

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 (λ), 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

β_0 – ORDENADA NA ORIGEM

β_1 – COEFICIENTE NA REGRESSÃO OU DECLIVE DA RECTA

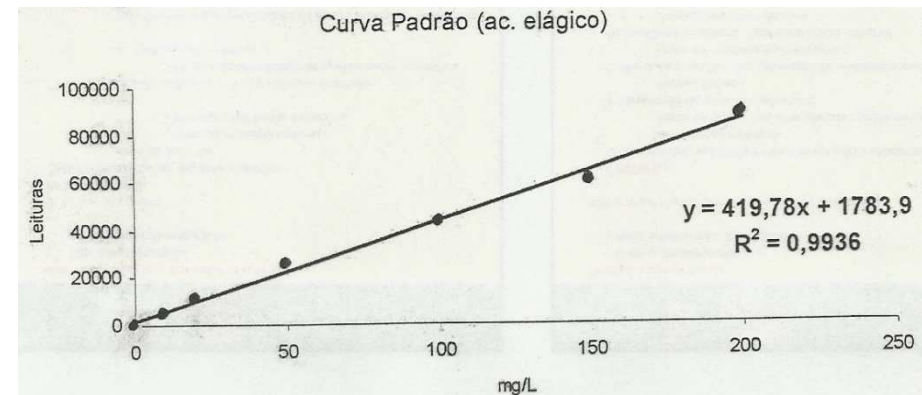
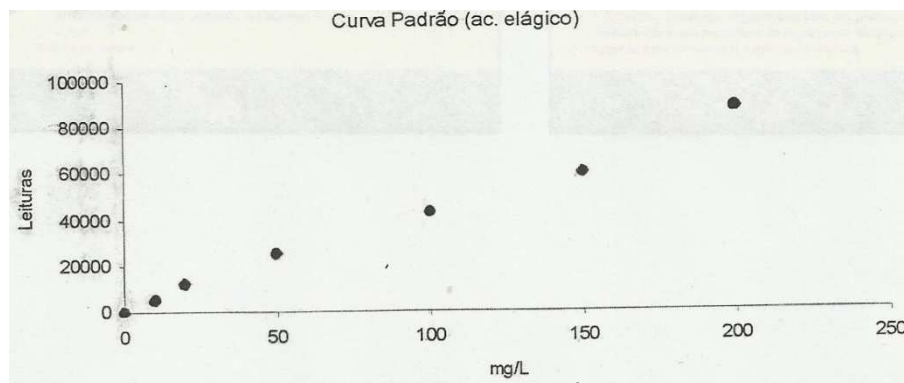
ε – COMPONENTE DO ERRO ALEATÓRIO

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 a 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.