

# USO DE PLANILHA ELETRÔNICA NA VERIFICAÇÃO DA ADEQUAÇÃO DE CURVA ANALÍTICA AO MODELO LINEAR

## THE USE OF ELECTRONIC SPREADSHEET IN THE VERIFICATION OF THE ADEQUACY OF ANALYTICAL CURVE TO THE LINEAR MODEL

### RESUMO

A avaliação de curvas analíticas quanto à sua adequação ao modelo linear é uma etapa importante para a confiabilidade dos resultados do laboratório. O presente trabalho apresenta uma solução para a otimização do tempo gasto com os cálculos estatísticos, imprescindíveis para a avaliação da curva. Para a apresentação da planilha foi utilizado como exemplo o preparo de uma curva analítica para a determinação do monômero  $\epsilon$ -caprolactama em matriz alcoólica (etanol 95%). A planilha foi desenvolvida no software Microsoft Excel® e pode ser gratuitamente obtida.

**Palavras-chave:** Planilha Eletrônica. Linearidade. Validação.

### ABSTRACT

The evaluation of analytical curves and their suitability for the linear model is an important step in the reliability of laboratory results. This paper presents a solution to the optimization of the time spent with statistical calculations, essential for the evaluation of the curve. For the presentation of the spreadsheet was used as an example the preparation of an analytical curve for the determination of  $\epsilon$ -caprolactam monomer in alcoholic matrix (ethanol 95%). The spreadsheet software was developed in Microsoft® Excel and can be obtained free of charge.

**Keywords:** Spreadsheet. Linearity. Validation.

### INTRODUÇÃO

A construção de curvas analíticas é uma prática comum em laboratório, sendo este passo de extrema importância para a obtenção de resultados precisos e com boa exatidão. Uma curva analítica bem construída e bem estudada garante confiabilidade à análise e ao resultado analítico, porém há dificuldade na avaliação mais aprofundada sobre a adequação desta ao modelo adotado. Uma avaliação simplificada através do coeficiente de correlação, por muitas vezes, não é a mais adequada. Por outro lado testes mais completos requerem um conhecimento estatístico mínimo, além de exigir uma alta carga de cálculos matemáticos.

O uso de planilhas eletrônicas construídas para este fim pode ser, quando utilizadas adequadamente, uma poderosa ferramenta para tais avaliações. Por meio da planilha eletrô-

nica podemos avaliar uma curva analítica através de cálculos matemáticos complexos em poucos minutos de maneira fácil e confiável.

Neste trabalho é apresentada uma planilha eletrônica, desenvolvida com base nos estudos de Souza e Junqueira (2005), para avaliação da adequação de uma curva analítica ao modelo linear.

Existem diversos modelos de teste disponíveis sendo alguns mais adequados a cada situação. Para a construção da planilha eletrônica apresentada foram selecionados testes já bastante utilizados e discutidos. Souza e Junqueira propõe um procedimento detalhado para o teste de linearidade de curvas de calibração na validação do ensaio analítico pelo método de mínimos quadrados ordinários (OLSM), incluindo

*Fabio S. Bazilio\*,  
Marcus V.J. Bomfim,  
Rodrigo J. Almeida e  
Shirley M.P. Abrantes*

Departamento de Química,  
Instituto Nacional de Controle de  
Qualidade em Saúde (INCQS),  
Fundação Oswaldo Cruz  
(FIOCRUZ)

\*Correspondência:  
fabio.bazilio@incqs.fiocruz.br

# Seminários Expolabor

A **Expolabor** é uma entidade sem fins lucrativos que reúne as melhores empresas do mercado brasileiro de produtos para laboratórios. Tem como objetivo auxiliar os profissionais de pesquisa, indústria, ensino e saúde, no que diz respeito à área de laboratório, desde o projeto civil até a especificação e definição de equipamentos e suprimentos.

A Expolabor há 30 anos oferece uma extensa programação de seminários técnicos. Confira a programação de 2012.

## Calendário de Seminários

Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
<b>Dia 26</b> A Importância da Microscopia na Operação do Sistema de Tratamento por Lodos Ativados	<b>Dia 09</b> Tecnologia do DNA Recombinante  <b>Dias 14 e 15</b> Viscosimetria e Reometria  <b>Dias 28 e 29</b> Validação de Métodos de Ensaio	<b>Dias 11 e 12</b> Gerenciamento de Resíduos Químicos de Laboratórios  <b>Dias 18 e 19</b> Auditoria Interna da Qualidade em Laboratórios  <b>Dia 26</b> Novas Tecnologias em Qualificação Elementar - ICP-MS	<b>Dia 09</b> Segurança em Laboratório Químico  <b>Dia 17</b> Métodos de Calibração e Observação em Microscopia Ótica	<b>Dias 06 e 07</b> Sistema da Qualidade em Laboratórios, Segundo BPL e ISO/IEC 17025  <b>Dias 27 e 28</b> Projeto, Construção, instalação e Reformas de Laboratórios

Para obter informações completas sobre estes eventos, fazer suas inscrições, visitar nosso show-room, conhecer nosso acervo de apostilas técnicas ou esclarecer dúvidas, entre em contato conosco ou acesse nosso site.

Expositores:



ANALYTICA



CISA Feel the innovation



Cadastre-se pelo endereço:

**[www.expolabor.com.br](http://www.expolabor.com.br)**

Tels.: 11 4787.8973 / 4701-5511  
[marketing@expolabor.com.br](mailto:marketing@expolabor.com.br)



delineamento experimental, a estimativa dos parâmetros, e tratamento de valores extremos (outliers) (SOUZA E JUNQUEIRA, 2005).

## MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir será apresentada a metodologia utilizada no preparo da curva analítica assim como sua avaliação por meio da planilha eletrônica. Para exemplificar foi utilizada uma curva analítica para determinação da concentração de  $\epsilon$ -caprolactama em matriz alcoólica (etanol 95%).

### Desenho experimental da curva analítica

Para definição da faixa de trabalho a ser utilizada é necessária a observação do limite de restrição do analito, presente na legislação. Esta concentração deve encontrar-se no meio da faixa de trabalho, onde a curva analítica apresenta a menor incerteza para a determinação da concentração. Os níveis de concentração da curva analítica devem ser igualmente espaçados e preparados com três repetições genuínas, ou seja, cada repetição é preparada independentemente, a partir de soluções estoque diferentes (THOMPSON *et al*, 2002).

### Métodos utilizados para a avaliação da curva

#### Estimativa dos parâmetros de Regressão

Os parâmetros  $a$  e  $b$  da regressão são estimados através das equações 1 e 2.

$$b = \frac{S_{xy}}{S_{xx}}, \quad \text{Equação 1}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x}. \quad \text{Equação 2}$$

Sendo,

$$S_{xy} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}),$$

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2.$$

O resíduo  $e_i$  referente a cada valor  $x_i$ , é dado pela equação 3.

$$e_i = y_i - \hat{y}_i \quad \text{Equação 3}$$

Sendo,

$\hat{y}_i$  = variável dependente estimada pela equação de regressão.

O coeficiente de determinação do ajuste  $R^2$  é definido pela equação 4.

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad \text{Equação 4}$$

#### Tratamento de Valores Extremos (outliers)

Valores extremos são valores ou dados que estatisti-

camente não fazem parte do conjunto de dados estudado, podendo levar a erros na estimativa dos parâmetros da regressão (BELSEY *et al*, 1980). Sendo assim é importante a avaliação da presença destes e uma possível exclusão. Os valores extremos são avaliados pelo método dos resíduos padronizados Jackknife, cuja estatística é o resíduo padronizado Jackknife  $J_{ei}$ , calculado para cada ponto da curva de calibração, conforme descrito pela equação 5.

$$J_{ei} = r_i \sqrt{\frac{n-p-1}{n-p-r_i^2}}, \quad \text{Equação 5}$$

Sendo,

$p$  = número de parâmetros do modelo,

$$r_i = \frac{e_i}{s_{e_i}} \quad (\text{resíduo padronizado}),$$

$$s_{e_i} = s_{res} \sqrt{1-h_i} \quad (\text{erro padrão do resíduo}),$$

$$h_i = \frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{S_{xx}} \quad (\text{ponto de alavanca}),$$

$$s_{res} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}.$$

Valores maiores que o valor  $t_{(1-\alpha/2; n-p-1)}$  crítico são considerados valores extremos, podendo ser removidos até o máximo de 22,2% do total de determinações (HORWITZ, 1995). Não se deve também excluir todo um nível de concentração, devendo permanecer ao menos uma repetição em cada nível. A cada dado excluído os parâmetros de regressão são novamente estimados.

#### Teste de Normalidade

O método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO) pressupõe que os resíduos da regressão seguem a distribuição normal, não havendo desvios de normalidade. A normalidade dos resíduos da regressão é verificada pelo teste Ryan-Joiner (RYAN, JOINER, 1976). Os resíduos são primeiramente ordenados em ordem crescente. Em seguida, é construído um gráfico dos valores dos resíduos ordenados  $e_i$  versus os valores dos percentis estimados para uma distribuição normal reduzida  $q_i$  (quantis normais). Os quantis normais são obtidos pela equação 6.

$$q_i = \varphi^{-1} \left\{ \frac{(i-3/8)}{(n+1/4)} \right\}, i=1, \dots, n, \quad \text{Equação 6}$$

Sendo,

$q_i$  = valor normal esperado,

$\varphi^{-1}$  = inverso de uma função de distribuição normal padrão.

O coeficiente de correlação  $R_{eq}$  entre  $e_i$  e  $q_i$  é calculado pela equação 7.

$$R_{eq} = \frac{S_{eq}}{\sqrt{S_{ee} \times S_{qq}}}, \quad \text{Equação 7}$$

Sendo,

$$S_{eq} = \sum_{i=1}^n (e_i - \bar{e})(q_i - \bar{q}) = \sum_{i=1}^n e_i q_i - \frac{\sum_{i=1}^n e_i \sum_{i=1}^n q_i}{n},$$

$$S_{ee} = \sum_{i=1}^n (e_i - \bar{e})^2 = \sum_{i=1}^n e_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n e_i\right)^2}{n},$$

$$S_{qq} = \sum_{i=1}^n (q_i - \bar{q})^2 = \sum_{i=1}^n q_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n q_i\right)^2}{n},$$

$$\bar{e} = \frac{\sum_{i=1}^n e_i}{n},$$

$$\bar{q} = \frac{\sum_{i=1}^n q_i}{n}.$$

O coeficiente de correlação  $R_{eq}$  é então comparado com o  $R_{crit}(n)$  para um  $\alpha$  de 0,05, como descrito na equação 8.

$$R_{crit}(n) \approx 1,0063 - \frac{0,1288}{\sqrt{n}} - \frac{0,6118}{n} + \frac{1,3505}{n^2} \quad \text{Equação 8}$$

O coeficiente de correlação  $R_{eq}$  deve ser maior que o valor de  $R_{crit}(n)$ . Valores abaixo indicam, a não normalidade dos resíduos da regressão.

### Teste de Homoscedasticidade

A homoscedasticidade dos resíduos da regressão é verificada através do teste de Levene (1960) (LEVENE, 1960), modificado por Brown & Forsythe (1974). Os resíduos são divididos igualmente em dois grupos, mas sem que haja separação de repetições de um mesmo nível em grupos diferentes. Um deve conter os níveis de menor concentração e outro os níveis restantes. São calculadas as medianas dos resíduos de cada grupo ( $\tilde{e}_1$  e  $\tilde{e}_2$ ), o valor absoluto das diferenças entre os resíduos e as medianas dos respectivos grupos ( $d_{1j} = |\tilde{e}_1 - e_{1j}|$  e  $d_{2j} = |\tilde{e}_2 - e_{2j}|$ ), a média das diferenças  $\bar{d}_k$  e a soma dos quadrados dos desvios  $SQD_k$  dos valores  $d_{kj}$  de cada  $k$  grupo. A estatística  $t_L$  é obtida pela equação 9.

$$t_L = \frac{(\bar{d}_1 - \bar{d}_2)}{\sqrt{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right) S_p^2}}, \quad \text{Equação 9}$$

Sendo,

$$\bar{d}_k = \frac{\sum_{i=1}^n |\tilde{e}_k - e_{ij}|}{n_k},$$

$n_k$  = número de dados em cada  $k$  grupo,

$\tilde{e}_k$  = mediana de cada  $k$  grupo,

Sp2 (variância combinada), onde  $d_{kj}$  é a diferença entre cada  $j$ -ésimo resíduo e a mediana de seu  $k$  grupo.

Há indicação de homoscedasticidade caso a estatística  $t_L$  não exceda o valor crítico  $t_{(1-\alpha/2; n_1+n_2-2)}$ .

### Teste de Independência (Autocorrelação dos resíduos)

A autocorrelação ou independência dos resíduos é verificada através do teste de Durbin-Watson (DURBIN & WATSON, 1951). A estatística deste teste é a estatística  $d$ , definida pela equação 10.

$$d = \frac{\sum_{i=1}^n (e_i - e_{i-1})^2}{\sum_{i=1}^n e_i^2}. \quad \text{Equação 10}$$

São calculados dois limites críticos  $d_L$  (limite inferior) e  $d_U$  (limite superior). Se o valor de  $d$  estiver entre os dois limites, o teste é inconclusivo. Valores de  $d$  menores que  $d_L$ , indicam autocorrelação, enquanto valores de  $d$  maiores que  $d_U$  indicam independência dos resíduos. Os limites  $d_L$  e  $d_U$  para um  $\alpha = 0,05$  são dados pelas equações 11 e 12.

$$d_L \approx 1,9693 - \frac{2,8607}{\sqrt{n}} - \frac{3,4148}{n} + \frac{16,6400}{n^2}, \quad \text{Equação 11}$$

$$d_U \approx 1,9832 - \frac{3,0547}{\sqrt{n}} + \frac{1,3862}{n} + \frac{16,3662}{n^2}. \quad \text{Equação 12}$$

### Teste de significância da regressão e do desvio da linearidade

O teste de significância da regressão e do desvio da linearidade é realizado através da análise de variância apresentada na Tabela 1, avaliada através da estimativa dos parâmetros pelo método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO) (DRAPER & SMITH, 1998).

O valor da significância  $p$  observado para a regressão deve ser menor que 0,001 enquanto o valor da significância  $p$  observado para o desvio da linearidade deverá ser maior que 0,05.

**Tabela 1.** Análise de variância para significância da regressão e do desvio da linearidade

FV	GL	SQ	QM	F	p
Regressão	1	$\left[ \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \right]^2$	$\frac{SQ_{Regr}}{GL_{Regr}}$	$\frac{QM_{Regr}}{S_{res}^2}$	Distribuição de probabilidade F $DISTF(F_{Regr}; GL_{Regr}; GL_{Residuo})$
Resíduos	n-2	$\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$	$\frac{SQ_{Res}}{GL_{Res}} = s_{res}^2$		
Desvio da Linearidade	u-2	$\sum_{i=1}^n n_k (\hat{y}_k - \bar{y}_k)^2$	$\frac{SQ_{Desvio}}{GL_{Desvio}}$	$\frac{QM_{Desvio}}{QM_{ErroPuro}}$	Distribuição de probabilidade F $DISTF(F_{Desvio}; GL_{Desvio}; GL_{ErroPuro})$
Entre Níveis	u-1	$\sum_{i=1}^n n_k (\bar{y}_k - \bar{y})^2$			
Erro Puro	n-u	$\sum_{k=1}^u \sum_{j=1}^{n_k} (y_{kj} - \bar{y}_k)^2$	$\frac{SQ_{ErroPuro}}{GL_{ErroPuro}}$		
Total	n-1	$\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$	$\frac{SQ_{Total}}{GL_{Total}}$		

FV, fonte de variação; GL, graus de liberdade; SQ, soma dos quadrados; QM, média dos quadrados; F, estatística da análise de variância; p, significância.

## Limites de detecção e quantificação

Através da curva analítica final, após sua avaliação e exclusão de possíveis valores extremos, são determinados os limites de detecção  $LOD$  (Equação 13) e de quantificação  $LOQ$  (Equação 14). O método utilizado baseia-se na curva preparada e no seu intervalo de confiança (MILLER & MILLER, 1993).

$$LOD = \frac{(Y_{sup} - a)}{b}, \quad \text{Equação 13}$$

$$LOQ = \frac{(2 \times LOD \times b + a) + t_{(0,05;n-2)} \times S_{yx} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(2 \times LOD - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}}{b}, \quad \text{Equação 14}$$

Onde,

$$Y_{sup} = a + t_{(0,05;n-2)} \times S_{yx} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}.$$

## Uso da Planilha Eletrônica

A planilha eletrônica foi desenvolvida no software Microsoft® EXCEL 2003 e requer que este esteja habilitado para rodar macros. Os cálculos referentes aos testes empregados correspondem aos apresentados anteriormente. É possível a sua utilização para avaliação de curvas analíticas lineares com um máximo de 21 dados, sendo estes distribuídos entre os níveis de concentração. Os níveis de concentrações devem ter um mínimo de duas repetições independentes ou replicatas, sendo o número ideal de no mínimo três.

**Planilha para Avaliação de Premissas**  
 Entrada de Dados

Análise:

Data de Coefecção da Curva:  Curva N°:

Replicatas por Nível (n):  N° de Níveis (N):

Equipamento:  Responsável:

Unidade de Concentração:  Tipo de Medição:

**Curva Analítica**

Nível (k)	i	Xi mg/L	Yi Área
1	1	2,041	31445
	2	2,030	30670
	3	2,027	30389
2	4	8,065	139621
	5	8,022	115532
	6	8,012	115017
3	7	14,079	263270
	8	14,004	292610
	9	13,996	255904
4	10	20,029	401945
	11	19,922	341495
	12	19,897	427037
5	13	26,043	476979
	14	25,904	492635
	15	25,872	410663
6	16	32,022	568445
	17	31,852	612566
	18	31,812	558995

Observações:

Armazenar Dados    Avaliar Outliers

N° de Outliers Retirados:

Resumo dos Resultados    Recuperar Dados

Figura 1. Página inicial da planilha (Entrada de Dados)

## Entrada de Dados

Após a planilha ser carregada, esta é iniciada na página inicial apresentada na Figura 1, chamada de “Entrada de Dados”. Nesta página são inseridos os dados de rastreabilidade da curva analítica assim como os resultados encontrados e informações importantes para a mesma.

Através do botão “Editar Planilha” será aberta a janela de “Opções” apresentada na Figura 2.

**Planilha para Avaliação de Premissas**  
 Entrada de Dados

Análise:

Data de Coefecção da Curva:  Curva N°:

Replicatas por Nível (n):  N° de Níveis (N):

Equipamento:  Responsável:

Unidade de Concentração:  Tipo de Medição:

**Curva Analítica**

Nível (k)	i	Xi mg/L	Yi Área
1	1	2,041	31445
	2	2,030	30670
	3	2,027	30389
2	4	8,065	139621
	5	8,022	115532
	6	8,012	115017
3	7	14,079	263270
	8	14,004	292610
	9	13,996	255904
4	10	20,029	401945
	11	19,922	341495
	12	19,897	427037
5	13	26,043	476979
	14	25,904	492635
	15	25,872	410663
6	16	32,022	568445
	17	31,852	612566
	18	31,812	558995

Observações:

Opções

Selecione a opção desejada

Nova Planilha

Editar dados de identificação da curva

Salvar planilha

Limpar Resultados da Curva

Sobre a Planilha

Cancelar    OK

Avaliar Outliers

Resumo dos Resultados

Recuperar Dados

Figura 2. Caixa de opções de entrada de dados

**Nova Planilha:** Inicia a entrada de dados de uma nova planilha. Caso haja dados previamente inseridos estes dados são apagados.

**Editar dados de identificação da curva:** Abre a caixa de opções de edição dos dados previamente inseridos.

**Salvar Planilha:** Esta opção abre a janela “Salvar como” onde é possível salvar a planilha no local desejado. A identificação dada para a curva é sugerida como nome do arquivo, porém este pode ser alterado como desejado.

**Limpar Resultados da Curva:** Limpa todos os resultados da curva inseridos.

**Sobre a Planilha:** Abre a janela de informações da planilha contendo a sua versão atual, autor e e-mail de contato. É possível ainda, através desta janela, visualizar as referências utilizadas para o desenvolvimento da mesma.

Ao selecionar a opção “Nova planilha” ou “Editar dados de identificação da curva” será aberta a janela “Dados da Curva”, como apresentado na Figura 3. Nesta janela são inseridos os dados da curva, ou os mesmos podem ser editados posteriormente. Algumas entradas possuem opções cadastradas que podem ser selecionadas, porém outras opções podem ser inseridas nas caixas de texto.

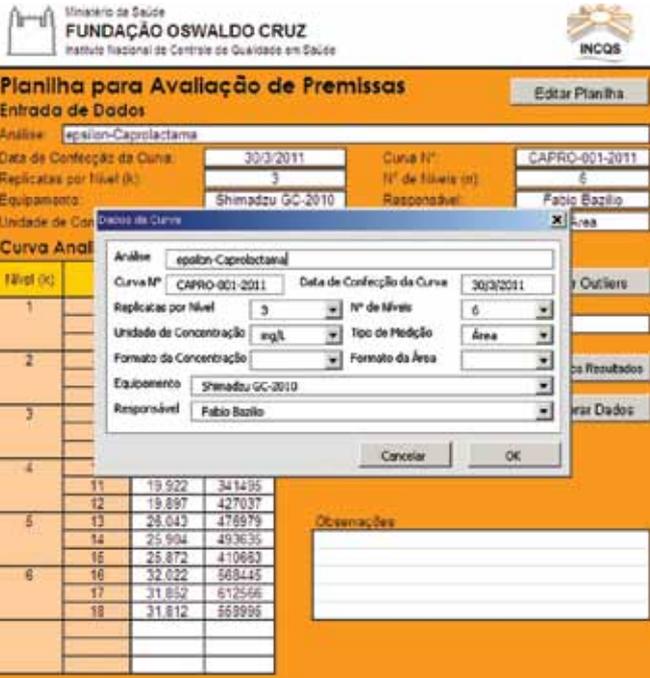


Figura 3. Caixa de entrada e edição de dados da curva

Na planilha principal apresentada na Figura 2 são inseridas as concentrações calculadas para os padrões preparados e os resultados encontrados para os mesmos. Após a inserção destes dados pode-se através do botão “Armazenar Dados” salvar os resultados da curva para posterior recuperação dos mesmos. Este passo é importante, pois na próxima etapa alguns dados podem ser considerados extremos, sendo excluídos.

### Avaliação da Presença de Valores Extremos

O botão “Avaliar Outliers” abre a janela “Avaliação de Outliers” (Figura 4) onde são carregados os resultados do teste de presença de valores extremos (outliers). Valores considerados extremos são apresentados em vermelho e estes podem ser excluídos selecionando-se o dado desejado e clicando-se no botão “Retirar Outliers”. Primeiramente devem ser excluídos os dados com maior valor absoluto de  $J_{\phi}$  para posterior exclusão do próximo. Deve-se observar ainda o máximo de 22,2% de dados excluídos.

Após a exclusão de possíveis valores extremos pode-se acessar a página do relatório final através do botão “Resumo dos Resultados” ou acessando a pasta “Curva Analítica”. No relatório final constam todos os dados e resultados dos testes realizados assim como a avaliação final dos mesmos. No campo “Resumo da Avaliação” observa-se a avaliação dos testes, sendo resultados negativos apresentados em vermelho. O campo “Limites de Detecção e Quantificação (LD e LQ)” apresenta os limites de quantificação e detecção determinados para a curva analítica preparada.

Os resultados dos testes são apresentados no relatório final, porém as planilhas completas contendo os cálculos rea-

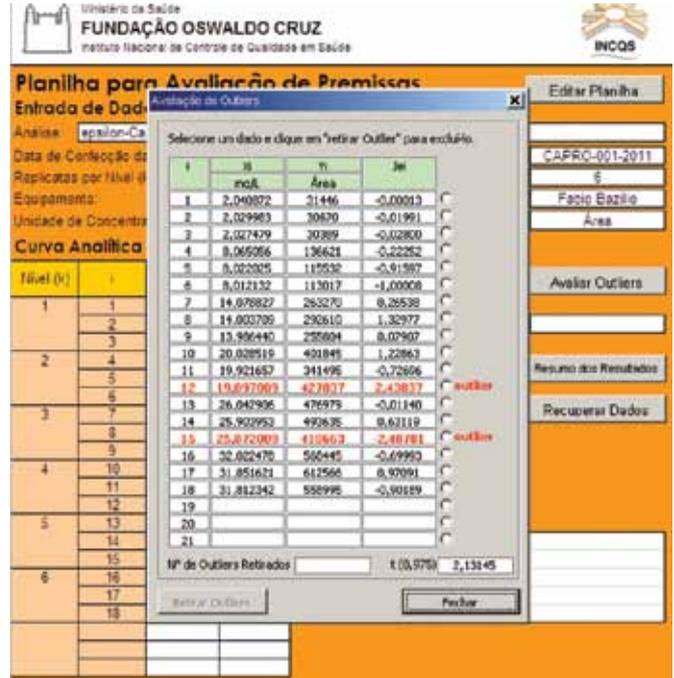


Figura 4. Avaliação da presença de valores extremos Relatório Final

lizados para os testes podem ser acessadas selecionando-se a pasta referente ao teste desejado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da planilha eletrônica foram realizados os testes apresentados anteriormente. Os resultados são apresentados abaixo.

### Preparo da curva analítica

Inicialmente foram preparadas três soluções estoque genuínas com concentração nominal de 1000 mg/L de  $\epsilon$ -caprolactama através da pesagem de três massas do padrão o mais próximas possível. A partir de cada solução estoque preparou-se uma curva analítica com seis níveis de concentração igualmente espaçados. A Tabela 2 apresenta as concentrações calculadas para cada padrão preparado.

Tabela 2. Concentrações dos padrões

Nível	Repetição 1	Repetição 2	Repetição 3
1	2,041	2,030	2,027
2	8,065	8,022	8,012
3	14,079	14,004	13,986
4	20,029	19,922	19,897
5	26,043	25,904	25,872
6	32,022	31,852	31,812

### Avaliação da presença de valores extremos

A presença de valores extremos foi avaliada sendo excluídos dois pontos da curva analítica, 11,1% do total de dados iniciais. Os dados excluídos pertenciam ao quarto e quinto níveis de concentração. A pós a exclusão destes dados não houve a necessidade de excluir novos dados. A Tabela 3 apresenta a curva final após a avaliação dos valores extremos.

**Tabela 3.** Curva analítica final após tratamento de valores extremos (outliers)

Nível (k)	n	Conc.	Resposta
		mg/L	Área
	01	2,041	31446
1	02	2,030	30670
	03	2,027	30389
	04	8,065	136621
2	05	8,022	115532
	06	8,012	113017
3	07	14,079	263270
	08	14,004	292610
	09	13,986	255804
4	10	20,029	401845
	11	19,922	341495
	12	19,897	427037(†)
5	13	26,043	476979
	14	25,904	493635
	15	25,872	410663(†)
6	16	32,022	568445
	17	31,852	612566
	18	31,812	558995

† Estes valores representam os dados excluídos na avaliação da presença de valores extremos. Apesar de estarem presentes na planilha estes dados não são utilizados para as avaliações realizadas.

### Teste de normalidade

A normalidade dos resíduos da regressão da curva analítica foi avaliada, sendo os resultados apresentados na Tabela 4. O valor de  $R_{eq}$  encontrado, maior que o valor crítico  $R_{crit}$  ( $\alpha=0,05$ ) indica que os resíduos da regressão seguem a distribuição normal.

**Tabela 4.** Resultados do teste de normalidade

Estatísticas do Teste	
$R_{eq}$	$R_{crit} (\alpha=0,05)$
0,9705	0,9411

$R_{eq}$ , coeficiente de correlação entre  $e_i$  e  $q_i$ ;  $R_{crit}$ , R crítico.

### Teste de homoscedasticidade dos resíduos

A homoscedasticidade dos resíduos da regressão foi verificada e a Tabela 5 apresenta os resultados obtidos.

**Tabela 5.** Resultados do teste de homoscedasticidade

Estatística	Grupo 1	Grupo 2
n	9	7
Mediana	$2,47 \times 10^3$	$-2,41 \times 10^3$
dm	$1,22 \times 10^4$	$2,16 \times 10^4$
Variância	$1,8 \times 10^8$	
t	-1,38	
$t_{0,975}$	2,145	
p	0,19	$p > 0,05$

n, número de observações no grupo; dm, média das diferenças entre cada resíduo e a mediana do seu grupo; t, estatística t;  $t_{0,975}$ , t crítico; p, significância.

### Teste de autocorrelação dos resíduos ou independência

A autocorrelação dos resíduos foi verificada e a Tabela 6 apresenta os resultados obtidos para os limites  $d_L$  (inferior) e  $d_U$  (superior) com um nível de significância de 0,05. O valor calculado para a estatística  $d$  do teste é maior que o limite superior, indicando a independência dos resíduos.

**Tabela 6.** Resultados do Teste de Autocorrelação

d	Limites	
	$d_L$	$d_U$
2,246	1,106	1,370

d, estatística d;  $d_L$ , limite inferior;  $d_U$ , limite superior

### Teste de significância da regressão e desvio de linearidade

O teste de significância da regressão e desvio da linearidade foi realizado através da análise de variância - ANOVA. A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos. O valor de  $p$  calculado para regressão é inferior a 0,001 indicando que a regressão é significativa. O valor de  $p$  calculado para a falta de ajuste, ou desvio de linearidade, é superior a 0,05 indicando que a falta de ajuste não é significativa.

**Tabela 7.** Resultados da Análise de variância para significância da regressão e do desvio da linearidade

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Regressão	1	$6,27 \times 10^{11}$	$6,27 \times 10^{11}$	$1,24 \times 10^3$	$4,68 \times 10^{-15}$
Resíduos	14	$7,10 \times 10^9$	$5,07 \times 10^8$		
Desvio da Linearidade	4	$2,41 \times 10^9$	$6,04 \times 10^8$	1,29	$3,38 \times 10^{-1}$
Erro Puro	10	$4,69 \times 10^9$	$4,69 \times 10^8$		
Total	15	$6,34 \times 10^{11}$			

GL, grau de liberdade; SQ, soma dos quadrados; QM, média dos quadrados; F, estatística da análise de variância; p, significância.

## CONCLUSÕES

Devido à crescente necessidade de utilização de ferramentas mais completas para a um estudo mais aprofundado sobre a adequação de curvas analíticas preparadas no laboratório ao modelo adotado linear, temos na utilização da planilha eletrônica uma importante ferramenta para redução do tempo de trabalho.

O desenvolvimento da planilha eletrônica permitiu uma redução considerável do tempo de execução e interpretação dos testes, aumentando ainda a confiabilidade dos cálculos executados.

A planilha eletrônica desenvolvida e apresentada neste trabalho pode ser obtida através do endereço eletrônico: [fabio.bazilio@incqs.fiocruz.br](mailto:fabio.bazilio@incqs.fiocruz.br)

## REFERÊNCIAS

SOUZA, S. V. C.; JUNQUEIRA, R. G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. *Anal. Chim. Acta*, v. 552, n. 1-2, p. 25-35, 2005.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for a single-laboratory validation of methods of analysis. *Pure Applied Chemistry*, v.74, p. 835-855, 2002.

BELSEY, D. A.; KUH, E.; WELSCH, R. E. Regression diagnostics: identifying influential data and sources of collinearity. New York: Wiley. 292 p., 1980.

HORWITZ, W. Protocol for the design conduct and interpretation of method performance studies. *Pure Applied Chemistry*. v. 67, p. 331-343, 1995.

RYAN, T. A.; JOINER, B. L. Normal probability plots and tests for normality. The State College: Pennsylvania State University, 1976. 15 p.

LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: OLKIN, I.; GHURYE, S. G.; HOEFFDING, W.; MADOW, W. G.; MANN, H. B. (Ed.) Contributions to probability and statistics. Stanford: Stanford University Press, 1960. p. 278-292.

BROWN, M. B.; FORSYTHE, A. B. Robust tests for the equality of variances. *J. Am. Stat. Assoc.*, v. 69, n. 346, p. 364-367, 1974.

DURBIN, J.; WATSON, G. S. Testing for serial correlation in least squares regression ii. *Biometrika*, v. 38, n. 1-2, p. 159-178, 1951.

DRAPER, N.; SMITH, H. Applied regression analysis. New York: Wiley. 1998. 706 p.

MILLER, J. C., MILLER, J. N.; Statistics for Analytical Chemistry, Ellis Horwood Limited, New York, 1993.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. Statistical methods. Ames: Iowa State University. 503 p., 1989.

# HIGHTEC



A **HIGHTEC**, comprometida não só com um atendimento personalizado, mas também com a qualidade na prestação de serviços, inovação, atitude e parceria com nossos clientes, recebeu em novembro o

**PREMIO BASF DE EXCELÊNCIA FORNECEDORES.**



Srs. Luciano Rizzo Costa (à direita), Wagner Correia (à esquerda) – ambos da Basf – e Carmem S H Oliveira (ao centro).

É uma grande satisfação para a **HIGHTEC** ser reconhecida por nossos parceiros pela excelência de nosso atendimento técnico/comercial, além de outros cinco pilares: **Segurança, Saúde & Meio Ambiente, Legal e Financeiro, Responsabilidade Social Empresarial e Requisitos do Contrato.**

**Hightec Instrumentação Analítica Ltda**

Rua Frei Caneca, 23 – Sala 3  
06706-015 – Cotia – São Paulo  
Fone/Fax: (11) 4612-0145  
Email: [hightec-analitic@uol.com.br](mailto:hightec-analitic@uol.com.br)  
[carmem.hightec@uol.com.br](mailto:carmem.hightec@uol.com.br)  
site: [www.hightecanalitica.com.br](http://www.hightecanalitica.com.br)