 \text{ não pode ser rejeitada} \quad (4)$$

3.4.2 Homocedasticidade

Homocedasticidade é a condição em que as perturbações aleatórias ou erros (e_i) são iguais ao longo das variações de uma variável independente (x_i), na relação entre ela e uma dependente (y_i). Neste sentido, as variâncias (σ^2) devem permanecer constantes (5) e os erros devem se distribuir de forma aleatória. Por outro lado, quando essas condições não são atendidas, tem-se uma condição de heterocedasticidade (6) (GUJARATI; PORTER, 2011).

$$\text{Var}(e_i / X_1, X_2, \dots, X_{ki}) = \sigma^2 \quad \text{Comportamento homocedástico} \quad (5)$$

$$\text{Var}(e_i / X_1, X_2, \dots, X_{ki}) = \sigma_i^2 \quad \text{Comportamento heterocedástico} \quad (6)$$

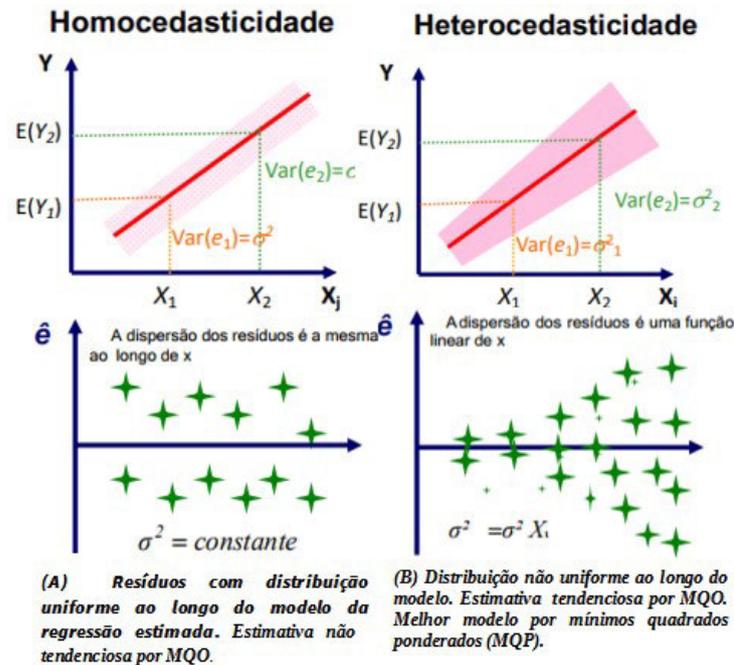
Para um modelo de regressão linear simples elaborado pelo método dos mínimos quadrados ordinários (MQO), pode-se avaliar a homocedasticidade pela verificação da dispersão dos resíduos (e_i). Em outras palavras, a diferença entre o valor da variável dependente e a estimada pelo modelo devem permanecer com as mesmas magnitudes ao longo das variações (WOOLDRIDGE, 2007). Abaixo segue a dedução para obtenção dos e_i , bem como, a **Figura 8** com o comportamento homocedástico (A) e heterocedástico (B):

$$y_j = a + bx_j \quad \text{Variável determinada e seu modelo teórico} \quad (7)$$

$$\hat{y}_j = a + bx_j + e_j \quad \text{Variável determinada por modelo estimado} \quad (8)$$

$$y_j - \hat{y}_j = e_j \quad \text{Resíduo (valor determinado - estimado)} \quad (9)$$

Figura 8: Curvas com comportamentos homocedástico (A) e heterocedástico (B)



Fonte: Autor.

Um dos inúmeros testes para verificar a existência de homoscedasticidade em um conjunto de valores relacionados, é o teste de Breuch-Pagan da heterocedasticidade. Esse teste pode ser realizado por meio da estatística baseada no Multiplicador de Lagrange (Estatística LM) ou pela estatística F (WOOLDRIDGE, 2007). Abaixo estão descritos os passos para o teste com o uso da estatística F:

TESTE DE BREUSCH – PAGAN DA HETEROCEDASTICIDADE

- Estimar o modelo por MQO e elevar os e_i obtidos ao quadrado.
- Estimar um modelo com a variável independente vs e_i^2 .
- Produzir a estatística F desta segunda regressão e analisar o valor-p.

Valor-p < α → Heterocedasticidade; Valor-p > α → Homocedasticidade

3.4.3 Normalidade dos erros e Outliers

A hipótese da normalidade considera que erros aleatórios são independentes, ou não correlacionados, e seguem uma distribuição gaussiana (OLIVEIRA, 2013). A verificação da normalidade implica na escolha de técnicas estatísticas adequadas para o conjunto de dados, assim evitando o enviesamento dos parâmetros estudados por erros de escolha. Para checar a existência em regressões lineares, pode-se elaborar histogramas com distribuição normal (1) ou aplicar testes, como por exemplo o de Shapiro-Wilk (2), sobre os resíduos (MIOT, 2017).

Função densidade de probabilidade $\rightarrow e_i = N(\mu, \sigma)$ (10)
 Curva de distribuição normal dos erros (e_i) em função da média (μ) e do desvio padrão (σ).

$$\text{Densidade de prob.} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp \frac{-(e_i - \mu)}{2\sigma} \quad -\infty < e_i < +\infty$$

Teste de Shapiro – Wilk (11)

$$W = \frac{\left(\sum_{i=1}^n a_i e_i\right)^2}{\sum_{i=1}^n (e_i - \bar{\mu})^2} \quad (a_i) \text{ const. tabelada para cada } n_i$$

Interpretação: $W_{\text{calculado}} > W_{\text{crítico}}$ ou $\text{Valor} - p > \alpha \rightarrow \text{Normalidade}$

Em relação a Outliers (pontos de influência ou aberrantes), são descritos como um ou mais observações que se desviam muito de outras do conjunto, despertando suspeitas de que não são geradas por erros aleatórios (BARBOSA et al, 2018). A identificação da presença de pontos aberrantes pode ser feita através da análise gráfica de resíduos studentizados (t_i), pois estes, apresentam padronização pelo desvio padrão. Em virtude da padronização, todos os pontos apresentam variância unitária e, portanto, mais fácil a visualização de pontos discrepantes (VASCONCELLOS; PORTELA, 2001). Abaixo estão descritas as expressões para obter os t_i e os limites de aceitação:

Resíduos Studentizados (12)

$$t_i = \left(\sqrt{\frac{n-p-1}{n-p-e_i^2}} \right) e_i \quad t_{\text{tabelado}} = \left(\frac{\alpha}{2}, n-p-1 \right)$$

Valor limite pela tabela t:

$t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabelado}} \rightarrow \text{outlier}$

Em conclusão, uma base teórica sólida em relação aos aspectos que embasam a metodologia aliada a uma análise estatística criteriosa tornam um trabalho com resultados bastante confiáveis. Além disso, o conhecimento das exigências normativas é essencial para que tal objetivo seja alcançado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Frascos de Carbonato de Cálcio

Foram cedidos pela Farmácia Escola 4 frascos com diferentes composições. Eles foram usados como produto acabado de referência para comparação da metodologia proposta. Abaixo está a descrição dos produtos cedidos.

- Carbonato de Cálcio 500 mg (60 cápsulas)
- Carbonato de Cálcio 500 mg + Vitamina D 200 UI (120 cápsulas)
- Carbonato de Cálcio 500 mg + Vitamina D 400 UI (120 cápsulas)
- Carbonato de Cálcio 600 mg + Vitamina D 400 UI (120 cápsulas)

4.1.2 Reagentes

Para os ensaios analíticos foram usados Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA), azul de Hidroxinaftol (HBN), Carbonato de Cálcio P.A, Soluções padrões de Ácido Clorídrico 3 mol L⁻¹ e Hidróxido de Sódio 1 mol L⁻¹.

Além disso, para o preparo das amostras foram usados Amido de milho, Vitamina D3 diluída (celulose + vitamina B2 em proporção de 1:100) e dióxido de silício coloidal.

4.1.3 Vidrarias

Foram utilizados erlenmeyers (250 ml e 500 ml), proveta (50 ml), beckers (100 ml e 250 ml), bureta (25 ml), pipetas de pasteur e espátula pequena.

4.1.4 Equipamentos

Foram usados dessecador, balança analítica para massas acima de 50 mg e balança semi-micro analítica para massas abaixo de 50 mg.

4.2 Métodos

4.2.1 Validação do método analítico

4.2.1.1 Seletividade

A seletividade em métodos quantitativos deve ser demonstrada pela comprovação da resposta analítica ser exclusivamente ao analito, sem interferências do diluente, da matriz ou de impurezas (ANVISA, 2017). Seguindo as recomendações estabelecidas pela norma, foram preparadas cinco amostras de carbonato de cálcio PA, a primeira composta apenas com a espécie de interesse e as outras quatro com diferentes matrizes. As determinações foram realizadas seguindo a metodologia proposta em triplicatas com pesagens independentes para cada uma das alíquotas. Abaixo a relação das composições das amostras:

- **AMOSTRA 1:** 500 mg de carbonato de cálcio.
- **AMOSTRA 2:** 150 mg de amido de milho, 1,5 mg de dióxido de silício coloidal e 500 mg de carbonato de cálcio.
- **AMOSTRA 3:** 150 mg de amido de milho, 1,5 mg de dióxido de silício coloidal, 500 mg de carbonato de cálcio e 1 mg Vitamina D3 diluída.
- **AMOSTRA 4:** 150 mg de amido de milho, 1,5 mg de dióxido de silício coloidal, 500 mg de carbonato de cálcio e 0,5 mg Vitamina D3 diluída.
- **AMOSTRA 5:** 150 mg de amido de milho, 1,5 mg de dióxido de silício coloidal, 600 mg de carbonato de cálcio e 1 mg Vitamina D3 diluída.

Após as titulações, os volumes gastos do padrão EDTA 0,05M para as determinações e as massas pesadas de todos os constituintes das amostras foram tabeladas. Em seguida, foi construída outra tabela com as porcentagens de carbonato de cálcio obtidas pela razão da massa determinada experimentalmente e a massa pesada em cada alíquota. A expressão abaixo foi usada para os cálculos:

$$\text{porcentagem} = \frac{\text{volume edta } 0,05 \text{ M (mL) } \times \text{ fator de correção } \times 5,004 \text{ mg. mL}^{-1}}{\text{massa pesada (mg)}}$$

Por fim, foi usada a análise de variância (ANOVA) como ferramenta estatística para a verificação da seletividade da metodologia sob as condições estabelecidas para cada amostra. Os grupos e a população total foram submetidos ao teste T e à observação do valor-p através

das suas variâncias. A análise foi realizada com $1-\alpha = 0,95$ e $\alpha = 0,05$, considerado o método seletivo sob as seguintes condições:

Fcalculado < Ftabelado, médias estatisticamente iguais

P > α , variações nas médias sem significância

4.2.1.2 Linearidade

A linearidade deve ser avaliada pela determinação do analito cobrindo a faixa de trabalho estabelecida e em cinco concentrações diferentes em, no mínimo, triplicadas (ANVISA, 2017a). Dessa forma, foram preparadas amostras com pesagens independentes e em triplicatas com 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg e 800 mg de carbonato de cálcio PA. Além disso, foram realizadas três curvas em dias diferentes seguindo o ensaio analítico proposto. Após, foi elaborada uma tabela com todos os dados obtidos.

A avaliação estatística dos resultados seguiu os seguintes passos:

- Análise preliminar das curvas por MMQO.
- Avaliação da homocedasticidade pelo comportamento visual dos resíduos e através do teste de Breusch-Pagan.
- Verificação da normalidade dos erros e presença de outliers, por meio de histogramas com curva normal, teste de Shapiro-Wilk e gráfico dos resíduos Studentizados.
- Determinação dos coeficientes angulares, lineares, de correlação e determinação.
- A escolha do modelo adequado foi determinada pela verificação da homocedasticidade ou heterocedasticidade:

MMQO
(comportamento homocedástico)

Coeficiente angular

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{[\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2]}$$

Coeficiente linear

$$\bar{a} = \bar{y} - b\bar{x}$$

Coef. de correlação (r)

e

Coef. de determinação (r^2)

MMQP

(comportamento heterocedástico)

Coeficiente angular

$$b_w = \frac{\sum_{i=1}^n w_i x_i y_i - n \bar{x}_w \bar{y}_w}{\sum_{i=1}^n w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2}$$

Coeficiente linear

$$a_w = \bar{y}_w - b \bar{x}_w$$

Coef. de correlação (r_w)

e

Coef. de determinação (r_w^2)

- Teste F para avaliar a significância dos coeficientes angulares e lineares
- Resultado final com uma curva global com os dados das três curvas individuais, bem como, todos parâmetros descritos determinados para ela.

4.2.1.3 Precisão

A precisão determinada por repetibilidade deve ser realizada nas mesmas condições analíticas, mesmo analista e em uma única corrida. Dentre as opções, pode ser determinada por 6 replicatas com 100% da concentração proposta pelo método, preparadas individualmente (ANVISA, 2017a). Dessa forma, foram preparadas 8 replicatas por três dias diferentes com as seguintes amostras:

- Carbonato de Cálcio 500 mg.
- Carbonato de Cálcio 500 mg + Vitamina D 200 UI
- Carbonato de Cálcio 500 mg + Vitamina D 400 UI
- Carbonato de Cálcio 600 mg + Vitamina D 400 UI

Inicialmente, adotou-se metodologia para a determinação do peso médio com incerteza expandida para a verificação da massa média do conteúdo de cada frasco. Após, o conteúdo das 20 cápsulas foi homogeneizado num gral e, em seguida, calculadas as massas equivalentes a 200 mg para as replicatas pela seguinte expressão:

$$\text{Valor da massa pesada} = \frac{\text{Peso Médio} \times 200 \text{ mg}}{\text{Dose}}$$

Em seguida, as replicatas foram tituladas e os teores calculados pelas expressões a seguir:

$$\text{Teor} = \frac{\text{Volume gasto (ml)} \times \text{Fator de correção} \times \text{Massa da amostra}}{\text{Peso Médio}}$$

$$\% \text{Teor} = \frac{\text{teor determinado} \times 100}{\text{teor declarado}}$$

Por fim, foram calculados os desvios padrões e coeficientes de variação em cada corrida analítica e entre as corridas em dias diferentes para cada amostra analisada.

4.2.1.4 Exatidão

A exatidão pode ser verificada pelo preparo independente de amostras com três níveis de concentração (baixa, média e alta) com três replicatas em cada nível (ANVISA, 2017b). Neste sentido, para as determinações foi usado o método da recuperação do padrão, através da adição de carbonato de cálcio PA nas amostras acabadas de referência.

Foram realizadas determinações em triplicatas em uma única marcha analítica para cada uma das seguintes amostras:

- Carbonato de Cálcio 500 mg.
- Carbonato de Cálcio 500 mg + Vitamina D 200 UI
- Carbonato de Cálcio 500 mg + Vitamina D 400 UI
- Carbonato de Cálcio 600 mg + Vitamina D 400 UI

Seguindo a metodologia proposta para a determinação do peso médio, pesou-se massas equivalentes a 300 mg e executou-se as titulações conforme quantidades descritas na

Tabela 4.

Tabela 4: Massas para preparo das amostras da recuperação do padrão.

| | Padrão (mg) | Carbonato de cálcio (equivalente a 300 mg) | Quantidade final (mg) |
|--------------------|-------------|---|--------------------------|
| Amostra (cápsulas) | ***** | 300 | 300 |
| Baixa | 100 | 300 | 400 |
| Média | 300 | 300 | 600 |
| Alta | 500 | 300 | 800 |
| Padrão | 300 | ***** | 300 |

Fonte: Autor.

Por fim, foram calculadas as porcentagens das recuperações dos padrões (1), médias, desvios padrões e desvios padrões relativos para as quatro amostras analisadas:

$$\% \text{recuperação} = \frac{\text{massa total determinada} - \text{massa teórica da amostra de referência}}{\text{massa teórica do padrão}} \times 100 \quad (1)$$

4.2.1.5 Robustez

Para a avaliação da robustez foi usado o método de *Youden* nas amostras de carbonato de cálcio em cápsulas de 500 mg e de 600 mg + vitamina D 400 UI. Todas as combinações foram realizadas em triplicatas.

No método de *Youden* são realizados 8 ensaios, separados para determinar os efeitos da variação dos 6 diferentes fatores avaliados no procedimento analítico. Às oito medições podem ser realizadas numa ordem aleatória. Os 6 fatores são denominados por letras maiúsculas (normais) e minúsculas (alterados) de A a F. São feitas combinações entre os fatores normais e alterados e, após, avaliados os efeitos pela mudança de cada combinação (INMETRO, 2003). As **Tabela 5** e **Tabela 6** descrevem os fatores e combinações realizadas.

Tabela 5: Condições para os fatores normais e alterados no ensaio de Robustez.

| Parâmetro | Condição normal | Varição |
|--|-----------------|----------------|
| A/a Amostra | 200 mg | 220 mg |
| B/b Volume de hidróxido de sódio SR | 15 mL | 14,5 mL |
| C/c Ponto de equivalência teórico | 38 | 39 mL |
| D/d Volume de água | 100 mL | 95 mL |
| E/e Volume de ácido clorídrico diluído | 3 mL | 2,7 mL |
| F/f Indicador | Rosa claro | Violeta escuro |

Fonte: Autor.

Tabela 6: Combinação fatorial de parâmetros analíticos para avaliação da robustez pelo Teste de *Youden*.

| Parâmetro Analítico | Combinação Fatorial | | | | | | | |
|---------------------------|---------------------|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Quantidade da amostra | A | A | A | A | a | a | a | a |
| Volume de NaOH | B | B | b | b | B | B | b | b |
| P de equivalência teórico | C | c | C | c | C | c | C | c |
| Volume de água | D | D | d | d | d | d | D | D |
| Volume de HCl | E | e | E | e | e | E | e | E |
| Quantidade de indicador | F | f | f | F | F | f | f | F |
| Resultado | s | t | u | v | w | x | y | z |

Fonte: Autor.

Para determinar a influência das variações de cada parâmetro no resultado final, as médias dos quatro doseamentos correspondentes as letras maiúsculas (condições normais das massas das amostras) foram comparadas às médias dos quatro outros doseamentos correspondentes as letras minúsculas (condições alteradas), como descritos na expressão (1). O resultado é comparado com o da expressão (2):

$$\text{Efeito A/a} = \frac{s + t + u + v}{4} - \frac{w + x + y + z}{4} \quad (1)$$

s, t, u e v = teores das amostras determinados com as massas utilizadas no método (A).

w, x, y e z = teores das amostras determinados com as massas diferentes do método (a).

$$\text{Valor de referência: } DP\sqrt{2} \quad (2)$$

DP = desvio padrão dos oito teores (s, t, u, v, w, x, y, z)

O valor encontrado na expressão 1 deve ser menor que o valor determinado na expressão 2 para que o efeito seja interpretado como não significativo.

4.2.2 *Determinação do teor de Carbonato de Cálcio*

Para a determinação dos teores foram utilizados os dados coletados no parâmetro da precisão da validação do método. Em seguida, foram calculados os pesos médios, teores e valores de aceitação (VA) seguindo os procedimentos descritos na metodologia proposta dos seguintes produtos:

- Carbonato de Cálcio 500 mg.
- Carbonato de Cálcio 500 mg + Vitamina D 200 UI
- Carbonato de Cálcio 500 mg + Vitamina D 400 UI
- Carbonato de Cálcio 600 mg + Vitamina D 400 UI

4.2.2.1 *Determinação do peso médio com incerteza de medição*

“Pesar, individualmente, 20 unidades, remover o conteúdo de cada uma, limpar e pesar novamente. Determinar o peso do conteúdo de cada cápsula pela diferença entre a cápsula cheia e a vazia. Com os valores obtidos, determinar o peso médio do conteúdo” (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010, 5ªEd., pag.59). Além da descrição do procedimento mencionado na Farmacopeia, é calculada a incerteza expandida de medição com os resultados obtidos. Todos os passos estão descritos abaixo:

- Cálculo da incerteza do peso das cápsulas pelas pesagens:

$$u_c = \sqrt{\left(\frac{U_b}{k_b}\right)^2 \left(\frac{u_b}{\sqrt{12}}\right)^2}$$

u_c – Incerteza do peso do conteúdo das cápsulas

U_b – incerteza expandida da balança (0,5 para a faixa a avaliada)

k_b – Fator de abrangência para ∞ pesagens (2,01)

u_b – incerteza da balança utilizada (0,1 mg)

- Cálculo do erro padrão pela variabilidade da amostra:

$$u_v = \frac{S_v}{\sqrt{n}}$$

u_v – incerteza ou erro padrão pela variabilidade das amostras

S_v – Desvio padrão dos conteúdos das cápsulas

n – número de amostras (20)

- Cálculo da média com incerteza expandida:

$$\text{Incerteza Expandida } (U_e) = \left(\sqrt{u_c^2 + u_v^2}\right) k_a$$

k_a – f. de abrangência para $n=20 \rightarrow 2,09$

Peso médio com incerteza de medição = média $\pm U_e$

4.2.2.2 Ensaio para doseamento

Pesar 20 cápsulas e pulverizar. Pesar o equivalente à cerca de 200 mg de carbonato de cálcio, transferir para um erlenmeyer de 250ml. Para dissolver o resíduo, adicionar 3 mL de HCL 3,0 mol L⁻¹ ou até a quantidade suficiente para a completa dissolução. Diluir com água destilada para 100 mL e adicionar 15 mL de NaOH 1,0 mol L⁻¹. Adicionar alguns cristais do indicador azul de hidroxinaftol com uma espátula pequena até a solução ficar levemente rosa. Titular com EDTA 0,05 mol L⁻¹ até a solução apresentar coloração azul.

Figura 9: Cor da solução antes (rosa) e após (azul) a titulação.



Fonte: Autor.

Após as titulações, calcular o teor seguindo a seguinte expressão:

$$\text{Teor} = \frac{\text{Volume gasto (ml)} \times \text{Fator de correção} \times \text{Massa da amostra}}{\text{Peso Médio}}$$

$$\% \text{Teor} = \frac{\text{teor encontrado} \times 100}{\text{teor declarado}}$$

4.2.2.3 Uniformidade de conteúdo por variação de peso

Para o teste, foram utilizadas as dez primeiras massas individuais pesadas para obtenção do teor em porcentagem de cada uma. Após, foram calculadas às médias e os desvios padrões dos teores obtidos. Por fim, foi aplicado o teste descrito na Farmacopeia, em que o resultado não pode ultrapassar o limite de aceitação (VA) para o fármaco ser aprovado no teste. A **Tabela 7** traz as expressões, condições e a termos para executar o teste.

Tabela 7: Termos e expressões para os cálculos do VA

| | | | |
|--|---|---|--|
| \bar{X} | Média dos conteúdos individuais | | Fórmula geral: |
| k | Constante de aceitabilidade | Se $n = 10$, então $k = 2,4$ | $ M - \bar{X} + ks$ |
| s | Desvio padrão da amostra | Se $n = 30$, então $k = 2,0$ | |
| M a ser utilizado quando $T \leq 101,5$ (caso 1) | Valor de referência | Se $98,5\% \leq X \leq 101,5\%$, então | $M = X$ ($VA = ks$) |
| | | Se $X < 98,5\%$, então | $M = 98,5\%$ ($VA = 98,5 - \bar{X} + ks$) |
| T | Média dos limites especificados na monografia individual para a quantidade ou potência declarada, <u>expressa em porcentagem.</u> | Se $X > 101,5\%$, então | $M = 101,5\%$ ($VA = \bar{X} - 101,5 + ks$) |
| | | | Valor de Aceitação (VA) = máximo 15 |

Fonte: (FARMACOPEIA BASILEIRA, 2010, Ed.5ª, pag. 76)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Validação do método analítico

5.1.1 Seletividade

Para a determinação da seletividade, foram pesados todos os constituintes das amostras e, posteriormente, foram tituladas com a solução padrão de EDTA 0,05 mol L⁻¹. Após, as massas e volumes gastos das alíquotas foram usados para os cálculos das porcentagens de carbonato de cálcio determinado experimentalmente. As análises estatísticas foram realizadas pela ferramenta Análise de Variância (ANOVA), por meio do Software LibreOffice Calc. Todos os resultados estão descritos na **Tabela 8**:

Tabela 8: Porcentagens obtidas pelas determinações experimentais e Análise ANOVA.

| | <i>Alíquota 1</i> | <i>Alíquota 2</i> | <i>Alíquota 3</i> | <i>Médias</i> | <i>Variâncias</i> |
|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------|-------------------|
| <i>Amostra 1</i> | 99,67% | 99,28% | 99,81% | 99,59% | 7,38E-06 |
| <i>Amostra 2</i> | 99,54% | 99,56% | 99,86% | 99,65% | 3,20E-06 |
| <i>Amostra 3</i> | 99,64% | 99,68% | 99,16% | 99,49% | 8,36E-06 |
| <i>Amostra 4</i> | 99,72% | 99,04% | 99,46% | 99,41% | 1,19E-05 |
| <i>Amostra 5</i> | 98,83% | 99,65% | 99,41% | 99,29% | 1,78E-05 |

| ANOVA - Fator único | | $\alpha = 0,05$ | | | |
|---------------------------|--------------|----------------------|--------------|---------------------------------------|----------|
| k - 1 | 4 | S_Q | 2,42E-05 | σ^2 pop. | 6,05E-06 |
| n - k | 10 | S_q | 9,73E-05 | σ^2 amostral | 9,73E-06 |
| <i>F</i> calculado | 0,622 | Valor P | 0,658 | <i>F</i> tabelado | 3,478 |

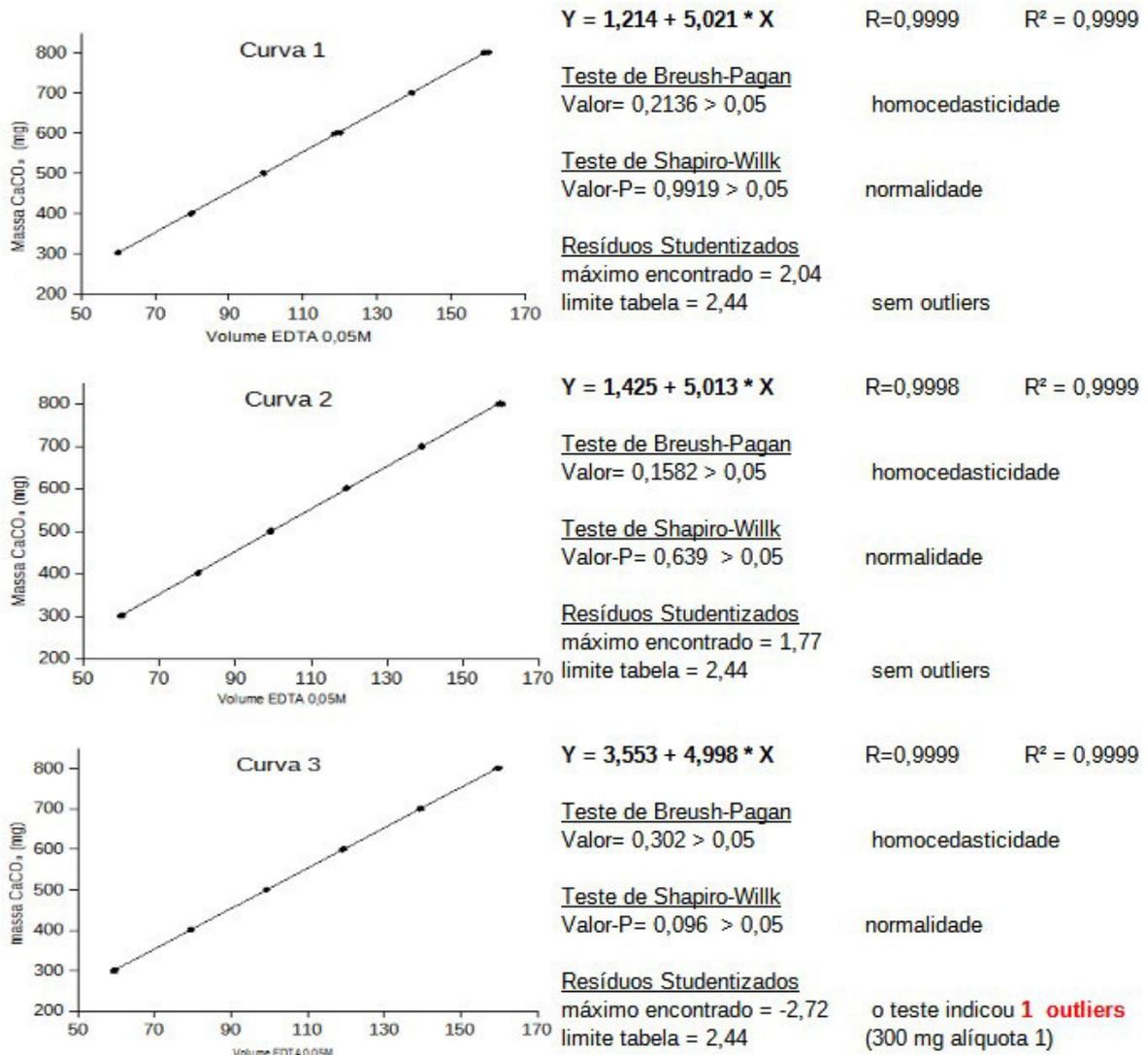
Fonte: Autor.

O teste F apresentou um valor de F (0,622) abaixo do valor tabelado (3,478), indicando que os resultados das médias das cinco amostras são estatisticamente semelhantes. Além disso, o Vapor-P obtido (0,658) foi acima de α (0,05), apontando que as variações observadas não têm significância. Dessa forma, pôde-se observar que o método apresentou seletividade elevada, inclusive, com os parâmetros estatísticos distantes dos limites para aceitação.

5.1.2 Linearidade

Para a determinação da linearidade foram pesadas as massas das amostras para a construção das três curvas e, posteriormente, tituladas com a solução padrão de EDTA 0,05 mol L⁻¹. Com os dados obtidos e tratados, foram analisadas preliminarmente as três curvas individuais. Todos os dados foram analisados pelo Software BioStat 2008, bem como, tabelas e gráficos construídos pelo Software LibreOffice Calc. Foram verificadas a existência de linearidade, de homocedasticidade, normalidade dos erros, existência de Outliers, significância das regressões e dos seus coeficientes. O Gráfico 1 expõe resumidamente essas análises:

Gráfico 1: Resultados e análise das três curvas individuais.



Fonte: Autor.

Os resultados das curvas realizadas em dias diferentes foram satisfatórios, pois os testes apontaram não haver discrepâncias nos conjuntos de dados capazes de enviesá-los. Os coeficientes de correlação de todas as curvas estão acima do valor (0,99) estipulado pela AVISA.

Após a verificação da regularidade e similaridade das curvas individuais, foi construída uma curva que engloba todos os dados obtidos. A análise dela seguiu todos os passos já mencionados anteriormente, destacando primeiramente a regularidade dos dados. Abaixo segue os gráficos com as avaliações estatísticas dos fatores observados:

Gráfico 2: Análise da existência de homocedasticidade dos dados pelo método de Breush-Pagan.

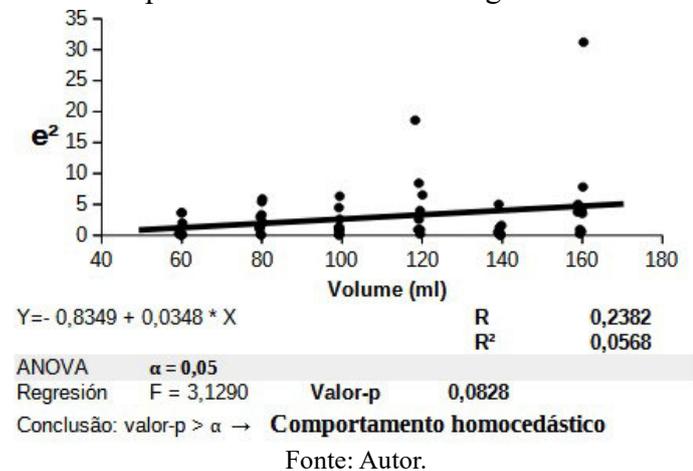


Gráfico 3: Histograma com distribuição normal e testes para evidenciar a normalidade dos erros.

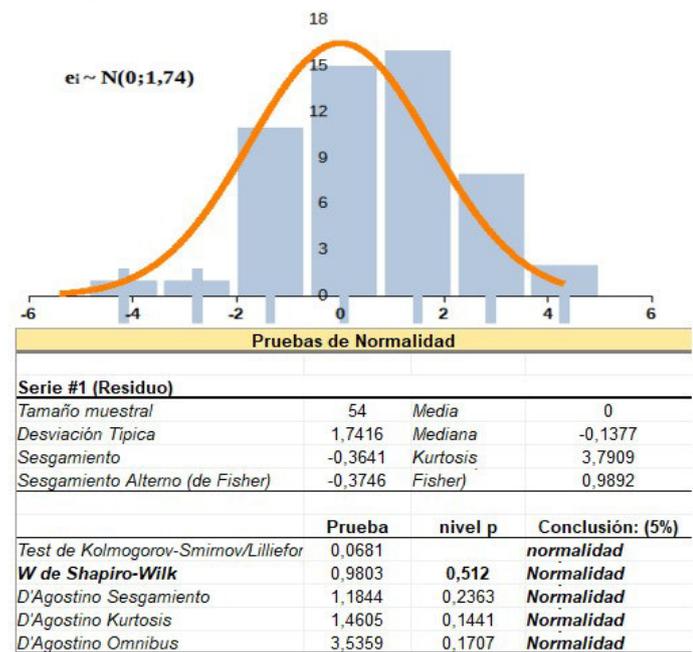
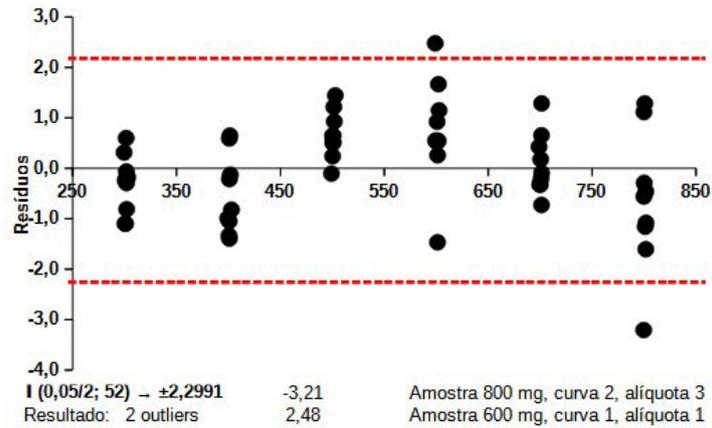


Gráfico 4: Resultados dos resíduos Studentizados.

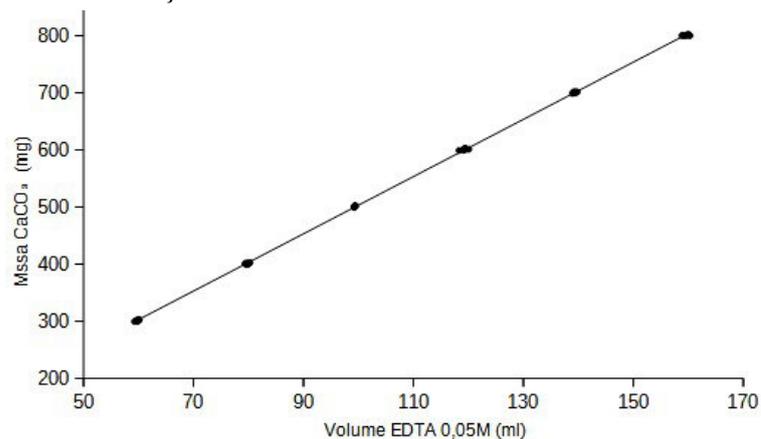


Fonte: Autor.

Os resultados apontaram que os resíduos são homocedásticos (**Gráfico 2**) e os erros dos dados seguem uma distribuição normal (**Gráfico 3**). Os resíduos Studentizados (**Gráfico 4**) apontaram a presença de dois resultados considerados outliers. Embora o teste tenha mostrado a presença de outliers, eles não afetam significativamente o modelo de regressão estimado, pois não se configuram como pontos aberrantes, já que a normalidade e homocedasticidade não foram afetadas.

Assim, foi construído o **Gráfico 5** com a curva de todos os dados, bem como, os resultados de todos os parâmetros avaliados:

Gráfico 5: Curva obtida pelas determinações dos três dias e sua avaliação estatística.



| $Y = 2,0701 + 5,0107 * X$ | | | | | |
|---|--------------|----------------|----------------|----------------|---------|
| R | 0,9999 | R ² | 0,9999 | Error Estándar | 1,7583 |
| ANOVA | | | | | |
| | d.f. | SS | MS | F | nivel p |
| Regresión | 1 | 1.571.506,2993 | 1.571.506,2993 | 508.316,6044 | 0 |
| | Coeficientes | Error Estándar | Estadístico t | nivel p | |
| Intercepto | 2,0701 | 0,8061 | 2,568 | 0,0131 | |
| A | 5,0107 | 0,007 | 712,9633 | 0 | |

Fonte: Autor.

Por fim, foram seguidos todos os critérios estabelecidos pela RDC 166/17 e orientações do guia de validação de métodos, nº 10 de 2018, da ANVISA. A metodologia mostrou linearidade na faixa de trabalho proposta, tendo coeficiente de correção de 0,9999, portanto, acima do estabelecido pela norma (0,99). Além disso, a estatística T demonstrou significância em relação aos coeficientes angular e linear, tendo valor acima de T crítico (1,674).

5.1.3 Precisão

As massas das amostras foram calculadas seguindo a metodologia proposta. Após, foram calculados os percentuais, realizadas as análises das médias, desvios padrões e desvios padrões relativos (**Tabela 9**):

Tabela 9: Resultados intra e inter dia da precisão das amostras.

| RESULTADOS DAS POPULAÇÕES EM CADA DIA | | | RESULTADOS DO CONJUNTO TOTAL DE DETERMINAÇÕES | |
|---|--------|--------|--|---------|
| • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg | | | | |
| MÉDIAS | DP | DPR | MÉDIA | |
| 109,0 % | 0,60 % | 0,55 % | | 108,8 % |
| 109,5 % | 0,43 % | 0,39 % | DP | 0,91 % |
| 107,8 % | 0,75 % | 0,70 % | DPR | 0,84 % |
| • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | |
| MÉDIAS | DP | DPR | MÉDIA | |
| 104,0 % | 0,79 % | 0,76 % | | 104,4 % |
| 104,7 % | 0,43 % | 0,41 % | DP | 0,67 % |
| 104,5 % | 0,60 % | 0,58 % | DPR | 0,64 % |
| • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 400 UI | | | | |
| MÉDIAS | DP | DPR | MÉDIA | |
| 101,1 % | 0,95 % | 0,94 % | | 101,7 % |
| 101,6 % | 0,83 % | 0,82 % | DP | 1,06 % |
| 102,3 % | 1,14 % | 1,12 % | DPR | 1,04 % |
| • CARBONATO DE CÁLCIO 600 mg + VITAMINA D 400 UI | | | | |
| MÉDIAS | DP | DPR | MÉDIA | |
| 104,2 % | 0,46 % | 0,44 % | | 104,5 % |
| 104,9 % | 0,56 % | 0,54 % | DP | 0,61 % |
| 104,5 % | 0,67 % | 0,64 % | DPR | 0,59 % |

Fonte: Autor.

A determinação da precisão mostrou que a técnica é bastante precisa. Entre as marchas analíticas (populações) os DPR variaram de 0,41% a 1,12%. Além disso, entre as marchas analíticas em dias diferentes, os valores variaram de 0,59% a 1,06%.

5.1.4 Exatidão

O método da adição do padrão foi usado para a avaliação da exatidão. Foram realizadas determinações em amostras contendo apenas as amostras de referência (cápsulas com teores determinados por outro método), apenas o padrão analítico e outras em que o padrão foi adicionado ao material de referência. As titulações do padrão e da referência serviram como parâmetro para os cálculos da recuperação. As amostras com as misturas foram usadas para os cálculos da recuperação. A **Tabela 10** demonstra os resultados entre os níveis de padrão adicionado nas amostras:

Tabela 10: Resultados das recuperações das amostras entre os níveis de padrão adicionado.

| Médias dos níveis de padrão adicionado | Médias entre os níveis | DP | DPR | | |
|---|------------------------|----------|---------|--------|--------|
| • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg | | | | | |
| 98,77 % | 98,69 % | 98,29 % | 98,58 % | 0,21 % | 0,21 % |
| • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | |
| 95,46 % | 100,10 % | 98,16 % | 97,91 % | 1,90 % | 1,94 % |
| • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 400 UI | | | | | |
| 98,59 % | 97,96 % | 99,97 % | 98,84 % | 0,84 % | 0,85 % |
| • CARBONATO DE CÁLCIO 600 mg + VITAMINA D 400 UI | | | | | |
| 97,19 % | 98,06 % | 100,09 % | 98,45 % | 1,22 % | 1,24 % |

Fonte: Autor.

Os resultados mostraram que as médias de recuperação do padrão variaram de 97,91% a 98,84%. Os desvios padrões relativos tiveram variação de 0,21% a 1,94% entre as amostras analisadas. A Association of Official Analytical Chemists (AOAC) indica que para a faixa analisadas os valores de recuperação devem ser de 98% a 102%. O valor de recuperação abaixo do limite (97,91%) pode ser resultante da variação da composição dos grânulos. Contudo, o valor tem uma diferença pequena para não ser aceito como satisfatório.

5.1.5 Robustez

As amostras foram preparadas em triplicatas seguindo todas as combinações produzidas para a verificação da robustez pelo método de *Youden*. Após os cálculos, foi realizado o teste para verificar a robustez pela comparação do Efeito A/a e o valor de referência $DP \sqrt{2}$. A **Tabela 11** expõe os resultados obtidos das amostras analisadas:

Tabela 11: Resultados obtidos pelo teste de *Youden*.

| Amostras | Efeito A/a | Valor de referência: $DP\sqrt{2}$ |
|-------------------------------------|-------------------|---|
| Carbonato 500 mg | 0,57 | 2,30 |
| Carbonato 600 mg + Vitamina D 400UI | 0,29 | 2,06 |

Fonte: Autor.

Os resultados obtidos do efeito A/a (0,57 e 0,29) são menores que os obtidos pelo valor de referência (2,30 e 2,06). Portanto, segundo o teste, as variações não apresentaram diferenças com significância, assim, a metodologia proposta apresentou robustez nas condições submetidas.

5.2 Determinação do teor de Carbonato de Cálcio

Para a determinação do teor dos frascos de carbonato de cálcio em cápsulas foram utilizados os dados coletados para a verificação da precisão, já que se tratam das mesmas amostras. Primeiramente, foi usado o método de peso médio com incerteza expandida para verificar a média dos pesos das cápsulas, médias das massas do conteúdo e os pesos mínimos e máximos das cápsulas dos frascos das amostras analisadas. Abaixo, a **Tabela 12** expõe os resultados obtidos:

Tabela 12: Resultados das determinações do teor e da uniformidade de conteúdo por variação de peso.

| mg/ Comprimido | Varição mínima | Varição máxima | Peso médio do conteúdo |
|---|----------------|----------------|------------------------|
| Carbonato de cálcio 500 mg | | | |
| 806,95 ± 8,62 mg | 94,48% | 103,81% | 687,98 mg |
| Carbonato de cálcio 500 mg + vitamina D 200 UI | | | |
| 802,79 ± 8,17 mg | 94,95% | 104,34% | 675,93 mg |
| Carbonato de cálcio 500 mg + vitamina D 400 UI | | | |
| 791,85 ± 9,60 mg | 95,77% | 107,49% | 671,45 mg |
| Carbonato de cálcio 600 mg + vitamina D 400 UI | | | |
| 784,15 ± 8,25 mg | 94,83% | 103,93% | 663,74 mg |

Fonte: Autor.

Em seguida, foram realizadas as determinações dos teores e calculados os VA's pela uniformidade de conteúdo por variação de peso. A **Tabela 13** descreve os resultados do doseamento:

Tabela 13: Resultados das determinações do teor e da uniformidade de conteúdo por variação de peso.

| Teor determinado | Teor (%) | Valor de Aceitação (VA) | Resultado VA |
|---|----------|-------------------------|--------------|
| Carbonato de cálcio 500 mg | | | |
| 542,34 mg | 108,47% | 12,93 | Satisfatório |
| Carbonato de cálcio 500 mg + vitamina D 200 UI | | | |
| 522,94 mg | 104,59% | 9,8 | Satisfatório |
| Carbonato de cálcio 500 mg + vitamina D 400 UI | | | |
| 508,27 | 101,24% | 9,93 | Satisfatório |
| Carbonato de cálcio 600 mg + vitamina D 400 UI | | | |
| 628,89 mg | 104,58% | 8,9 | Satisfatório |

Fonte: Autor.

Às amostras analisadas mostraram estarem consoantes com as normas estabelecidas, seguindo as exigências descritas na Farmacopeia brasileira. Na determinação dos pesos médios das cápsulas, elas variaram de 94,48% a 107,49% entre às as amostras, assim, ambas obedecem aos limites descritos pela norma (variação ± 7,5% em relação ao peso médio das cápsulas). Em relação ao teor, todas as amostras apresentaram conformidade com a norma (teor mínimo aceito é de 90%). Por fim, os valores de VA foram 12,93 a 8,9, dessa forma, estão abaixo do limite (VA = 15) para o resultado satisfatório.

6 CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados obtidos dos parâmetros analisados para a validação, concluiu-se que o método obedece às exigências normativas estabelecidas, assim, portanto, é apto para ser utilizado na determinação de carbonato de cálcio em cápsulas. Embora tenha obtido resultados bastante satisfatórios nos parâmetros de seletividade, precisão, exatidão e robustez, a linearidade destacou-se de forma muito expressiva pelos seus resultados (R 0,9999). Portanto, a metodologia é bastante segura para a certificação da qualidade dos produtos analisados por ela.

Após a validação da técnica para implementação, às quatro formas de carbonato de cálcio em cápsulas foram determinadas. Todas elas apresentaram resultados que demonstram conformidade aos parâmetros exigidos pelas normas descritas na Farmacopeia brasileira. Dessa maneira, ambos os produtos apresentaram alto padrão qualidade, portanto, podem ser disponibilizados ao público.

Este trabalho se destacou pelo grande número de análises realizadas para sua produção, assim, tornando-o bastante robusto. Em virtude disso, pode contribuir como fonte de pesquisa para estudos semelhantes sobre assuntos relacionados a ele. Em relação às limitações, destacou-se a escassez de trabalhos atualizados relacionados ao assunto abordado na área farmacêutica. Contudo, existem inúmeros trabalhos antigos sobre o assunto.

Por fim, este trabalho visou assegurar a qualidade dos produtos fornecidos, por um método seguro e economicamente mais vantajoso nas determinações realizadas pelo laboratório de controle físico-químico da Farmácia Escola FFOE/UFC.

REFERÊNCIAS

ANVISA, A. N. D. V. SANITÁRIA. **Resolução Da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, de 24 de Julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Anais...**Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2017bDisponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401

BARBOSA, J. J.; PEREIRA, T. M.; OLIVEIRA, F. L. P. DE. Uma proposta para identificação de outliers multivariados. **Ciência e Natura**, v. 40, p. 40, 2018.

BARROS, H. L. C. **Química Inorgânica; uma introdução**. 1ª ed. Belo Horizonte: UFMG, 1992.

BISHOP, E. **Indicators: International monographs in analytical chemistry**. v 51. [s.l.] Oxford Pergamon, 1972.

CRF-RS, C. R. DE F. DO R. **Carbonato de cálcio: saiba mais**. Disponível em: <<https://www.crfrs.org.br/noticias/carbonato-de-calcio--saiba-mais>>. Acesso em: 29 out. 2021.

DANTAS, A. F. Uso do Violeta de Alizarina n (AVN) como reagente espectrofotométrico na determinação de alumínio. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 155–160, 2000.

FONSECA, J. SIMON DA; MARTINS, GILBERTO DE ANDRADE. **curso de estatística**. 6ª ed. São Paulo: Atlas S.A., 2011.

GUJARATI, D. N.; PORTER, D. C. **ECONOMETRIA BÁSICA**. 5ª Tradução ed. [s.l.] AMGH Editora Ltda, 2011.

Harris, D.C., **Análise Química Quantitativa**, 8ª edição, LTC, Rio de Janeiro, RJ, 2012.

INMETRO Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). DOQ-CGRE-008. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. Rio de Janeiro: INMETRO, 2003. 35p.

LINO, M. F. S.; SILVA, C. M. DA. CONSIDERAÇÕES EPISTÊMICAS SOBRE O EXCESSO DE CÁLCIO NO CORPO HUMANO. **CONGRESSO NACIONAL DE EDUCAÇÃO**, v. 5, p. 8, 2018.

LUCENA, F.A. S. **INOVAÇÃO FARMACOTÉCNICA NA PRODUÇÃO DE REPOSITOR DE CÁLCIO A PARTIR DE CARBONATO DE CÁLCIO PRECIPITADO ASSOCIADO À VITAMINA D3**. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS. UFPE. 2012. p. 56.

MANICA, D. **VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA: DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO EM ÁGUAS – MÉTODO TITULOMÉTRICO DO EDTA – COMPLEXOMETRIA**. Porto Alegre: [s.n.].

MAPA, M. DA A. P. E A. **MANUAL DE GARANTIA DA QUALIDADE ANALÍTICA**. 1ª Edição ed. [s.l: s.n.].

CINTRA, J. S. **A Importância Da Suplementação De Cálcio E Vitamina D Para A Saúde Óssea, Com Foco Na Prevenção E Tratamento Da Osteoporose**. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 39 p . Universidade de São Paulo, 2019.

MIOT, H. A. Avaliação da normalidade dos dados em estudos clínicos e experimentais. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 16, n. 2, p. 88–91, 2017.

OLIVEIRA, S. DE. **INFERÊNCIA E ANÁLISE DE RESÍDUOS E DE DIAGNÓSTICO EM MODELOS LINEARES GENERALIZADOS**.: Monografia – Universidade Federal de Juiz de Fora e Instituto de Ciências Exatas. Juiz de Fora: [s.n.].

OLIVERIA, E. C. DOS; COSTA, S. D. A.; DE, B. S. R. **VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA**. **SAÚDE & CIÊNCIA EM AÇÃO – Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde** 94 1, v. 2 n.1, p. 113, 2016.

QUEIROZ, L. BEZERRA. **USO DO MÉTODO ANOVA PARA ANÁLISE DE ESTRUTURAS DE PONTES**. [s.l: s.n.].

RATH, S.; MARTÍNEZ-MEJIA, M. J.; SCHRÖDER, C. H. K. **Considerações e implicações práticas do guia de validação e controle de qualidade analítica de fármacos em produtos para alimentação animal e medicamentos veterinários.** [s.l: s.n.]. v. 38

RUMSEY, D. **Estatística Para Leigos II.** 1ª ed. Rio de Janeiro: Alta Books, 2014.

SHRIVER, D.F.; ATKINS, P.W.; OVERTON, T.L.; ROURKE, J.P.; WELLER, M.T.; ARMSTRONG, F.A. **Química Inorgânica.** 4ª Ed. São Paulo: Bookman, 2008

SKOOG, D.A.; West, D.M.; Holler F.J.; Crouch, S.R., **Fundamentos de Química Analítica,** tradução da 9ª edição norte-americana, Thomson Learning, São Paulo, 2014

SILVA, M. B. DA; SANTOS, C. W. DOS. Avaliação da influência dos parâmetros de validação e testes estatísticos na qualidade da metodologia analítica aplicável à indústria farmacêutica. p. 12, 2020.

SOUZA, A. **Estabilidade dos íons complexos e principais tipos de reações nos compostos de coordenação.** [s.l: s.n.].

SOUZA, G. et al. **Validação de Métodos para Análise de Alimentos: enfoque em análise centesimal.** 1. ed. São Paulo: REMESP, 2016.

SOUTO, E. C. S. **Estudo de condições operacionais para a obtenção de carbonato de cálcio precipitado.** [s.l.] Programa de Pós-Graduação em Engenharia QuímicaUFU. Uberlândia., 2008.

VASCONCELLOS, M. T. L. DE; PORTELA, M. C. Índice de Massa Corporal e sua relação com variáveis nutricionais e sócio-econômicas: um exemplo de uso de regressão linear para um grupo de adultos brasileiros Body. **Cadernos de saúde pública / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública,** v. 17, n. 6, p. 1425–1436, 2001.

WOOLDRIDGE, J. M. **Introdução à econometria: Uma abordagem moderna.** Tradução 4 ed. São Paulo: Thomson Learning, 2007.

APÊNDICE A – DADOS DO PARÂMETRO SELETIVIDADE

Tabela com as massas dos constituintes das amostras, volumes gastos e fatores de correção usados para a determinação da seletividade.

| | <i>Alíquotas</i> | <i>CaCO₃</i> | <i>Amido</i> | <i>SiO₂</i> | <i>Vit. D3</i> | <i>V. Edta</i> | <i>FC</i> |
|------------------------------------|------------------|-------------------------|---------------------------------------|------------------------|----------------|----------------|-----------|
| | | * | * | ** | ** | | |
| | 1 | 500,5 mg | | | | 98,7 ml | |
| Amostra 1 | 2 | 500,4 mg | | | | 98,3 ml | 1,0100 |
| (referência) | 3 | 500,3 mg | | | | 98,8 ml | |
| | 1 | 502,2 mg | 151,6 mg | 1,44 mg | | 99,8 ml | |
| Amostra 2 | 2 | 501,1 mg | 151,4 mg | 1,80 mg | | 99,6 ml | 1,0010 |
| | 3 | 501,6 mg | 150,9 mg | 1,66 mg | | 100,0 ml | |
| | 1 | 502,2 mg | 153,6 mg | 1,44 mg | 1,06 mg | 99,9 ml | |
| Amostra 3 | 2 | 501,5 mg | 147,0 mg | 2,38 mg | 1,02 mg | 99,8 ml | 1,0057 |
| | 3 | 501,6 mg | 155,6 mg | 2,20 mg | 1,04 mg | 99,3 ml | |
| | 1 | 499,6 mg | 150,1 mg | 1,71 mg | 0,52 mg | 99,0 ml | |
| Amostra 4 | 2 | 500,5 mg | 157,8 mg | 1,38 mg | 0,53 mg | 98,5 ml | 1,0057 |
| | 3 | 500,9 mg | 160,5 mg | 1,82 mg | 0,52 mg | 99,0 ml | |
| | 1 | 601,4 mg | 152,0 mg | 1,92 mg | 1,09 mg | 118,1 ml | |
| Amostra 5 | 2 | 601,0 mg | 162,4 mg | 1,68 mg | 1,06 mg | 119,0 ml | 1,0057 |
| | 3 | 601,9 mg | 157,0 mg | 1,81 mg | 0,95 mg | 118,9 ml | |
| (*) pesagem em balança analítica | | | (* *) pesagem em balança semi micro | | | | |

Fonte: Autor.

APÊNDICE B – DADOS DO PARÂMETRO LINEARIDADE

Tabela com massas e volumes gastos para a construção das curvas

| | CURVA 1 05/11/21 | | | CURVA 2 12/11/21 | | | CURVA 3 19/11/21 | | |
|----------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | Alíquota 1 | Alíquota 2 | Alíquota 3 | Alíquota 1 | Alíquota 2 | Alíquota 3 | Alíquota 1 | Alíquota 2 | Alíquota 3 |
| AMOSTRAS 300 mg | 301,8 mg 59,9 ml | 303,0 mg 60,1 ml | 301,7 mg 59,8 ml | 300,5 mg 59,6 ml | 302,0 mg 60,1 ml | 301,0 mg 60,0 ml | 300,3 mg 59,9 ml | 301,5 mg 59,6 ml | 299,5 mg 59,3 ml |
| AMOSTRAS 400 mg | 400,7 mg 79,9 ml | 399,3 mg 79,6 ml | 401,8 mg 79,8 ml | 400,9 mg 80,1 ml | 402,9 mg 80,3 ml | 400,5 mg 80,0 ml | 400,8 mg 79,4 ml | 400,9 mg 79,7 ml | 401,4 mg 79,5 ml |
| AMOSTRAS 500 mg | 501,4 mg 99,2 ml | 501,9 mg 99,4 ml | 500,2 mg 99,3 ml | 499,1 mg 99,2 ml | 502,8 mg 99,4 ml | 500,7 mg 99,3 ml | 500,2 mg 99,2 ml | 500,5 mg 99,3 ml | 500,7 mg 99,3 ml |
| AMOSTRAS 600 mg | 599,0 mg 118,3 ml | 601,2 mg 120,1 ml | 602,1 mg 119,2 ml | 600,8 mg 119,2 ml | 600,6 mg 119,3 ml | 602,7 mg 119,5 ml | 599,3 mg 119,0 ml | 601,3 mg 119,5 ml | 601,8 mg 119,5 ml |
| AMOSTRAS 700 mg | 700,1 mg 139,4 ml | 700,8 mg 139,5 ml | 701,3 mg 139,3 ml | 701,4 mg 139,1 ml | 698,9 mg 138,9 ml | 699,6 mg 139,3 ml | 700,5 mg 139,3 ml | 701,3 mg 139,8 ml | 701,4 mg 139,6 ml |
| AMOSTRAS 800 mg | 801,7 mg 160,1 ml | 800,7 mg 158,9 ml | 799,9 mg 158,8 ml | 800,1 mg 159,4 ml | 801,1 mg 159,9 ml | 799,7 mg 160,3 ml | 801,9 mg 160,0 ml | 799,8 mg 159,4 ml | 801,7 mg 159,7 ml |

Obs: Volumes com branco descontado e corrigidos pelos fatores de correção

Fonte: Autor.

APÊNDICE C – DADOS GERAIS DO PARÂMETRO PRECISÃO

Tabela com as informações e resultados obtidos para as amostras analisadas

| Peso médio | Massas pesadas e volumes gastos | | | | | | | | FC | Data |
|------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------|----------|
| 693,7 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg | | | | | | | | 1,0009 | 22/11/21 |
| | 277,2 mg 43,3 ml | 274,8 mg 42,9 ml | 277,8 mg 43,4 ml | 276,0 mg 43,3 ml | 276,1 mg 43,3 ml | 278,9 mg 43,6 ml | 278,4 mg 44,1 ml | 278,0 mg 43,9 ml | | |
| 685,0 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | 1,0009 | 26/11/21 |
| | 274,6 mg 43,5 ml | 274,0 mg 43,1 ml | 272,5 mg 43,0 ml | 272,4 mg 43,2 ml | 275,9 mg 43,5 ml | 274,8 mg 43,3 ml | 274,1 mg 43,1 ml | 271,2 mg 42,8 ml | | |
| 685,7 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | 1,0009 | 29/11/21 |
| | 274,8 mg 43,2 ml | 273,8 mg 43,0 ml | 275,7 mg 43,2 ml | 272,2 mg 42,3 ml | 275,1 mg 42,9 ml | 274,1 mg 43,4 ml | 274,0 mg 43,3 ml | 273,4 mg 43,3 ml | | |
| 680,4 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | 1,0004 | 10/12/21 |
| | 273,9 mg 42,2 ml | 272,8 mg 41,8 ml | 272,2 mg 41,4 ml | 272,0 mg 41,7 ml | 272,4 mg 42,0 ml | 272,5 mg 41,5 ml | 272,0 mg 41,2 ml | 271,4 mg 41,0 ml | | |
| 682,3 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | 1,0004 | 13/12/21 |
| | 272,2 mg 41,5 ml | 272,9 mg 41,9 ml | 273,0 mg 41,7 ml | 272,8 mg 41,7 ml | 271,9 mg 41,5 ml | 273,3 mg 42,0 ml | 272,3 mg 41,9 ml | 273,2 mg 42,1 ml | | |
| 683,3 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | 1,0004 | 17/12/21 |
| | 274,4 mg 41,9 ml | 275,7 mg 41,7 ml | 275,1 mg 41,9 ml | 275,4 mg 42,1 ml | 275,4 mg 42,1 ml | 274,7 mg 42,1 ml | 274,9 mg 42,3 ml | 274,6 mg 42,3 ml | | |
| 666,2 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 400 UI | | | | | | | | 1,0009 | 02/12/21 |
| | 266,1 mg 41,0 ml | 266,0 mg 40,2 ml | 267,1 mg 40,2 ml | 265,9 mg 40,5 ml | 267,2 mg 40,8 ml | 267,2 mg 40,5 ml | 266,9 mg 40,0 ml | 267,7 mg 40,2 ml | | |
| 670,4 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 400 UI | | | | | | | | 1,0009 | 06/12/21 |
| | 269,2 mg 40,6 ml | 269,2 mg 41,2 ml | 268,0 mg 40,8 ml | 268,2 mg 41,0 ml | 267,6 mg 40,8 ml | 269,1 mg 40,2 ml | 268,6 mg 41,1 ml | 269,0 mg 41,2 ml | | |
| 678,1 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 400 UI | | | | | | | | 1,0009 | 08/12/21 |
| | 271,4 mg 41,5 ml | 271,4 mg 41,0 ml | 270,7 mg 40,6 ml | 271,0 mg 41,1 ml | 272,3 mg 41,5 ml | 271,6 mg 40,7 ml | 272,7 mg 40,5 ml | 272,1 mg 40,4 ml | | |
| 661,5 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 600 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | 1,0004 | 10/12/21 |
| | 220,2 mg 41,9 ml | 220,0 mg 41,4 ml | 221,4 mg 41,8 ml | 220,1 mg 41,4 ml | 219,3 mg 41,6 ml | 219,0 mg 41,2 ml | 220,0 mg 41,4 ml | 221,4 mg 41,9 ml | | |
| 661,1 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 600 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | 1,0004 | 13/12/21 |
| | 222,3 mg 41,9 ml | 222,3 mg 42,1 ml | 220,6 mg 41,4 ml | 222,2 mg 41,9 ml | 220,8 mg 41,8 ml | 222,4 mg 42,3 ml | 222,1 mg 42,0 ml | 220,3 mg 41,2 ml | | |
| 662,2 mg | • CARBONATO DE CÁLCIO 600 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | 1,0004 | 15/12/21 |
| | 220,1 mg 41,5 ml | 221,0 mg 41,8 ml | 220,3 mg 41,7 ml | 220,0 mg 41,9 ml | 221,1 mg 41,6 ml | 219,7 mg 42,0 ml | 219,9 mg 41,2 ml | 220,1 mg 41,6 ml | | |

Fonte: Autor.

Tabela com as porcentagens das obtidas nas determinações.

| TEOR (%) DETERMINADO EM CADA AMOSTRA | | | | | | | | | DATA |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--|----------|
| • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg | | | | | | | | | |
| 108,5 % | 108,5 % | 108,6 % | 109,0 % | 109,0 % | 108,6 % | 110,1 % | 109,7 % | | 22/11/21 |
| 108,7 % | 109,3 % | 109,6 % | 110,2 % | 109,6 % | 109,5 % | 109,3 % | 109,7 % | | 26/11/21 |
| 107,9 % | 107,8 % | 107,5 % | 106,7 % | 107,0 % | 108,7 % | 108,5 % | 108,7 % | | 29/11/21 |
| • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | | |
| 105,0 % | 104,4 % | 103,6 % | 104,4 % | 105,0 % | 103,7 % | 103,2 % | 102,9 % | | 10/12/21 |
| 104,2 % | 104,9 % | 104,4 % | 104,5 % | 104,3 % | 105,0 % | 105,2 % | 105,3 % | | 13/12/21 |
| 104,4 % | 103,4 % | 104,1 % | 104,5 % | 104,5 % | 104,8 % | 105,2 % | 105,3 % | | 17/12/21 |
| • CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 400 UI | | | | | | | | | |
| 102,8 % | 100,9 % | 100,4 % | 101,7 % | 101,9 % | 101,2 % | 100,0 % | 100,2 % | | 02/12/21 |
| 101,3 % | 102,1 % | 101,6 % | 102,0 % | 101,8 % | 99,7 % | 102,1 % | 102,2 % | | 06/12/21 |
| 103,9 % | 102,6 % | 101,9 % | 103,0 % | 103,5 % | 101,8 % | 100,9 % | 100,8 % | | 08/12/21 |
| • CARBONATO DE CÁLCIO 600 mg + VITAMINA D 200 UI | | | | | | | | | |
| 105,0 % | 103,9 % | 104,2 % | 103,8 % | 104,7 % | 103,8 % | 103,9 % | 104,4 % | | 10/12/21 |
| 104,7 % | 105,2 % | 104,3 % | 104,8 % | 105,2 % | 105,7 % | 105,1 % | 103,9 % | | 13/12/21 |
| 104,2 % | 104,5 % | 104,6 % | 105,2 % | 104,0 % | 105,6 % | 103,5 % | 104,4 % | | 15/12/21 |

Fonte: Autor.

APÊNDICE D – DADOS DO PARÂMETRO EXATIDÃO

Tabela com os dados da recuperação do padrão para as amostras de carbonato de cálcio
500 mg.

| RESULTADO DO PADRÃO: | | 299,5 mg | | RESULTADO DA AMOSTRA: | | 323,3 mg | |
|----------------------|-------------------|--------------------------|---------|-----------------------|---------|----------|--|
| PADRÃO ADICIONADO | PADRÃO RECUPERADO | % RECUPERADA | DP | MÉDIA | DPR | | |
| 101,6 mg | CR1 | 101,0 mg | 99,47 % | 0,65 | 98,77 % | 0,66 % | |
| 101,3 mg | CR2 | 99,1 mg | 97,91 % | | | | |
| 100,2 mg | CR3 | 99,1 mg | 98,95 % | | | | |
| R1 | 425,4 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | | | |
| R2 | 422,9 mg | | | | | | |
| R3 | 422,4 mg | | | | | | |
| 301,0 mg | CR1 | 296,7 mg | 98,55 % | 0,21 | 98,69 % | 0,22 % | |
| 298,0 mg | CR2 | 295,0 mg | 98,99 % | | | | |
| 300,5 mg | CR3 | 296,1 mg | 98,52 % | | | | |
| R1 | 620,8 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | | | |
| R2 | 619,3 mg | | | | | | |
| R3 | 619,8 mg | | | | | | |
| 498,9 mg | CR1 | 492,5 mg | 98,72 % | 0,40 | 98,29 % | 0,41 % | |
| 498,8 mg | CR2 | 487,5 mg | 97,75 % | | | | |
| 498,5 mg | CR3 | 490,5 mg | 98,40 % | | | | |
| R1 | 816,2 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | | | |
| R2 | 811,2 mg | | | | | | |
| R3 | 813,7 mg | | | | | | |

Fonte: Autor.

Tabela com os dados da recuperação do padrão para as amostras de carbonato de cálcio
500 mg. + vitamina D 200 UI.

| RESULTADO DO PADRÃO: | | 298,7 mg | | RESULTADO DA AMOSTRA: | | 317,7 mg | |
|----------------------|-------------------|--------------------------|----------|-----------------------|----------|----------|--|
| PADRÃO ADICIONADO | PADRÃO RECUPERADO | % RECUPERADA | DP | MÉDIA | DPR | | |
| 100,3 mg | CR1 | 96,4 mg | 96,15 % | 0,87 | 95,46 % | 0,91 % | |
| 99,3 mg | CR2 | 95,3 mg | 95,99 % | | | | |
| 100,3 mg | CR3 | 94,5 mg | 94,24 % | | | | |
| R1 | 414,0 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | | | |
| R2 | 413,5 mg | | | | | | |
| R3 | 412,0 mg | | | | | | |
| 299,3 mg | CR1 | 306,6 mg | 102,45 % | 2,85 | 100,10 % | 2,85 % | |
| 298,0 mg | CR2 | 303,3 mg | 101,77 % | | | | |
| 299,0 mg | CR3 | 287,3 mg | 96,09 % | | | | |
| R1 | 624,2 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | | | |
| R2 | 620,7 mg | | | | | | |
| R3 | 605,7 mg | | | | | | |
| 497,8 mg | CR1 | 499,3 mg | 100,30 % | 1,51 | 98,16 % | 1,54 % | |
| 497,9 mg | CR2 | 483,1 mg | 97,03 % | | | | |
| 498,1 mg | CR3 | 483,9 mg | 97,14 % | | | | |
| R1 | 817,0 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | | | |
| R2 | 801,0 mg | | | | | | |
| R3 | 802,0 mg | | | | | | |

Fonte: Autor.

Tabela com os dados da recuperação do padrão para as amostras de carbonato de cálcio

500 mg. + vitamina D 400 UI.

| RESULTADO DO PADRÃO: | | 298,0 mg | RESULTADO DA AMOSTRA: | | 309,4 mg |
|----------------------|-------------------|--------------------------|-----------------------|-------|----------|
| PADRÃO ADICIONADO | PADRÃO RECUPERADO | % RECUPERADA | DP | MÉDIA | DPR |
| 99,4 mg | CR1 | 97,7 mg | 98,27 % | 0,92 | 98,59 % |
| 98,8 mg | CR2 | 96,5 mg | 97,65 % | | |
| 98,8 mg | CR3 | 98,6 mg | 99,84 % | | |
| R1 | 407,3 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | |
| R2 | 405,8 mg | | | | |
| R3 | 407,8 mg | | | | |
| 298,7 mg | CR1 | 291,5 mg | 97,58 % | 0,43 | 97,96 % |
| 297,9 mg | CR2 | 293,6 mg | 98,57 % | | |
| 298,0 mg | CR3 | 291,3 mg | 97,75 % | | |
| R1 | 600,5 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | |
| R2 | 602,5 mg | | | | |
| R3 | 601,0 mg | | | | |
| 495,9 mg | CR1 | 494,3 mg | 99,68 % | 0,34 | 99,97 % |
| 497,0 mg | CR2 | 495,9 mg | 99,79 % | | |
| 495,7 mg | CR3 | 497,9 mg | 100,44 % | | |
| R1 | 803,6 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | |
| R2 | 805,1 mg | | | | |
| R3 | 807,2 mg | | | | |

Fonte: Autor.

Tabela com os dados da recuperação do padrão para as amostras de carbonato de cálcio

600 mg. + vitamina D 400 UI.

| RESULTADO PADRÃO | | 298,5 mg | RESULTADO. AMOSTRA | | 308,7 mg |
|-------------------|-------------------|--------------------------|--------------------|-------|----------|
| PADRÃO ADICIONADO | PADRÃO RECUPERADO | % RECUPERADA | DP | MÉDIA | DPR |
| 100,3 mg | CR1 | 96,6 mg | 96,26 % | 0,67 | 97,19 % |
| 99,2 mg | CR2 | 97,0 mg | 97,79 % | | |
| 100,1 mg | CR3 | 97,6 mg | 97,51 % | | |
| R1 | 405,8 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | |
| R2 | 405,8 mg | | | | |
| R3 | 406,3 mg | | | | |
| 298,7 mg | CR1 | 291,6 mg | 97,64 % | 0,33 | 98,06 % |
| 298,1 mg | CR2 | 293,4 mg | 98,44 % | | |
| 297,5 mg | CR3 | 291,8 mg | 98,10 % | | |
| R1 | 600,5 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | |
| R2 | 602,5 mg | | | | |
| R3 | 601,0 mg | | | | |
| 496,9 mg | CR1 | 499,1 mg | 100,45 % | 0,42 | 100,09 % |
| 497,0 mg | CR2 | 494,5 mg | 99,51 % | | |
| 497,9 mg | CR3 | 499,4 mg | 100,31 % | | |
| R1 | 808,7 mg | (TEOR DE CADA REPLICATA) | | | |
| R2 | 804,1 mg | | | | |
| R3 | 807,7 mg | | | | |

Fonte: Autor.

APÊNDICE E – DADOS DO PARÂMETRO ROBUSTEZ

Massas, volumes e teores das combinações para o teste de Youden.

| Combinação/ Replicata | Carbonato 500 mg P. médio 687,9 | | | | Carbonato 600 mg + Vitamina D 400UI P. médio 663,3 mg | | | |
|--------------------------|------------------------------------|---------|---------|---------|--|---------|---------|---------|
| | Massa | Volume | Teor % | Médias | Massa | Volume | Teor % | Médias |
| 1.1 | 277,2 mg | 43,3 ml | 107,6 % | 107,6 % | 220,2 mg | 41,9 ml | 105,3 % | 104,6 % |
| 1.2 | 274,8 mg | 42,9 ml | 107,5 % | | 220,0 mg | 41,4 ml | 104,1 % | |
| 1.3 | 277,8 mg | 43,4 ml | 107,6 % | | 221,4 mg | 41,8 ml | 104,5 % | |
| 2.1 | 202,0 mg | 31,8 ml | 108,5 % | 108,5 % | 199,8 mg | 36,9 ml | 102,3 % | 103,1 % |
| 2.2 | 199,2 mg | 31,4 ml | 108,7 % | | 200,7 mg | 37,2 ml | 102,7 % | |
| 2.3 | 201,1 mg | 31,6 ml | 108,3 % | | 199,3 mg | 37,5 ml | 104,2 % | |
| 3.1 | 198,8 mg | 30,7 ml | 106,5 % | 107,5 % | 200,0 mg | 37,3 ml | 103,3 % | 103,0 % |
| 3.2 | 201,3 mg | 31,3 ml | 107,2 % | | 199,8 mg | 37,2 ml | 103,1 % | |
| 3.3 | 201,3 mg | 31,8 ml | 108,9 % | | 201,2 mg | 37,3 ml | 102,7 % | |
| 4.1 | 199,1 mg | 31,8 ml | 110,1 % | 111,6 % | 201,7 mg | 38,3 ml | 105,2 % | 105,0 % |
| 4.2 | 200,0 mg | 32,2 ml | 111,0 % | | 200,8 mg | 38,0 ml | 104,8 % | |
| 4.3 | 200,2 mg | 33,0 ml | 113,6 % | | 198,3 mg | 37,6 ml | 105,0 % | |
| 5.1 | 217,7 mg | 35,1 ml | 111,1 % | 109,9 % | 220,6 mg | 41,8 ml | 105,0 % | 105,1 % |
| 5.2 | 221,1 mg | 35,0 ml | 109,1 % | | 219,4 mg | 41,8 ml | 105,5 % | |
| 5.3 | 220,0 mg | 34,9 ml | 109,4 % | | 222,4 mg | 42,1 ml | 104,9 % | |
| 6.1 | 220,0 mg | 34,9 ml | 109,4 % | 109,0 % | 219,5 mg | 40,3 ml | 101,7 % | 101,8 % |
| 6.2 | 222,3 mg | 35,2 ml | 109,2 % | | 222,7 mg | 40,9 ml | 101,7 % | |
| 6.3 | 221,1 mg | 34,8 ml | 108,5 % | | 219,7 mg | 40,4 ml | 101,9 % | |
| 7.1 | 220,3 mg | 34,9 ml | 106,1 % | 105,7 % | 219,3 mg | 40,4 ml | 102,0 % | 101,9 % |
| 7.2 | 219,3 mg | 34,6 ml | 105,7 % | | 219,2 mg | 40,4 ml | 102,1 % | |
| 7.3 | 220,1 mg | 34,6 ml | 105,3 % | | 221,4 mg | 40,6 ml | 101,6 % | |
| 8.1 | 221,4 mg | 35,9 ml | 108,6 % | 108,3 % | 220,0 mg | 42,0 ml | 105,7 % | 105,8 % |
| 8.2 | 219,3 mg | 35,3 ml | 107,8 % | | 222,3 mg | 42,7 ml | 106,4 % | |
| 8.3 | 220,6 mg | 35,7 ml | 108,4 % | | 218,7 mg | 41,6 ml | 105,4 % | |

Fonte: Autor.

APÊNDICE F – DADOS DAS AMOSTRAS E REAGENTES

CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg

| | | | | | |
|-------------|------------------------|------------|----------|-----------|----------|
| Lote: | 2106064 | Fabricação | 23/06/21 | Validade: | 23/06/23 |
| Farm. Resp: | Tiago Nunes Cavalcante | | CRF/CE | 3149 | |

CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 200 UI

| | | | | | |
|-------------|------------------------|------------|----------|-----------|----------|
| Lote: | 2109058 | Fabricação | 01/09/21 | Validade: | 01/09/23 |
| Farm. Resp: | Tiago Nunes Cavalcante | | CRF/CE | 3149 | |

CARBONATO DE CÁLCIO 500 mg + VITAMINA D 400 UI

| | | | | | |
|-------------|------------------------|------------|----------|-----------|----------|
| Lote: | 2109063 | Fabricação | 30/09/21 | Validade: | 30/09/23 |
| Farm. Resp: | Tiago Nunes Cavalcante | | CRF/CE | 3149 | |

CARBONATO DE CÁLCIO 600 mg + VITAMINA D 400 UI

| | | | | | |
|-------------|------------------------|------------|----------|-----------|----------|
| Lote: | 2012065 | Fabricação | 02/12/20 | Validade: | 02/12/22 |
| Farm. Resp: | Tiago Nunes Cavalcante | | CRF/CE | 3149 | |

EDTA (SAL DISSÓDICO) P.A – ACS

| | | | | | |
|------|----------|-------|------|-----------|---------|
| Fab: | GREENTEC | Lote: | 2113 | Validade: | 03/2023 |
|------|----------|-------|------|-----------|---------|

CARBONATO DE CÁLCIO P.A

| | | | | | |
|------|-------|-------|----------|-----------|----------|
| Fab: | ÊXODO | Lote: | CC2939RA | Validade: | 05/12/23 |
|------|-------|-------|----------|-----------|----------|
