

# CARACTERIZAÇÃO DE VINHOS E DERIVADOS

## -VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS-



António M. Jordão

CARACTERIZAÇÃO DE VINHOS E DERIVADOS

LICENCIATURA ENGENHARIA AGRONÓMICA

CURSO ESPECIALIZAÇÃO TECNOLÓGICA EM VITICULTURA E ENOLOGIA



## Validação de Métodos Analíticos

**A validação de um método analítico pretende demonstrar que os resultados obtidos por um determinado método são os esperados quando este se encontra a ser utilizado como o previsto e engloba:**

- Avaliação interna (definição das suas características no laboratório);
- Análise inter-laboratorial (avaliação externa).

**Um dossier de validação de um método analítico está dividido em 3 capítulos:**

- Descrição do método;
- Caracterização do método;
- Avaliação externa.

## Validação de Métodos Analíticos

### A descrição do método, consiste:

- Princípio do método;
- Reagentes;
- Preparação das amostras;
- Equipamento;
- Metodologia;
- Cálculo e apresentação dos resultados.

### A caracterização do método (avaliação interna), elementos a estudar:

- Praticabilidade;
- Especificidade;
- Quantificação;
- Fidelidade.

## Validação de Métodos Analíticos

### → **Praticabilidade**

(não é uma  
característica do  
método)

- Vários requisitos:
  - Utilização das amostras;
  - Custos;
  - Existência de reagentes;
  - Equipamentos.

→ **Especificidade**, definida como a capacidade de um método para distinguir a substância a analisar de outras presentes numa matriz (amostra).

## Validação de Métodos Analíticos

### → Quantificação

- *Linearidade da curva padrão;*
- *Limites analíticos;*
- *Sensibilidade;*
- *Recuperação;*
- *Aplicabilidade.*

### → Fidelidade

- *Repetibilidade;*
- *Reprodutibilidade.*

## Validação de Métodos Analíticos

### → Quantificação

- Linearidade da curva padrão

Em métodos espectrofotométricos, a Lei de Lambert-Beer aplica-se:

Para uma dada substância e um dado comprimento de onda ( $\lambda$ ), a absorvência é diretamente proporcional à concentração da espécie absorvente.

$$A = f(c)$$

❖ Os métodos que utilizam esta lei, apresentam características de linearidade.

❖ A linearidade de um método, define-se como a sua capacidade em originar resultados diretamente proporcionais à concentração da substância a dosear na amostra, para uma dada gama de valores.

## Validação de Métodos Analíticos

### → Quantificação

- Linearidade da curva padrão

Os elementos a considerar na construção de uma curva de calibração são:

- ☐ Elaboração de 6 soluções em duplicado;
- ☐ Respeitar as condições de repetibilidade;
- ☐ Incluir o ponto zero.

O modelo estatístico utilizado é a regressão (caso da regressão linear), no caso de variáveis mensuráveis.

## Validação de Métodos Analíticos

### → Quantificação

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon$$

Y – VARIÁVEL DEPENDENTE

X – VARIÁVEL INDEPENDENTE

$\beta_0$  – ORDENADA NA ORIGEM

$\beta_1$  – COEFICIENTE NA REGRESSÃO OU DECLIVE DA RECTA

$\varepsilon$  – COMPONENTE DO ERRO ALEATÓRIO

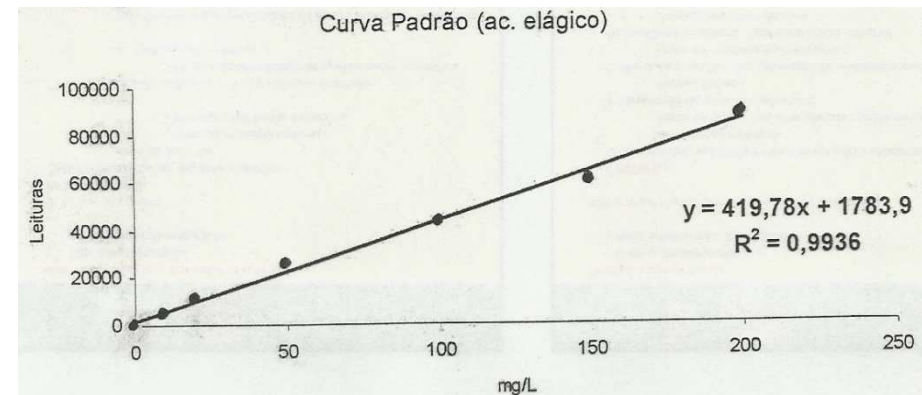
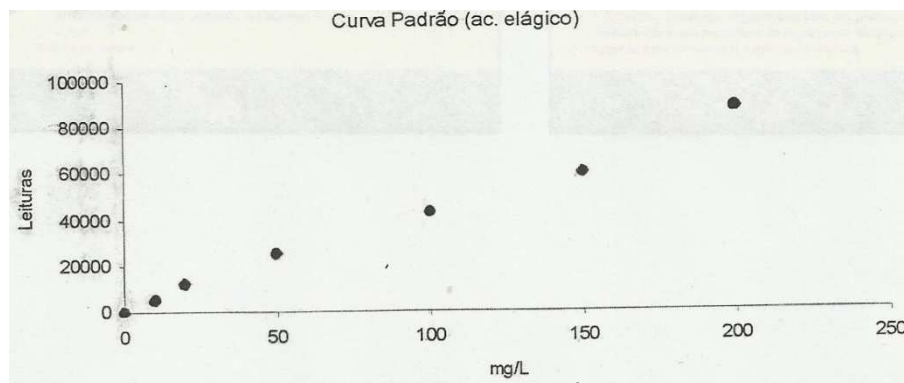


## Validação de Métodos Analíticos

### → Quantificação

Exemplo: elaboração de curva padrão do ácido elágico, doseado por cromatografia liquida em vinhos conservados em barricas de madeira.

Concentrações (mg/l)	0	10	20	50	100	150	200
Valores médios das áreas	0	5000	11954	25793	43597	60500	88128,5



## Validação de Métodos Analíticos

### → Quantificação

- Limites analíticos

**Limite de deteção** – Teor mínimo mensurável, a partir do qual é possível deduzir a presença da substância na amostra a analisar com certeza estatística.

Deverá a concentração do sinal instrumental ser significativamente diferente do ruído de fundo.

**Limite de quantificação** – Trata-se da mais pequena quantidade que se pode dosear nas condições experimentais descritas com uma fidelidade e exatidão definidas.

## Validação de Métodos Analíticos

### → Quantificação

- Sensibilidade

Capacidade de um método em identificar pequenas diferenças da substância a analisar.

- Recuperação/exatidão

Consiste na relação entre o resultado da análise e o valor verdadeiro da grandeza mensurada.

Pode-se considerar como sendo a diferença, em termos percentuais, entre a concentração encontrada em análise e aquela que foi introduzida.

## Validação de Métodos Analíticos

### → Quantificação

- Recuperação/exatidão

A recuperação distingue-se da exatidão, visto esta última utilizar materiais de referência certificados, enquanto que na recuperação basta só utilizar padrões.

A recuperação tem por objetivo analisar a influência da preparação da amostra no resultado final.

- Aplicabilidade

Quando se efetuam adições da substância a estudar à amostra, e se obtém uma função linear dessas adições. Neste caso, o método apresenta um desempenho satisfatório.

## Validação de Métodos Analíticos

### → Fidelidade

- Repetibilidade

Está associada a determinações efetuadas em condições mais estáveis possíveis, a pequenos intervalos de tempo, no mesmo laboratório, pelo menos operador e com o mesmo equipamento.

- Reprodutibilidade

Valor abaixo do qual se pode esperar que se situe diferença absoluta entre dois resultados individuais de análise, que foram obtidos em material de análise idêntico, em condições de reprodutibilidade definidas e para uma dada probabilidade.

## Validação de Métodos Analíticos

### → Fidelidade

- Reprodutibilidade

**Valores aberrantes** – Todos os valores que mais se afastam dos outros valores experimentais e cujos desvios não podem ser desprezados, sendo que a sua causa não pode ser determinada.