



Laboratório de Análises Químicas

Rua Lauro Vannucci 1260 – Jardim Santa Cândida – Campinas – SP - CEP 13087-548 – Brasil

Fone: (19) 3756 – 6600 Fax: 3296 0128

teanalitica@teanalitica.com.br

www.teanalitica.com.br

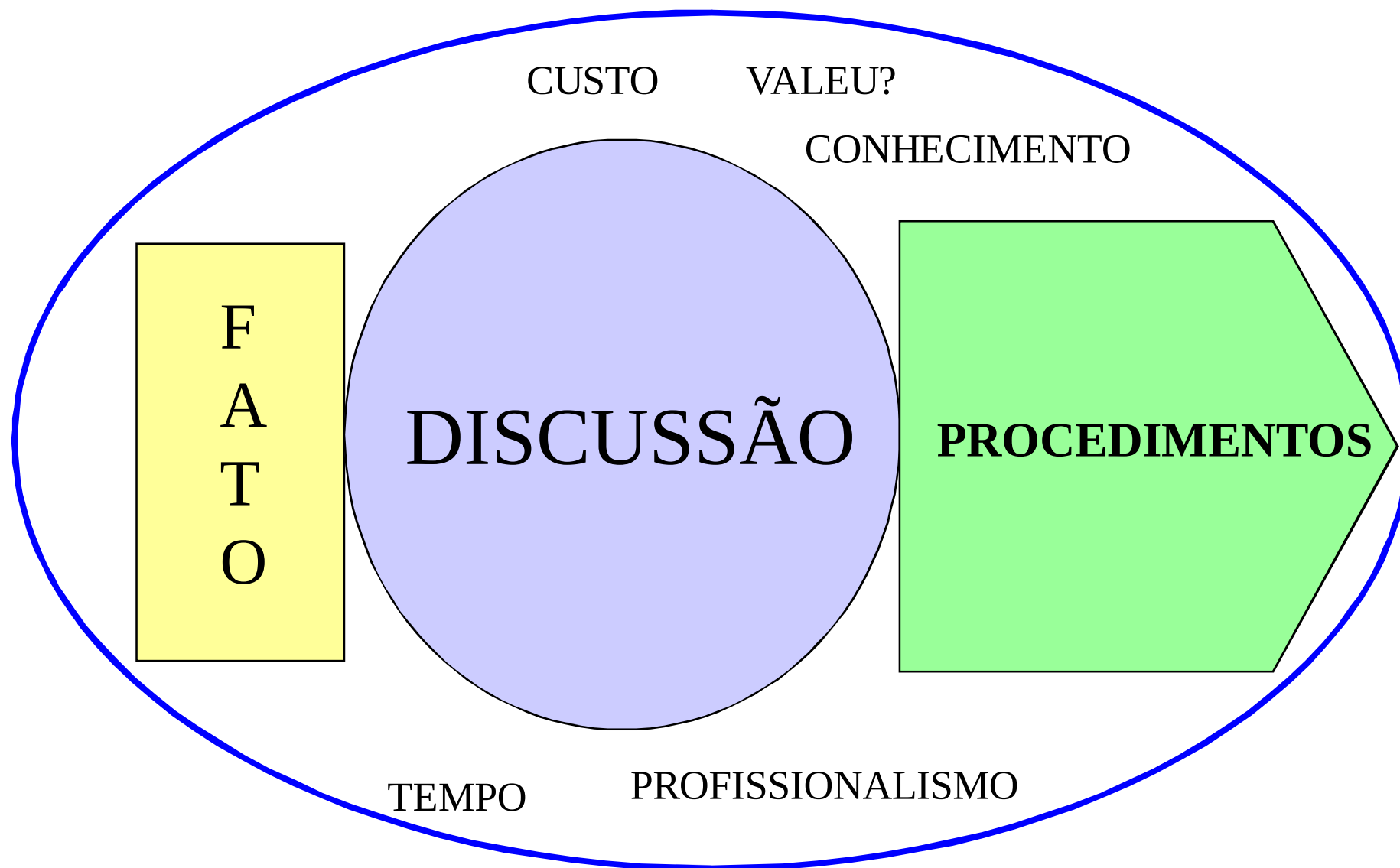
VALIDAÇÃO EM ANÁLISE QUÍMICA

CRQ-Novembro 2008



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

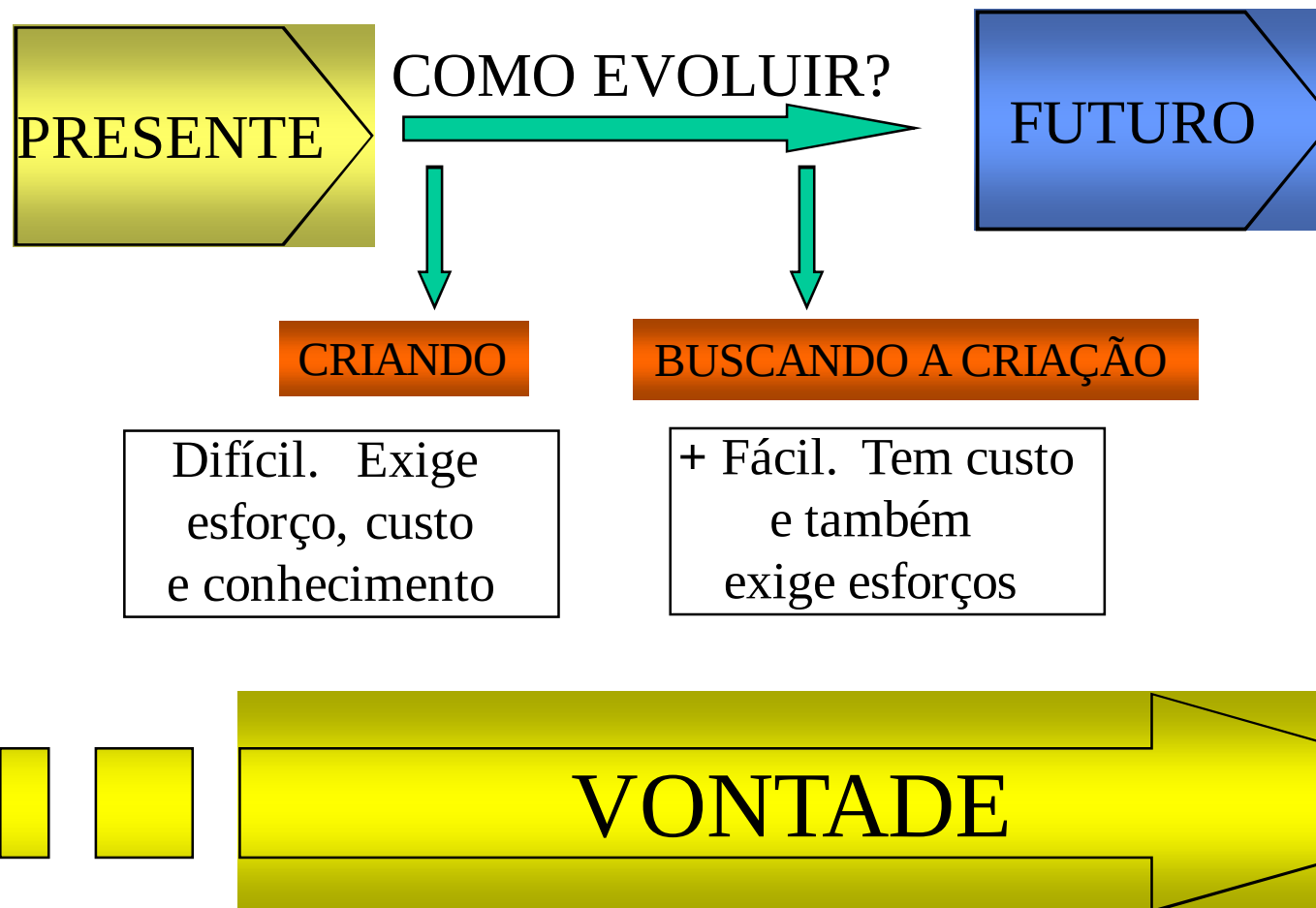
DISCUSSÃO PARA PROBLEMAS





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

EVOLUINDO ANALÍTICAMENTE





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

QUALIDADE APLICADA A AMOSTRAGEM

SISTEMA DE QUALIDADE

No Brasil há predominância de dois sistemas de qualidade aplicáveis a laboratórios de ensaio:

Normas **BPL** (Boas Práticas de Laboratório- OECD)

Normas **ISO** (na variante 17025)

O importante das normas está na:

- ✓ organização
- ✓ facilidade de controle
- ✓ uniformidade de ação
- ✓ rastreabilidade
- ✓ confiabilidade



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

AMOSTRAGEM

Na **Amostragem** ou **Coleta** deve-se considerar que não existe lote homogêneo, portanto, apenas lotes heterogêneos.

Sendo lotes heterogêneos, faz-se necessário retirar uma amostra *significativa* (no sentido de significância) . Como esta é praticamente impossível, procura-se retirar uma amostra *representativa*.

AMOSTRAGEM: é o processo de coleta de uma amostra representativa para análise

AMOSTRAGEM: é o processo de coleta de uma amostra representativa de um lote heterogêneo, ou seja, que represente a totalidade do material de interesse para que seja realizada a análise.

Mesmo para a melhor amostra representativa, haverá sempre a necessidade de algum grau de **PREPARAÇÃO DA AMOSTRA**, quer para retirar interferentes, quer para dar forma disponível para a análise, etc.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

DESENVOLVIMENTO DE AMOSTRAGEM

O QUE AMOSTRAR

Riscos ao amostrador
(EPI ; proteção no processo, proteção de transporte)

Riscos ao AMOSTRADO

Riscos ao ativo/produto

- umidade(ganho e perda)
- oxidação
- reação com o recipiente coletor
- luz, intemperes
- equipamentos
- outras contaminações específicas

Quantidade

- verificar com laboratório analítico
- custos
- ciclo de produção (reanálise)
- dificuldades quando de amostragem especial- feita para “aquela vez”
- lotes pilotos
- reteste e contra-prova

Como/Onde Coletar

- equipamentos simples
- equipamentos especiais
- material comum
- material específico
- número de pessoas para a coleta
- deslocamentos (horizontal e vertical)
- representatividade do local
- tipo de coleta

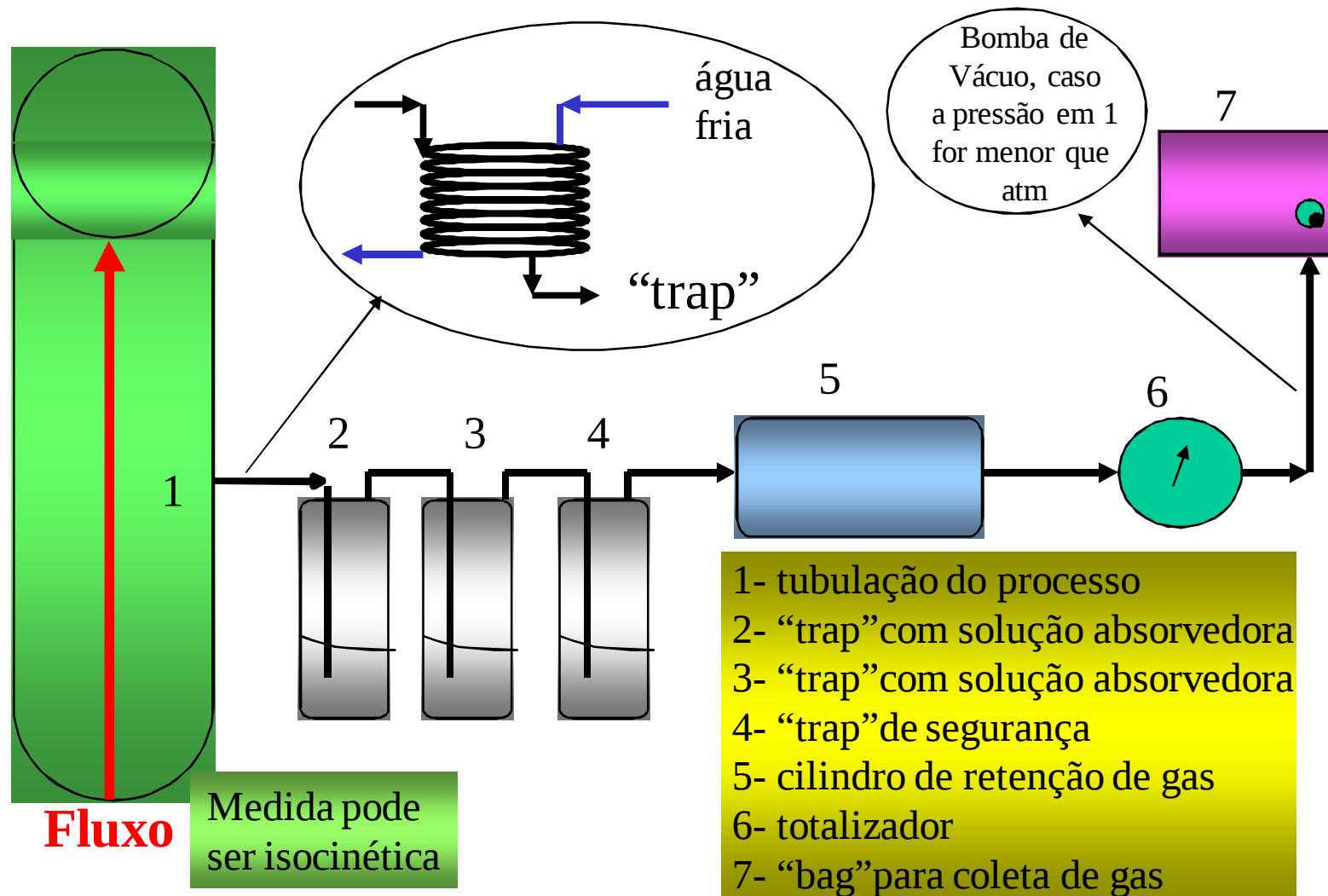
Transporte Armazenagem

- vibração e trepidação
- possível queda do recipiente
- formação do motorista
- geladeira (5 °C)
- freezer (-20 a - 80 °C)
- prateleira
- atmosfera controlada
- outras



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

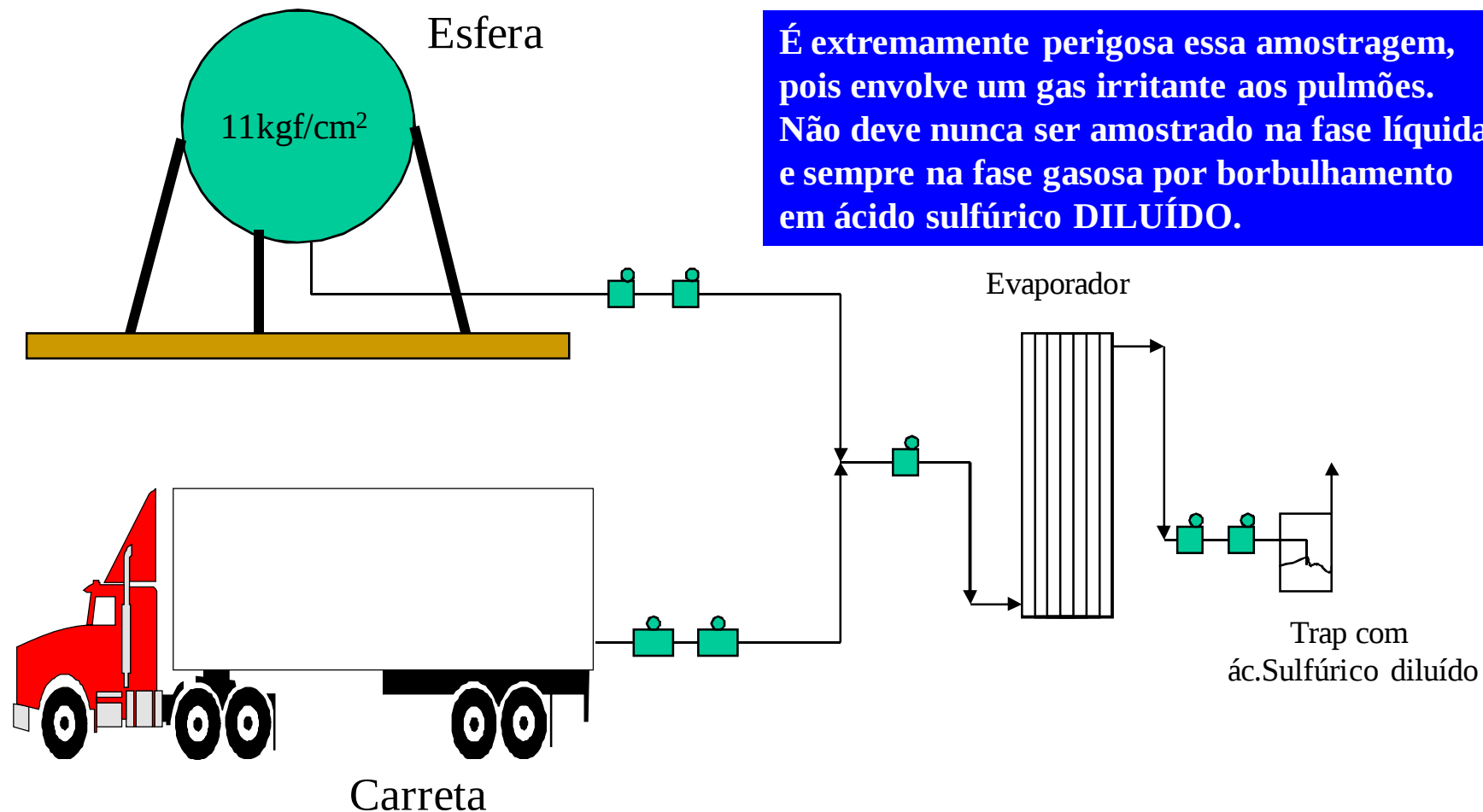
COLETA DE GAS COM VAPORES





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

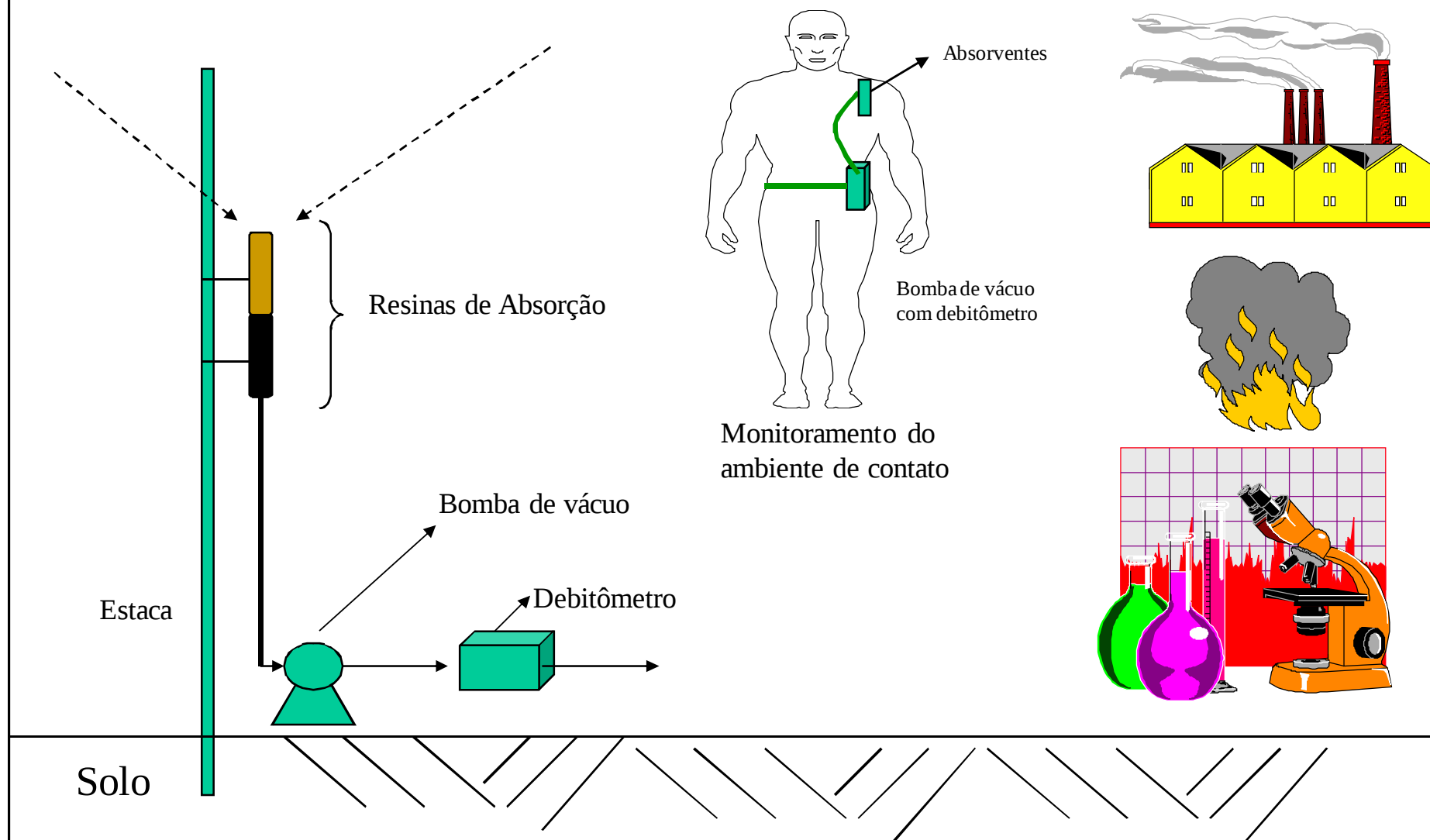
AMOSTRAGEM GAS AMÔNIA





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

AMOSTRAGEM de AR ATMOSFÉRICO e HIG.OCUPACIONAL





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

O BRASIL NA EVOLUÇÃO DA QUÍMICA

Países com Investimento		Brasil
Até 1950	gravimetria/volumetria/ótica cromatografia/algumas téc.eletr	gravimetria/volumetria colorimetria
1950-1960	clássicas/crom/rmn infra-vermelho/RX	gravimetria/volumetria colorimetria/
1960-1970	clássicas/crom/rmn IV/ Massas	gravimetria/volumetria colorimetria/crom
1970-1980	clássicas/Tanden IVFT/ MEV/MET	clássicas/crom massas/IV
1980-1990	clássicas/Tanden/RMN sol MIC-IVFT/ MEV/MET/ESCA	clássicas/crom/RMN 200 massas/IV



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

ANÁLISE QUALITATIVA E QUANTITATIVA

DE FORMA BEM SIMPLIFICADA

ESPECTROMETRIA DE MASSAS

INFRA VERMELHO

RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

RAIO-X - DIFRAÇÃO

MICROSCOPIA

MEV/EDS

ANÁLISE ELEMENTAR (CHNSO)

ABSORÇÃO AO ULTRA-VIOLETA

ABSORÇÃO AO VISÍVEL

COLORIMETRIA

CC e CCD

AED (Detector de Emissão Atômica)

ANÁLISE TÉRMICA ATD/ATG

ICP (Inductively Coupled Plasma)

F-X (Fluorescência X)

ACOPLAMENTOS

- **Determina fragmentos e Peso Molecular**
- **Determina grupos funcionais**
- **Determina posições na Cadeia Carbônica**
- **Determina Polimorfismo**
- **Determina: Polimorfismo/Tamanho de Partícula**
- **Determina análise elementar**
- **Determina a composição Centesimal**
- **Determina a presença de insaturações**
- **Determina a presença de cromóforos**

- **Determinações da Química Clássica**
- **Determinações da Química Clássica**

- **Determina composição centesimal**
- **Determina decomposição da molécula; polimorfismo**
- **Determina metais/ametais/semi-metais**
- **Determina metais/semi-metais**

- **LC/MS; LC/MSMS; GC/MS ; MIC/TV; LC/TOF; LC/PDA**

**OBS.: NADA IMPEDE O USO DESSAS TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO,
DE FAZEREM ANÁLISE QUANTITATIVA**



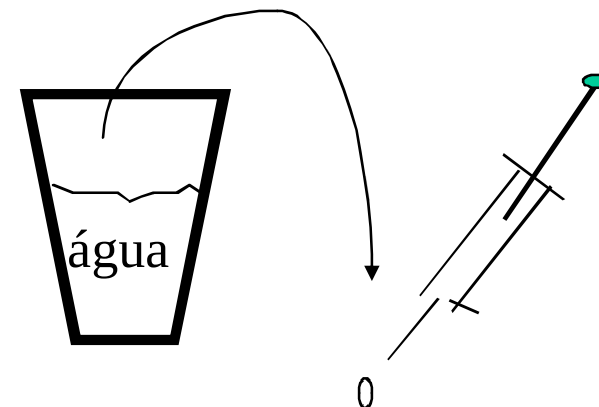
ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

Prefixos das Unidades do SI

Nome	Símbolo	Fator de multiplicação da unidade
yotta	Y	$10^{24} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
zetta	Z	$10^{21} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
exa	E	$10^{18} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
peta	P	$10^{15} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
tera	T	$10^{12} = 1\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000$
giga	G	$10^9 = 1\ 000\ 000\ 000$
mega	M	$10^6 = 1\ 000\ 000$
quilo	k	$10^3 = 1\ 000$
hecto	h	$10^2 = 100$
deca	da	$10^1 = 10$
Uni. Funda		$10^0 = 1$
deci	d	$10^{-1} = 0,1$
centi	c	$10^{-2} = 0,01$
mili	m	$10^{-3} = 0,001$
micro	μ	$10^{-6} = 0,000\ 001$
nano	n	$10^{-9} = 0,000\ 000\ 001$
pico	p	$10^{-12} = 0,000\ 000\ 000\ 001$
femto	f	$10^{-15} = 0,000\ 000\ 000\ 000\ 001$
atto	a	$10^{-18} = 0,000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 001$
zepto	z	$10^{-21} = 0,000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 001$
yocto	y	$10^{-24} = 0,000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 000\ 001$

Dificuldade de Ver(MEV)
E na Balança??

Microscopia de Transmissão
E na Balança????



1-Volume de amostra analisada:
0,5 microlitros - split 1:50

Análise:
Clorofórmio a 100 ppb ($\mu\text{g/l}$)

2-Massa Detectada?

1 pg



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

CONSTANTE BUSCA PELA EXATIDÃO

EXATIDÃO

Precisão

- Repetição
- Reprodução

Linearidade

- Curva de Resposta
- Coef. Correlação

Recuperação

- Maior que 50%

Limites

- menor que 10% do valor dosado

Seletividade

- Stress
- Boa separação
- Interferentes

Robustez

- Definido



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

EXATIDÃO

Na prática, a **Exatidão** tem por finalidade, garantir que o valor medido, esteja próximo do valor declarado.

Na **amostragem** é garantir que todo o ativo foi quantificado na extensão desejada.

EXATIDÃO : qualidade que exprime compatibilidade de valor aceito com valor de referência.



ACURÁCIA : é o grau de proximidade de um determinado valor ao valor real ou conhecido nominal em condições determinadas. Pode ser medido em relação ao maior desvio.

Expressão da medida:

$$\% \text{ Compatibilidade} = \frac{\text{valor medido} \times 100}{\text{valor nominal}}$$

EXATIDÃO

Na prática a Exatidão tem por finalidade, garantir que o valor medido, esteja próximo do valor declarado.

Garantir a Exatidão envolve situações, hoje dispendiosas em tempo de resposta e ou custo financeiro, como:

- PADRÕES ANALÍTICOS DE REFERÊNCIA CONFIÁVEIS
- ENSAIOS INTERLABORATORIAIS DA METODOLOGIA
- COMPARAÇÕES EM ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA
- HABILITAÇÕES POR ORGÃOS CONSIDERADOS COMO GUARDIÕES DA CONFIABILIDADE

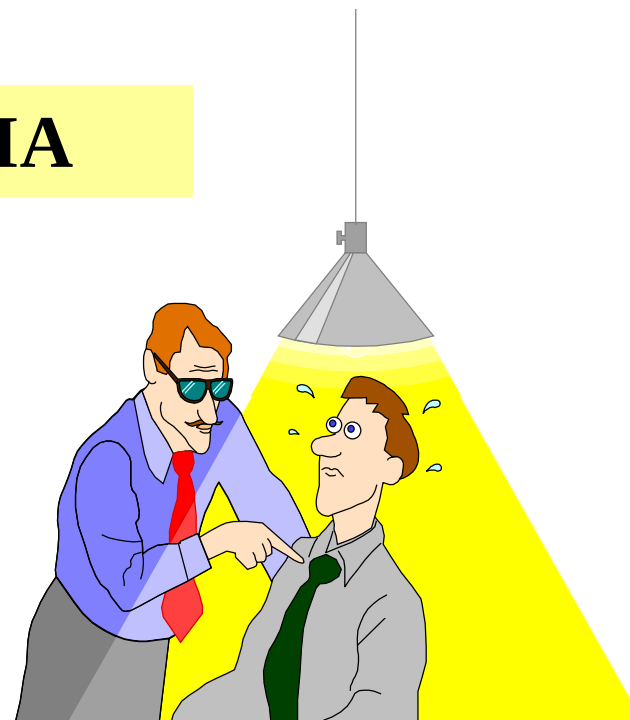


ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

ENSAIOS INTERLABORATORIAIS

ENSAIOS de PROFICIÊNCIA

- NÃO DEVE SER ENCARADO COMO POLICIAMENTO
- O LABORATÓRIOS EM MESMOS NÍVEIS
- DEVE-SE CONHECER BEM OS PARÂMETROS DE MEDIDAS





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

ENSAIO INTERLABORATÓRIAL

15. Considere o seguinte interlaboratorial para análises de metais, numa discussão de termo de ajustamento (TAC), envolvendo o ministério público. Neste caso a amostra foi dividida em 2 partes iguais, as metodologias definidas, e uso de padrões de mesma categoria. Duas amostras para contra-prova.

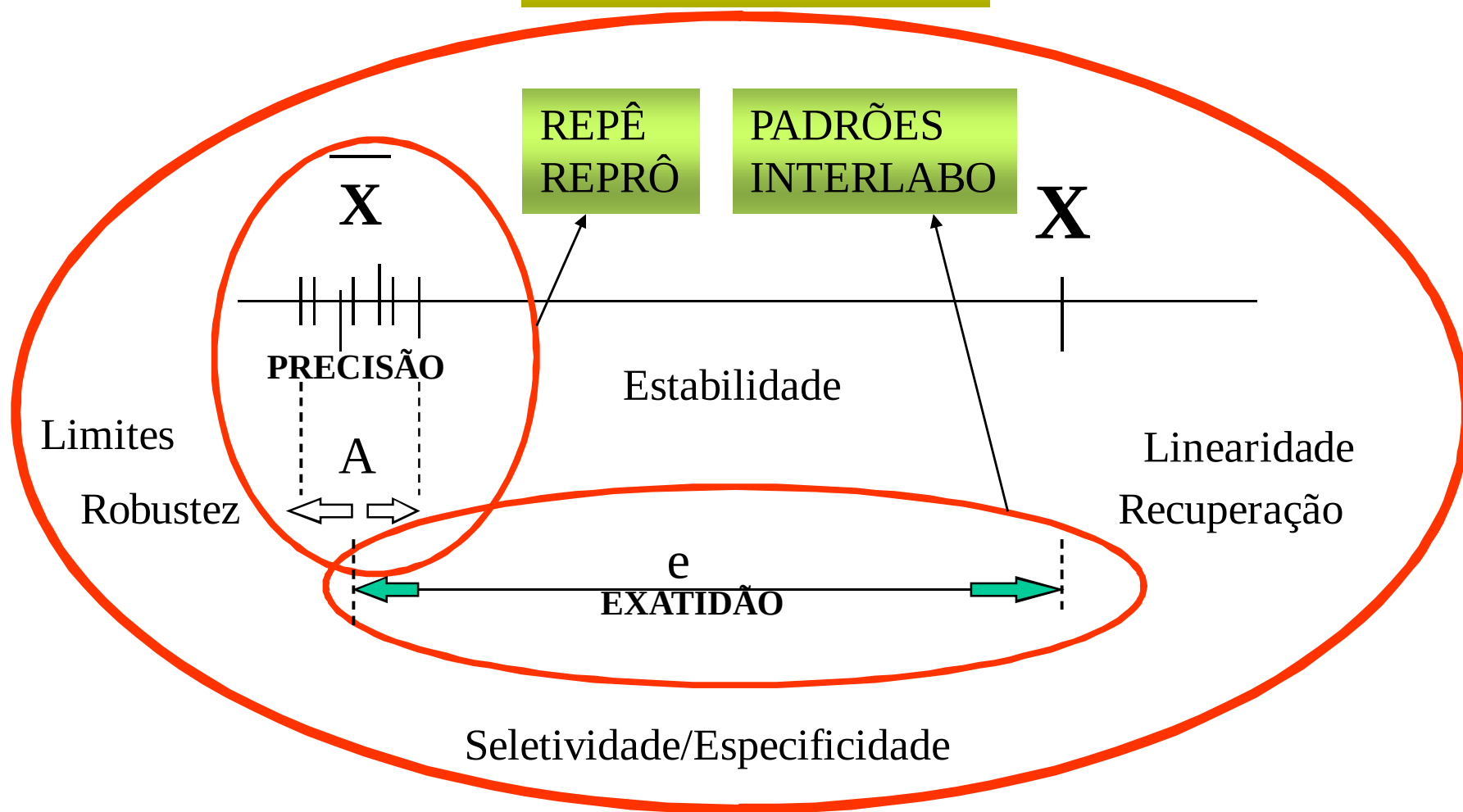
<i>valores mg/kg</i>	<i>Labo-A</i>	<i>Labo-B</i>	<i>Labo-C</i>	<i>Consenso (obtido na época)</i>
Sódio	35	400	3670	Valor Mediano
Estanho	0,002	<0,05	<0,001	0,002 (o encontrado)
Mercúrio	<0,0005	<0,001	<0,02	<0,02 (+crítico)
Alumínio	465	536	498	Média
Cromo VI	0,06	0,2	<0,05	0,2 (maior valor)

Elaborar valor de Consenso



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

VALIDAÇÃO





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

PRECISÃO

PRECISÃO : *é a proximidade da concordância (grau de espalhamento) entre uma série de medidas obtidas de múltiplas amostragens de uma mesma amostra homogênea dentro de condições determinadas.*

A precisão pode ser expressa em função da REPETIÇÃO (Repetitividade) e da REPRODUÇÃO (Reprodutividade)

EXEMPLO de REPETIÇÃO:

05 análises sobre uma mesma amostra, considerando:

- mesmo analista
- mesmo momento

EXEMPLO de REPRODUÇÃO:

- 05 análises sobre uma mesma amostra, considerando:
 - diferentes analistas ou
 - mesmo analista em momentos diferentes
- Ensaaios interlaboratoriais



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

PRECISÃO

Qual a finalidade da Precisão: garantir que as medidas não foram realizadas ao acaso, que ela possa ser repetida e reproduzida.

A Precisão sempre terá distorções de medida, pois envolverá sempre uma variedade de fatores para gerar erros:

- corrente elétrica
- formação de base do analista na forma de operação e interpretação
- reagentes de lotes ou fabricantes diferentes
- estado emocional do analista
- iluminação do ambiente de trabalho
- variabilidade intrínseca do equipamento (estabilidade ou tempo de estabilização)
- necessidade analítica para obter a dextreza do primeiro resultado
- diluições, derivações, alíquotas, temperatura ambiente e de armazenamento
- transportes envolvidos até a realização da amostra
- limpeza do material analítico e de coleta
- contaminações alfa (não reconhecidas pelo uso constante)
-outras



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

ENTENDENDO PRECISÃO E EXATIDÃO

B;M;A = conc. Baixa;Média;Alta

	B	M	A	Média
CV	2,5%	2,0%	1,8%	2,1%
Exatidão	93%	95%	96%	94,6%

PRECISÃO:

- As medidas 2,5 ; 2,0 ; 1,8 considerada *REP*etitividade
- A medida 2,1 média dos CV considerada, *REPRO*utividade

EXATIDÃO:

- O quanto o método analítico consegue analisar do ativo no produto

PERGUNTA:

1- Considerando a Exatidão 94,6% e sabendo que no amostral há 100%, posso acrescentar os 5,4% no resultado?

NÃO



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

PRECISÃO / ANVISA

Repetição **INTRA-CORRIDA**.

Para tais medidas pode-se adotar 9 (nove) determinações (3 triplicatas, para 3 concentrações distintas de um **INTERVALO** linear, concentrações baixa, média e alta).

INTERVALO, Amplitude da linearidade, desta forma se a curva de resposta for de 10 mg/litro a 40 mg/litro o intervalo será de 30 mg/litro, pode-se considerar baixa=10mg/litro; média=25mg/litro e alta=40mg/litro.

Outra forma é utilizar de 6 (seis) (este valor é adotado pela ANVISA) ou 7 (sete) (o valor sete é adotado pelo INMETRO) na concentração a 100% do valor esperado ou ensaiado.

Repetição **INTER-CORRIDAS** ou ainda de Precisão **INTERMEDIÁRIA**,

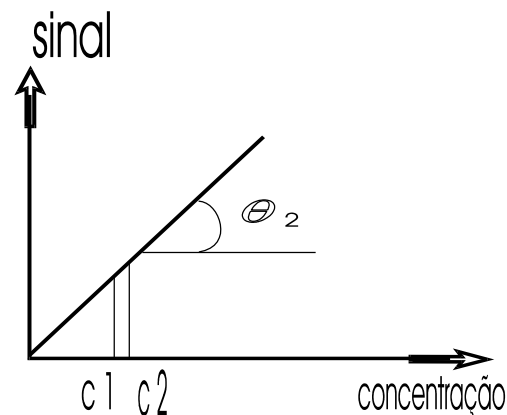
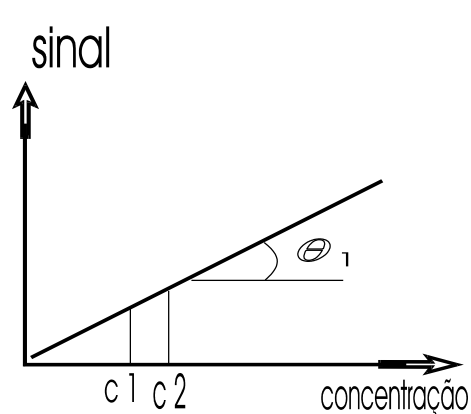
Quando se busca valores de repetição dentro de ocasiões de tempos mais longos (manhã; tarde e noite do mesmo dia ou dias diferentes), utilizando de diferentes analistas ou diferentes sistemas analíticos, ou ainda, diferentes analistas e diferentes sistemas analíticos (diferentes sistemas analíticos, pode ser dois equipamentos de mesma técnicas, exemplo: dois cromatógrafos gasosos).



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

SENSIBILIDADE

- 1-Depende da inclinação da curva analítica ou curva de Resposta.
- 2-Se dois métodos tem igual precisão o mais sensível é o que possui a curva de Resposta com maior inclinação.
- 3-O quanto o método consegue diferenciar duas concentrações próximas.



$$\text{Sensibilidade} = \frac{(C_A - C_{Br})}{S}$$

Sensibilidade é igual a inclinação da reta de calibração dividida pela Estimativa do desvio-padrão da amostra.

É aplicável para curvas lineares

C_A = sinal analítico da amostra

C_B = sinal analítico do branco

s = estimativa do desvio padrão da amostra

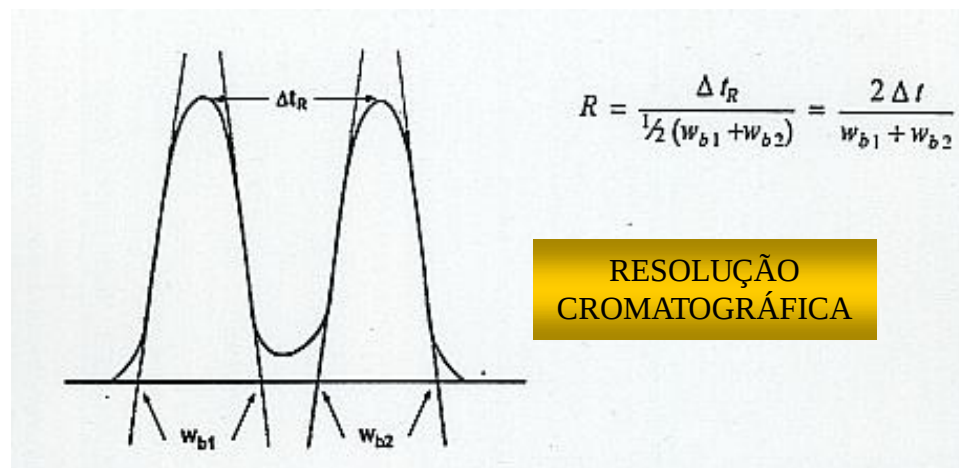
A sensibilidade de um equipamento que mede:

$\frac{\mathbf{A}}{0,1 \text{ g}}$ é menos sensível que $\frac{\mathbf{B}}{0,12 \text{ g}}$



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

INTERFERÊNCIA / SENSIBILIDADE

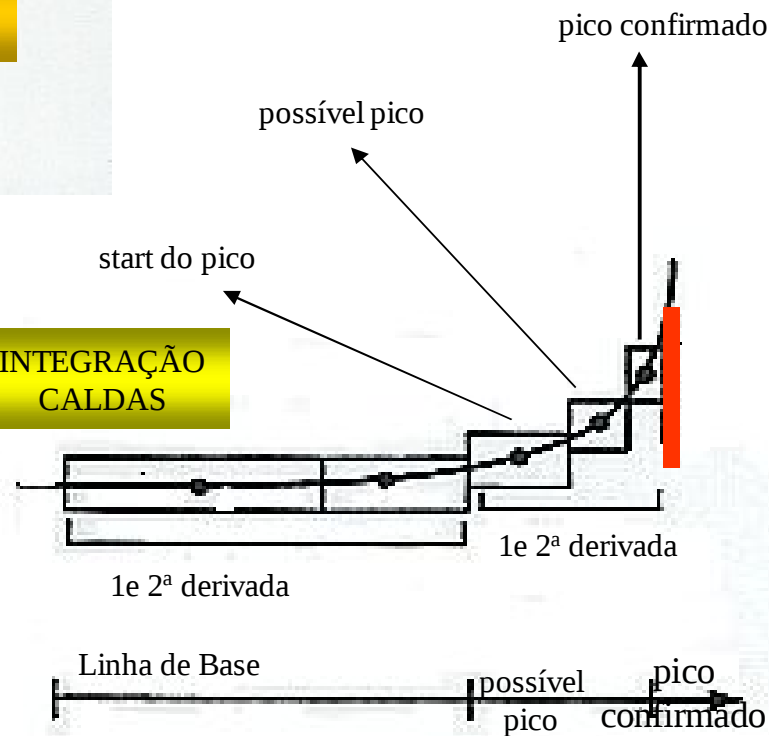


RESOLUÇÃO
CROMATOGRÁFICA

INTEGRAÇÃO
NORMAL



INTEGRAÇÃO
CALDAS





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

SELETIVIDADE/ESPECIFICIDADE

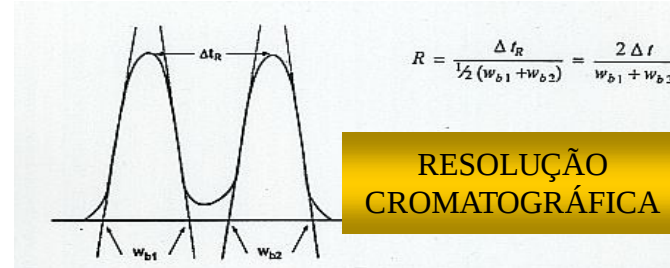
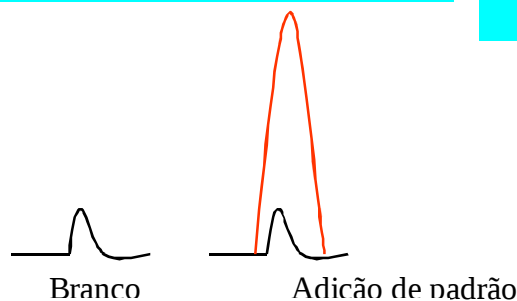
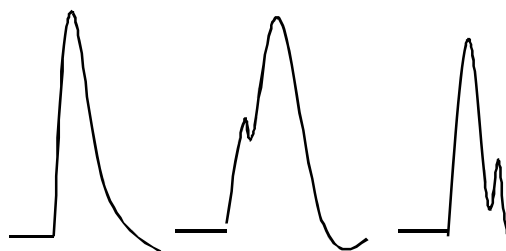
SELETIVIDADE: Um método é seletivo quando ele consegue definir uma função ou ainda um conjunto de compostos de uma mesma espécie em um único sinal.

ESPECIFICIDADE: Um método é específico quando ele consegue definir uma função química específica ou ainda uma única espécie distinta em um único sinal **COM A TECNOLOGIA MAIS AVANÇADA.**

1- Teor de ALCOOIS
= Seletivo e Específico

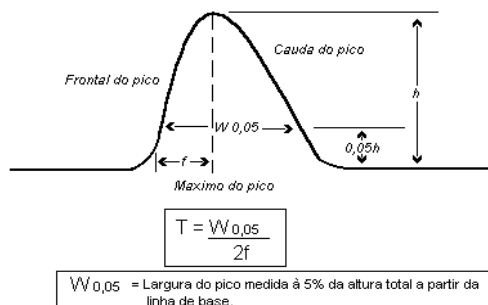
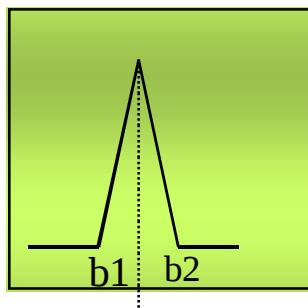
2- Teor de BUTEN-2-OL-2 = Específico
Teor de ALCOOIS = Seletivo

3- Teor de Trans- BUTEN-2-OL-2 = Específico
Teor de BUTEN-2-OL-2 = Seletivo
Teor de ALCOOIS = Seletivo



Fator de
Assimetria
Tailing Factor

$$As = b_1 / b_2$$



$W_{0,05}$ = Largura do pico medida à 5% da altura total a partir da linha de base.

R=zero há total coeluição,

R=1,5 representa 99,8% da resolução em linha de base.
(4 estimativas de desvio padrão, ou seja,
3 % de intersecção)

R=1,0 representa 94% da resolução em linha de base.
(4 estimativas do desvio padrão, ou seja,
5% de intersecção)



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

SELETIVIDADE PELA ANVISA/Método Analítico

No ensaio de **SELETIVIDADE** para o método analítico, pode-se gerar o denominado “**STRESS**” sobre amostra ou padrão, ou seja, induzir o sistema a condições possíveis, a fim de verificar evolução química sobre os componentes da composição que poderão eventualmente interferir na seletividade.

A Anvisa, destaca alguns tipos de estabilidade, porém fica em aberto os parâmetros:

1- Luz

2- Calor

3- Umidade

4- Hidrólise ácida/básica

5- Oxidação

**IMPUREZAS DE
DEGRADAÇÃO**

Este estudo é obrigatório, antes de estudo de Estabilidade, que determina o prazo de validade de um determinado produto

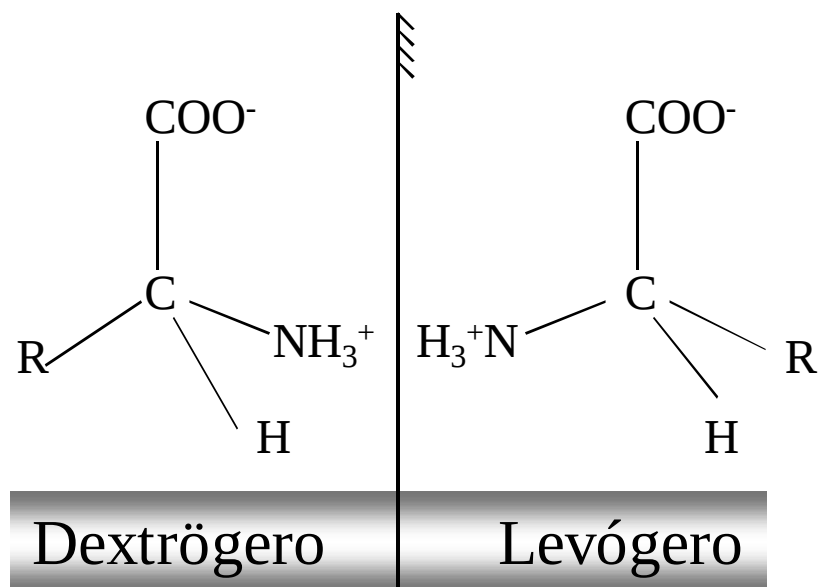


ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

ESPECIFICIDADE

Os aminoácidos e a Isomeria Óptica

Todos os aminoácidos, com exceção da glicina, permitem isômeros ópticos.



Racêmico

Todos os aminoácidos existentes nas proteínas são α L-aminoácidos



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

RECUPERAÇÃO

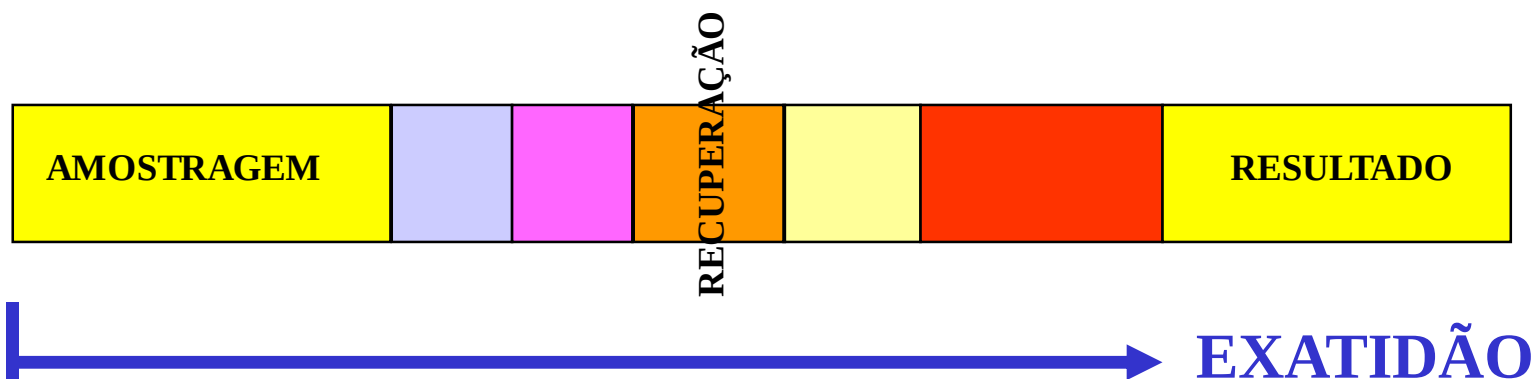
RECUPERAÇÃO e EXATIDÃO

Para a Farmacêutica :

RECUPERAÇÃO = EXATIDÃO

Para a Química :

RECUPERAÇÃO $\neq$ EXATIDÃO



$$\begin{array}{c} \text{EXATIDÃO} \\ \text{ou} \\ \text{RECUPERAÇÃO} \end{array} = \frac{\text{Quantidade Quantificada da espécie} \times 100\%}{\text{Quantidade Adicionada da espécie ou Especificação ou Valor de Referência}}$$

SISTEMAS DE EXTRAÇÃO/CONCENTRAÇÃO

Extração Líquido/Líquido

Extração Por Arraste Gasoso (Head Space Dinâmico)

Extração Líquido/Vapor

Extração por Arraste e “Trap” (Head Space Purge&Trap)

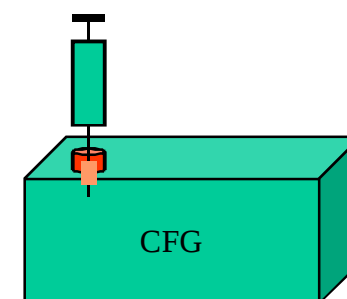
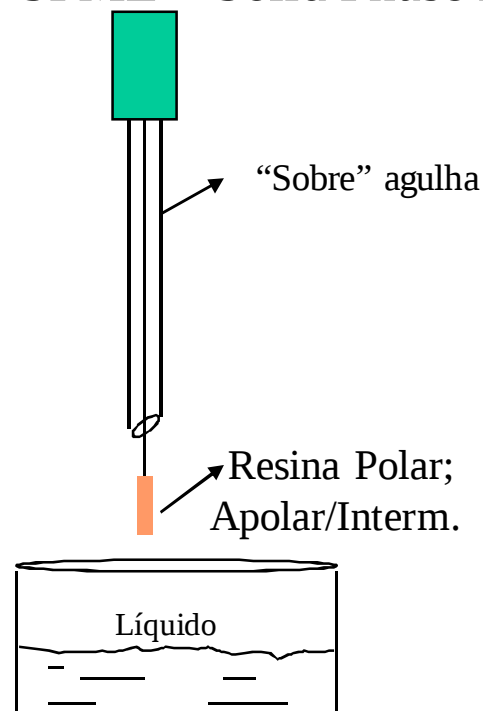
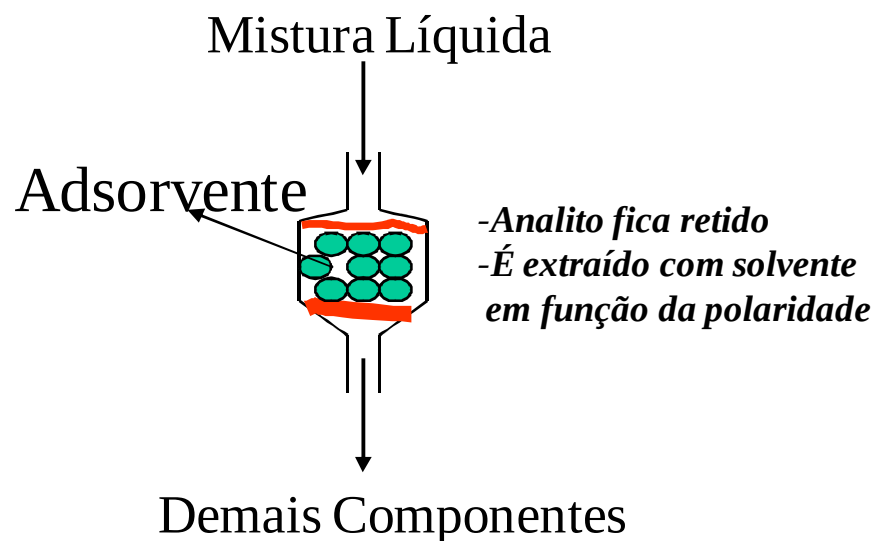
Extração p/Aquecimento (Head Space Stático)

Extração Contra Corrente

Extração por Pdades Coligativas

SPE = Solid Phase Extraction

SPME = Solid Phase Micro Extraction





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

DETECTABILIDADE

A **DETECTABILIDADE** normalmente é confundida em análise instrumental com a **SENSIBILIDADE**

DETECTABILIDADE

- 1- É o quanto o sistema de detecção do sistema analítico consegue “enxergar”
- 2- É a quantidade mínima da espécie química em massa que o sistema analítico consegue mensurar
- 3- Um equipamento possui alta detectabilidade, quando consegue “enxergar” uma quantidade mínima da função ou espécie em questão.

A detectabilidade de um equipamento que mede:

$\frac{\text{A}}{0,1 \text{ grama}}$ possui menor detectabilidade que $\frac{\text{B}}{0,01 \text{ g}}$

Exemplos:

1- Qual a detectabilidade do tolueno quando há detecção na análise de 0,2 microlitros de uma solução aquosa a 0,5 mg/kg. Qual a variabilidade possível para esta detectabilidade.

$0,5 \text{ mg/kg} = 0,5 \text{ mg/litro} = 0,5 \mu\text{g/mL} = 0,5 \text{ ng}/\mu\text{L}$ como a detectabilidade foi para 0,2 μL

$0,5 \text{ ng} \rightarrow 1 \mu\text{L}$
 $x \rightarrow 0,2 \mu\text{L} \quad x = 0,1 \text{ ng de detectabilidade}$



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

DETECTABILIDADE

A **DETECTABILIDADE** normalmente é confundida em análise instrumental com a **SENSIBILIDADE**

DETECTABILIDADE

- 1- É o quanto o sistema de detecção do sistema analítico consegue “enxergar”.
- 2- É a quantidade mínima da espécie química em massa ou volume que o sistema analítico consegue mensurar.
- 3- Um equipamento possui alta detectabilidade, quando consegue “enxergar” uma quantidade mínima da função ou espécie em questão.

Exemplo de Ótimas Detectabilidades (consideração geral, pois depende da molécula e do meio)

CFG/FID	=	0,5 mg/litro
CFG/ECD	=	0,1 µg/litro
GC/MS/SIM	=	5 µg/litro
LC/MSMS	=	0,1 ng/mL
ICP	=	1 µg/litro
HPLC	=	0,1 mg/litro

Se **0,5 µL** de amostra introduzida num GC/MS/SIM a massa detectada é de **2,5 picogramas (pg)**

Se o **split** for 1:50 a massa será **0,05 pg = 50 fentogramas**



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

PADRÕES

- 1- PADRÃO DE ESPÉCIE MAJORITÁRIA**
- 2- PADRÃO POR HISTÓRICO**
- 3- PADRÃO RASTREÁVEL**
(antes: CERTIFICADO OU REFERENCIADO
hoje: PADRÃO PRIMÁRIO)

VALIDADE DO PADRÃO

Alguns fornecedores indicam a validade.
Outros faz-se necessário consultar.

PADRÃO PRIMÁRIO

Obtidos a partir do melhor lote de fabricação.
Comercializados por empresas respeitadas ou
referenciadas. Rastreabilidade das análises e
produtos de origem.

PADRÃO SECUNDÁRIO

Obtidos a partir do padrão primário



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

PADRÕES

PADRÃO PRIMÁRIO

Obtidos a partir do melhor lote de fabricação. Comercializados por empresas reconhecidas ou referenciadas. Rastreabilidade das análises e produtos de origem.

Análises Principais

Cinzas ; Voláteis ; Umidade
Identificação de Grupos Funcionais
Identificação Molecular
Teor por mais de uma técnica
Estabilidade

VALIDADE DO PADRÃO

Alguns fornecedores indicam a validade. Outros faz-se necessário consultar.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

LIMITES

LIMITE DE DETECÇÃO (SINAL MEDIDO 3 VEZES MAIOR QUE O NÍVEL DE RUÍDO MÉDIO MEDIDO COM A SOLUÇÃO DE CONTROLE OU BRANCO)

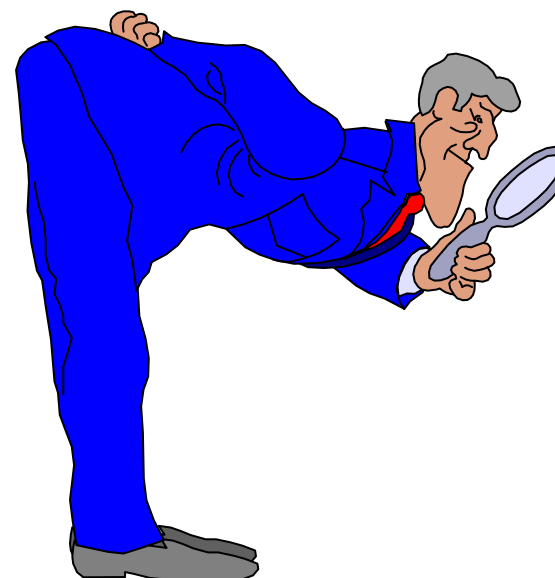
LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (É O MENOR VALOR DETERMINADO EM CONFIABILIDADE DE PRECISÃO ACEITÁVEIS, PARA AQUELA CONDIÇÃO ANALÍTICA).

A QUE LIMITE IREMOS?

O QUE SERÁ ANALISADO?

QUE CIÊNCIA APLICAREMOS?

QUEM DECIDIRÁ OS VALORES?





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

VALIDAÇÃO

MÉDIAS

CONSIDERE O SEGUINTE GRUPO DE RESULTADOS:

3,3,4,4,4,5,5,6,6,7,8,9,9

MODA: É definida como a frequência máxima de um conjunto de medidas . Neste caso seria 4

MEDIANA: Para um conjunto de medidas após arranjá-las em ordem crescente de grandeza, seria a medida do meio. Neste caso seria 5

MÉDIA ARITMÉTICA: Para um conjunto de medida, corresponde à divisão da somatória dos valores pelo número de valores. Neste caso seria 5,6



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

MÉDIA ARITMÉTICA

MÉDIA ARITMÉTICA COMUM

$$\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + \dots + X_n}{n}$$

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

O símbolo Σ tem n **sobres i e i = 1** embaixo para indicar que todos os números como X_i devem ser somados, começando com $i = 1$ e terminando com $i = n$. O símbolo X_i simboliza o valor amostral i -ésimo, onde i é qualquer inteiro de 1 a n . Em palavras este símbolo diz simplesmente "some todos os valores dos X_i , começando com o primeiro ($i=1$) valor amostral e terminando com o último valo

MÉDIA ARITMÉTICA PONDERADA

$$\bar{X} = \frac{2+2+2+3+3}{5}$$

→

$$\bar{X} = \frac{2 \times 3 + 3 \times 2}{3+2}$$

3 e 2 são chamados de pesos

MÉDIA ARITMÉTICA GEOMÉTRICA

$$\bar{X} = \sqrt[n]{a.b.c.} \quad n$$

$$\bar{X} = \sqrt[3]{3.2.4}$$

MÉDIA ARITMÉTICA HARMÔNICA

$$\bar{X} = \frac{1}{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}$$



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

ERROS

Considerar os valores: 0,5% ; 0,8% ; 0,3% ; 0,6%

$$E = \frac{(\text{MAIOR valor} - \text{MENOR valor}) \cdot 100}{X}$$

$$X = \begin{cases} \text{Maior valor} \\ \text{Menor valor} \\ \text{Média dos valores} \\ \text{Valor Referência} \end{cases}$$

DESVIOS

Consideremos a média 6 para os conjuntos:

4 ,5 ,6 ,7 ,8 => média 6

2 ,4 ,6 ,8 ,10 => média 6

s1 = 1,58

s2 = 3,16

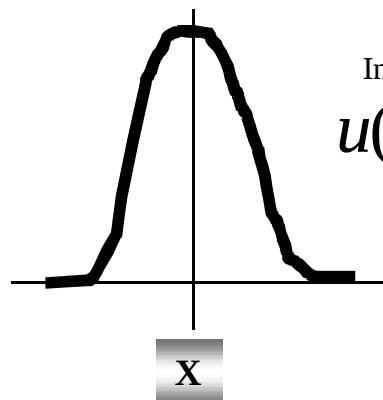
O fato de a estimativa do desvio-padrão ser duas vezes maior no segundo caso (comparar com amplitude) que no primeiro é uma propriedade satisfatória do desvio-padrão o que deve ser considerado como medida de variação.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

DISTRIBUIÇÕES

DISTRIBUIÇÃO NORMAL



Incerteza
$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{9}}$$

$u(x) = s$ Para medidas repetitivas

$u(x) = s$

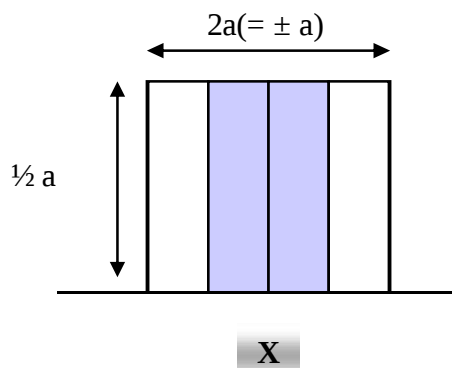
$u(x) = x \cdot (s / \bar{X})$ Variações medidas em relação à estimativa do desvio padrão

$u(x) = \left(\frac{CV\%}{100} \right) x$

$u(x) = c / 2$ Para c até 95%

$u(x) = c / 3$ Para c até 99,7%

DISTRIBUIÇÃO RETANGULAR



Incerteza

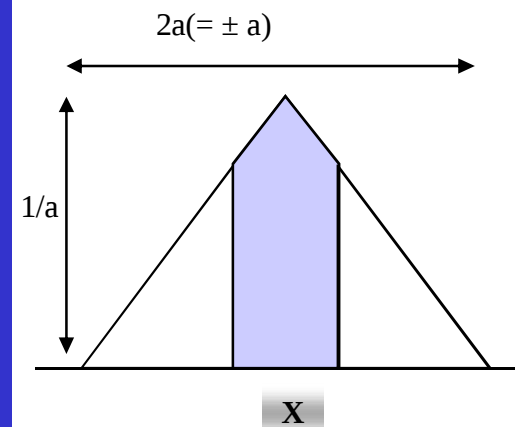
$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$$

Quando há um certificado ou limites especificando um nível de confiança
 $25\text{mL} \pm 0,05\text{mL}$

É feito uma estimativa de um valor máximo.

Baixa variabilidade no sistema

DISTRIBUIÇÃO TRIANGULAR



Incerteza

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

Valores fechados para x são mais próximos do conjunto

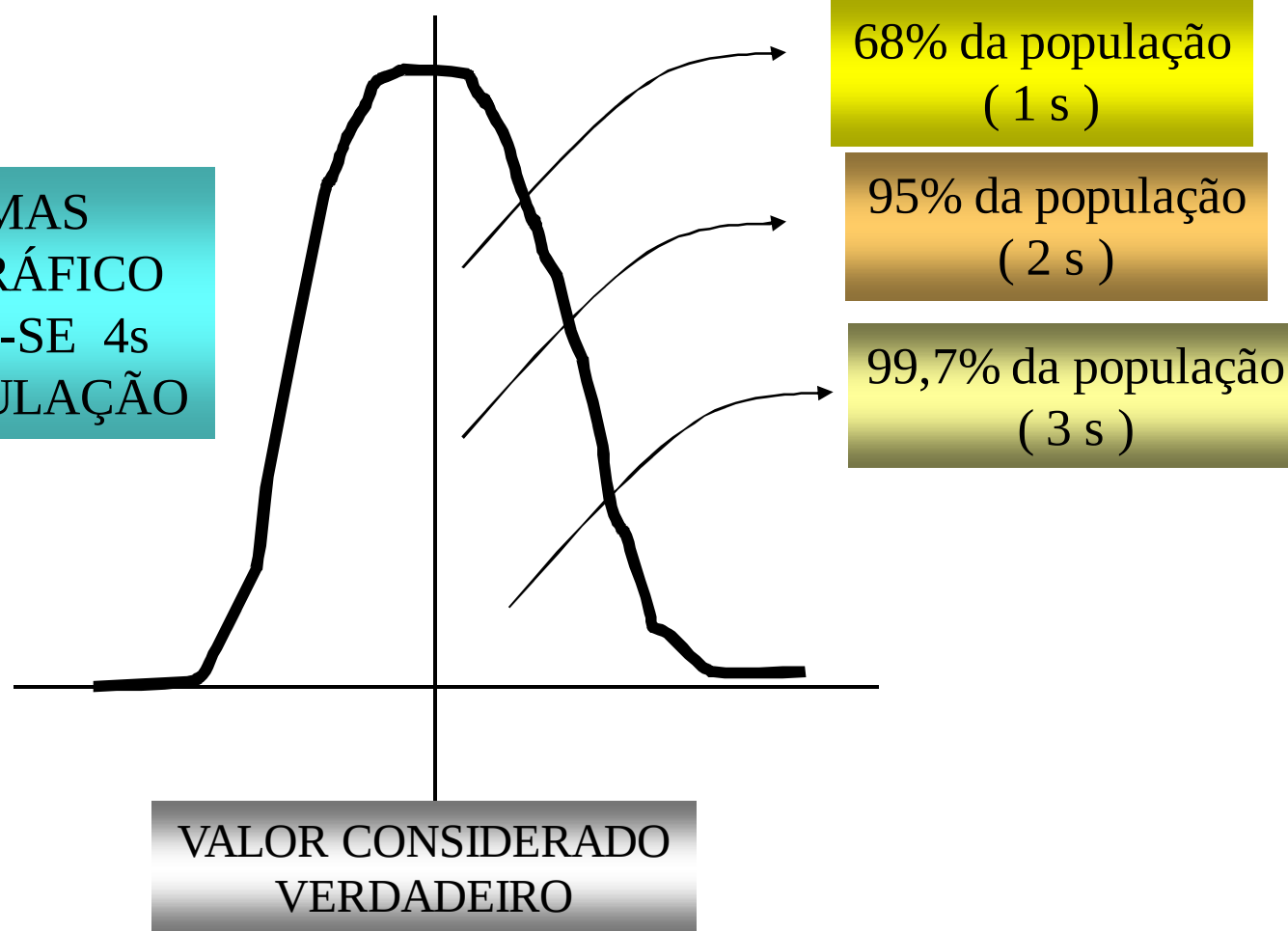
Quando uma estimativa é feita na forma de ranges máximos ($\pm a$) descritos por distribuições simétricas.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

DESVIOS

EM SISTEMAS
CROMATOGRÁFICO
CONSIDERA-SE 4s
100% DA POPULAÇÃO





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

FERRAMENTAS DA VALIDAÇÃO

Variância

$$\sigma^2 = \frac{\sum (\bar{\bar{X}} - X_i)^2}{n}$$

Desvio Padrão

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (\bar{\bar{X}} - X_i)^2}{n}}$$

Estimativa da Variância

$$S^2 = \frac{\sum (\bar{\bar{X}} - X_i)^2}{n - 1}$$

Estimativa do Desvio Padrão

$$S = \sqrt{\frac{\sum (\bar{\bar{X}} - X_i)^2}{n - 1}}$$

Coeficiente de variação

$$C.V = \frac{S.100}{\bar{\bar{X}}}$$

- a) Comp. Precisão: teste F
- b) Rejeições pelos testes:
Q e Grubbs
- c) Estim. CV: Horwitz

$$X = \bar{\bar{X}} \pm \frac{s.t}{\sqrt{N}}$$



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

LIMITE DE CONFIANÇA



50%



33%

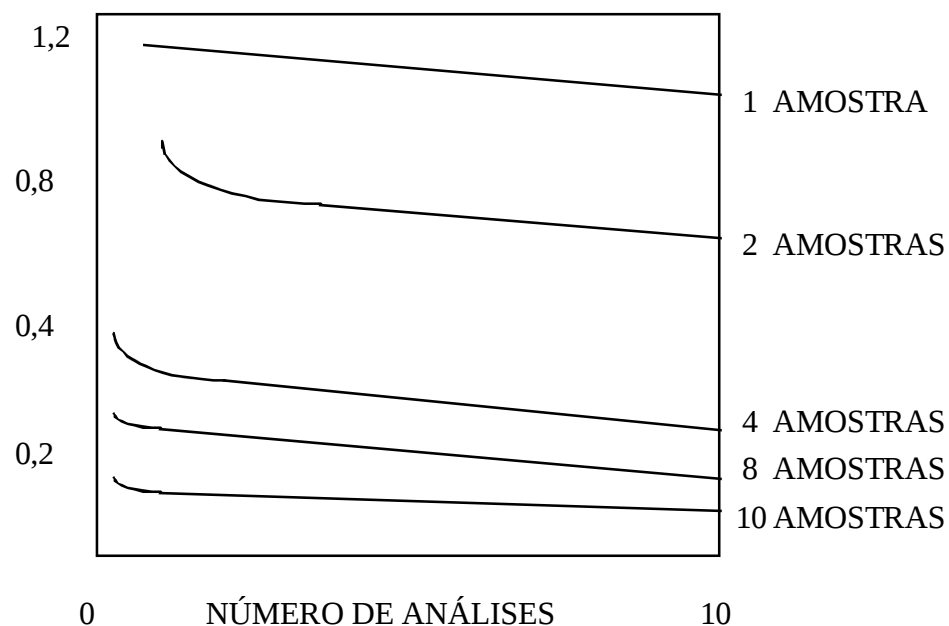


25%



10%

VARIÂNCIA
DA MEDIDA





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

EMIÇÃO DA VARIABILIDADE

RESULTADO = VALOR ACEITO COMO REAL $\pm$ VARIABILIDADE

PROPOSTA 1 = $\bar{X} \pm ZS$ (Z = quantidade de S)

PROPOSTA 2 = $\bar{X} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}}$

PROPOSTA 3 = $CV = \frac{S.100\%}{\bar{X}}$

exemplo = média 20 , S = 1,4 e N = 6

proposta 1	proposta 2	proposta 3
z=2 (95%)	t=0,95 (95%)	C.V. = 7,6%
20 mg/kg $\pm$ 2,8	20 mg/kg $\pm$ 1,5	20 mg/kg $\pm$ 1,4



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

CONCENTRAÇÃO A ANALISAR

Utilizando da equação de Horwitz pode-se prever o valor do CV em função da concentração a analisar

$$CV (\%) = 2 (1 - 0,5 \log C)$$

CV= Coeficiente de Variação C= g de constituinte/g de amostra

Exemplo: Supondo um analito com concentração 0,01 mg/kg.
Qual é a expectativa do C.V.?

$$0,01 \text{ mg} = 10^{-5} \text{ g} \quad \text{kg} = 10^3 \text{ g} \quad \text{então} \quad 0,01 \text{ mg/kg} = 1\text{g}/10^8 \text{ g}$$

$$CV = 2^{(1-(0,5 \times -8))} = 2^5 = 32\%$$

CONC.	(CV %)
1 ppb (p/p)	45
10 ppb (p/p)	32
100 ppb (p/p)	23
1 ppm (p/p)	16

Exigido pela comunidade Européia.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

NÚMERO DE MEDIDAS PARA ANÁLISE

Dividir a amostra em 4 partes

Partindo-se de 10 determinações iniciais (mesma amostra, mesmo analista, mesmo equipamento, mesmo momento), os seguintes resultados, como exemplo, foram obtidos:

10,2 ; 10,3 ; 10,6 ; 11,2 ; 9,7 ; 9,9 ; 10,4 ; 9,3 ; 10,2 ; 10,1 = média = 10,19 = 10,2

Usando do Erro% em relação à média aritmética %E= 18,6

Se dividirmos a amostra em 4 partes iguais, onde a amostra-1 foi usada nas dez medidas, as demais serão usadas para análises em duplicata. E supondo-se os seguintes resultados:

amostra-2 = 10,4 e 9,7 = E%= 6,9

amostra-3 = 11,4 e 9,2 = E%= 21,3

amostra-4 = 9,8 e 11,5 = E%= 15,9

A existência de valores acima de 18,6% , permite observar que as 10 análises, não foram suficientes para determinar a amplitude

Proposta

	Instantânea	duplicata	triplicata
<i>1/3 do Erro de 10</i>			
Amostra-2	< 1/3	>1/3	>1/3
Amostra-3	< 1/3	<1/3	> 1/3
Amostra-4	< 1/3	<1/3	



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

NÚMERO DE MEDIDAS NO DIA A DIA

Por convenção - instantânea
- duplicata, triplicata, quadruplicata,.....

Determinados, baseados no valor t de student

$$B = \frac{t s}{\sqrt{n}} \quad L = \frac{B \cdot 100\%}{z}$$

B = erro obtido a partir do valor crescente de determinações

t = fator de Student

s = estimativa do desvio padrão

L = intervalo de confiabilidade

z = nível percentual aproximado do analito na amostra

exemplo: S = 0,03 Z = 5% k = n-1

n	$B = \frac{t s}{\sqrt{n}}$	$L = \frac{B \cdot 100\%}{z}$	DIFERENÇA EM %
2	12,7 x 0,03 x 0,71	5,41	
3	4,3 x 0,03 x 0,58	1,49	3,92
4	3,2 x 0,03 x 0,50	0,96	0,53
5	2,8 x 0,03 x 0,45	0,75	0,21
6	2,6 x 0,03 x 0,41	0,64	0,11

Se observarmos a diferença em % , a partir de 0,53 inicia a estabilização do resultado, permitindo assim verificar que a partir da terceira análise melhora-se a confiabilidade.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

COMPARAÇÃO DE VALORES

COMPARAÇÃO DE PRECISÃO

A precisão entre dois conjuntos de dados, pode ser comparada pelo **Teste F** o qual utiliza-se da análise das **Variâncias (s²)**

$$F = \frac{\text{MAIOR variância}}{\text{MENOR variância}}$$

Distribuição F
com 5 % de
probabilidade

	Maior S ²					
Menor S ²	3	4	5	6	7	8
3	9,28	9,12	9,21	8,94	8,89	8,85
4	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04
5	5,41	5,19	5,05	4,95	4,89	4,82

Exemplo:

$$s^2a = 3,2 \quad n=6$$

$$s^2b = 1,6 \quad n=5$$

$$g.Liber = n-1$$

$$\text{fator} = 6,26$$

$$F = 3,2/1,6 = 2$$

Dentre as aplicações do Teste F estão:

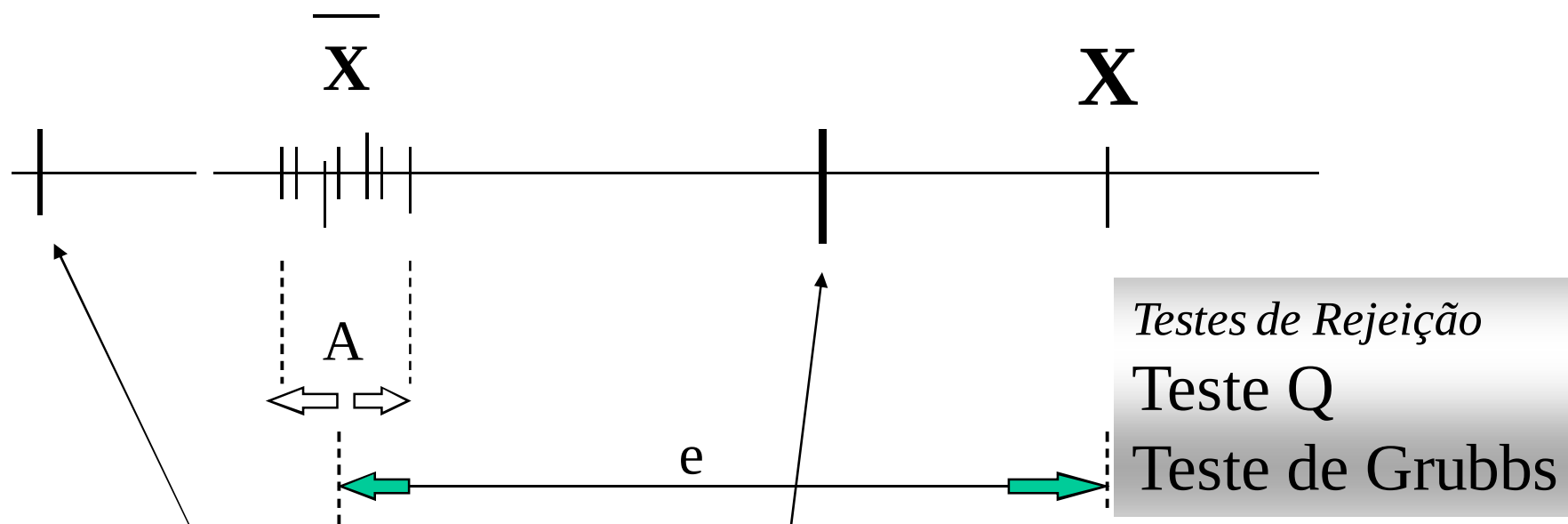
- 1-Comparação entre a precisão de dois métodos ou técnicas diferentes
- 2-Comparar, como reprodutividade, sobre os resultados ou dados das medidas da repetitividade. Pode-se utilizar para valores de aceitação.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

TESTES DE REJEIÇÃO

PRECISÃO E EXATIDÃO



Testes de Rejeição

Teste Q

Teste de Grubbs

APLICANDO REJEIÇÃO COM CONFIANÇA

Pode-se excluir um
valor mais exato



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

REJEIÇÃO DE VALORES

Teste Q Rejeita valores com, base na amplitude das medidas
Para a aplicação do Teste Q utiliza-se da amplitude ou faixa :

(n)	Q 95%
3	0,97
4	0,83
5	0,71
6	0,62
7	0,57
8	0,52
9	0,49
10	0,46

Teste de Grubbs Rejeita valores em relação à estimativa do desvio padrão. Este teste, como no teste Q, observa valores dispersos anômalos maiores ou menores que aparecem no grupo de medidas.

(n)	G 95%
3	1,155
4	1,481
5	1,715
6	1,887
7	2,020
8	2,126
9	2,215
10	2,290

$$Q = \frac{|X_{\text{maior}} - X_{\text{próximo}}|}{X_{\text{maior}} - X_{\text{menor}}}$$

$$Q = \frac{|X_{\text{menor}} - X_{\text{próximo}}|}{X_{\text{maior}} - X_{\text{menor}}}$$

$$G = \frac{(X_{\text{maior}} - \bar{x})}{s} \quad G = \frac{(\bar{x} - X_{\text{menor}})}{s}$$



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

CURVAS/LINEARIDADE

CURVA PADRÃO: sucessão crescente ou decrescente de pontos obtidos da relação entre a concentração da espécie padrão pela sua intensidade de sinal proveniente do sistema de detecção

CURVA DE CALIBRAÇÃO: é utilizada com a finalidade de se obter o ajuste
Neste caso o padrão é definido pelo fabricante ou instituições que zelem pela qualidade.

Na realidade o que se busca é a RESPOSTA do sistema de detecção do sistema à grandeza introduzida do analito. À RESPOSTA de valores distintos da mesma grandeza para o mesmo analito, denomina-se CURVA DAS RESPOSTAS.

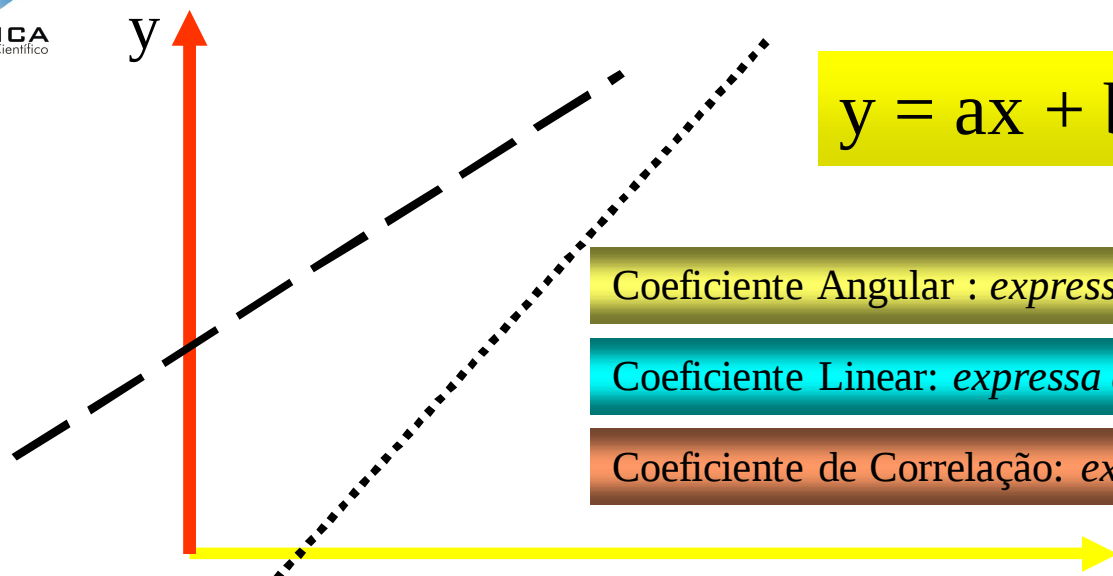
CURVA DE RESPOSTA (Curva de quantificação, Curva de Calibração Analítica):

é utilizada com a finalidade de se obter comparação analítica para a quantificação. Busca linearidade dinâmica. Aplica-se na curva de resposta a relação sinal/concentração a fim de verificar linearidade = relação direta ou regressão linear



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

CURVA DE RESPOSTA



$$y = ax + b$$

Equação da Reta

Coeficiente Angular : *expressa a inclinação da curva aos eixos*

Coeficiente Linear: *expressa a intersecção da curva aos eixos*

Coeficiente de Correlação: *expressa a relação de x a y*

Mínimos Quadrados ou ainda **Regressão Linear**, permite ajustar os pontos da curva para a melhor linearidade

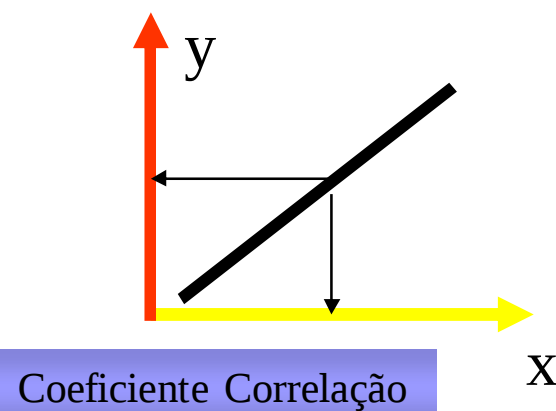
$$a = \frac{n \sum x_1 y_1 - \sum x_1 \sum y_1}{n \sum x_1^2 - (\sum x_1)^2}$$

Coeficiente Angular

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

Coeficiente Linear

$$r = \frac{n \sum x_1 y_1 - \sum x_1 \sum y_1}{\sqrt{n \sum x_1^2 - (\sum x_1)^2} \cdot \sqrt{n \sum y_1^2 - (\sum y_1)^2}}$$



Coeficiente Correlação



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

CURVA DE RESPOSTA

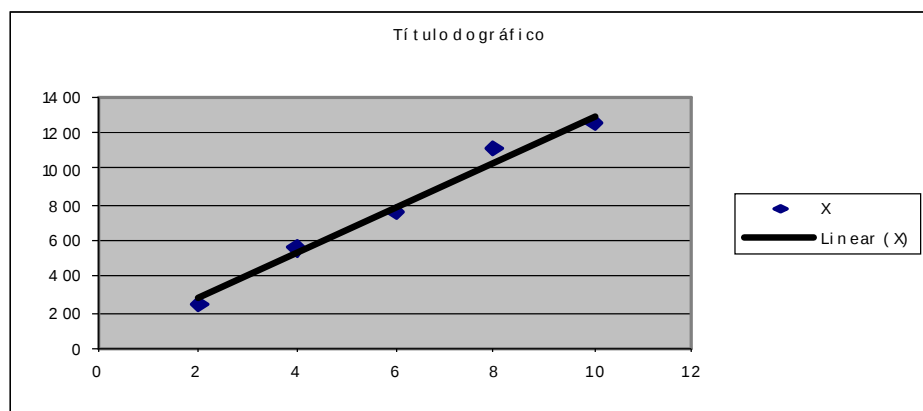
	Y	X
	2	250
	4	550
	6	750
	8	1100
	10	1250
Intercepto	Coef. Linear (b)	-0,0456
Inclinação	Coef. Angular (a)	0,0078
Linearidade	Coef. Correlação (R)	0,9941
Previsão y sendo x=	1500	11,6

Cálculo
valor de X encontrado =
Valor de Y=

$$y = ax + b$$

1000
7,7

Construção da curva é simples utilizando-se das funções do Excell





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

LINEARIDADE

- Utilizando-se do Excell = correl (A5:A12;B5:B12)
conc. ; sinal
- Pode-se observar que a variabilidade se reduz com o aumento de “noves” decimais.

ppm	área
0,5	100
1,0	200
1,5	300
2,0	400
2,5	500
3,0	600
3,5	700
r =	1,000

ppm	área
0,5	80 (-20%)
1,0	200
1,5	360 (+20%)
2,0	400
2,5	500
3,0	600
3,5	700
r =	0,993

ppm	área
0,5	50 (-50%)
1,0	200
1,5	300
2,0	400
2,5	700 (+40%)
3,0	600
3,5	940 (+34%)
r =	0,965

A importância se faz tanto pelo **R** (correlação) ou **R²** (**Q** quadrado ou determinação) ou da variabilidade máxima de 15% da repetição dos valores obtidos na curva de resposta.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

AVALIANDO A CURVA DE RESPOSTA

A-BRANCO

Sempre que possível a amostra ou o branco desta amostra deve ser a base para os valores de uma curva, tanto para a adição como para a diluição. Obtido os pontos da curva de resposta, podem-se definir regras de qualidade para a curva. Caso haja normas específicas, deve-se segui-las ou então fazer as devidas defesas de entendimento

B- A CURVA

- 1) A curva deve ter no mínimo 5 pontos, incluindo o menor valor (menor valor mensurável ou o menor valor de interesse para a quantificação) e o maior valor.
- 2) Podem-se excluir pontos da curva, mas deve-se manter 5 pontos. O menor e o maior devem permanecer.
- 3) Deve-se evitar excluir dois pontos seqüenciais.

Consideração: nesta situação para se ter 5 pontos, deve-se elaborar a curva com no mínimo 6 pontos, supondo-se a possibilidade de rejeitar um ponto. Devido a esse fato, algumas normas utilizam de no mínimo 6 pontos, incluindo o menor e o maior valor, lógico, que a preparação deve elaborar no mínimo 7 pontos.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

AVALIANDO A CURVA DE RESPOSTA

C) EXCLUSÃO DE PONTOS

Um ponto da curva pode ser excluído se o critério do grupo de confiabilidade assim o definir (lembrando que o ponto excluído pode ser o valor mais próximo do valor verdadeiro). **Um dos motivos da exclusão ou não exclusão do ponto é a influência do mesmo sobre a concentração a ser analisada, portanto, o analista ou o grupo de confiabilidade deve avaliar.** Algumas instituições definem valores numéricos para a exclusão, por exemplo: Variações acima de 15% entre o valor da concentração obtida para a concentração de preparação (conc.=massa/volume do balão volumétrico) seria um motivo de exclusão, exemplo:

Pto.	Conc.Alvo	Conc.Real (m/v)	Replicata 1	Variação R1 (%)	Replicata 2	Variação R2 (%)
1	0,50	0,52	0,75	144,2	0,44	84,6
2	1,00	0,98	1,02	104,1	0,97	98,9
3	1,50	1,53	1,48	96,7	1,55	101,3
4	2,00	2,10	2,30	109,5	1,77	84,2
5	2,50	2,45	2,38	97,1	2,65	108,1
6	3,00	3,20	2,70	84,3	3,05	95,3
7	3,50	3,60	3,50	97,2	3,68	102,2

Concentração Alvo : é a ideal planejada

Concentração Real : é a obtida pela relação massa pesada do padrão/volume do balão volumétrico

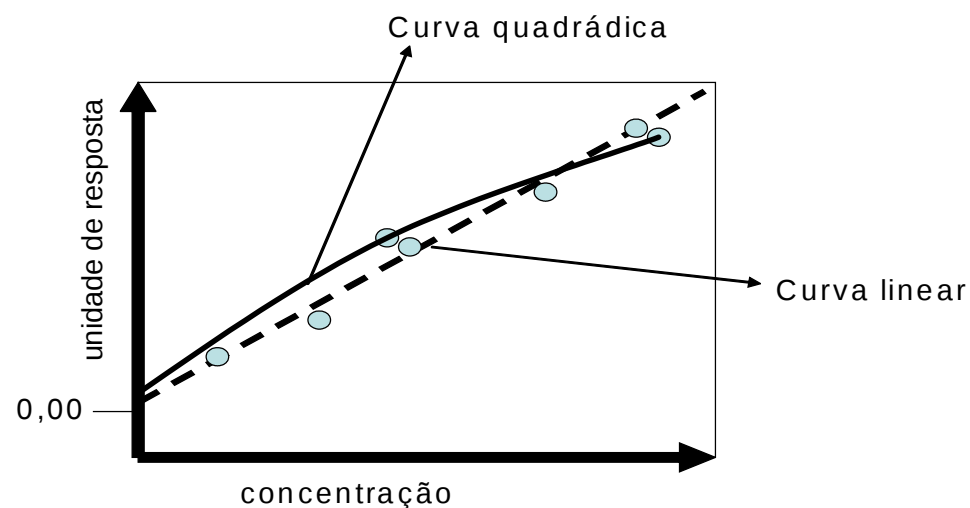
Variação : é a medida da relação entre o valor da replicata/concentração real



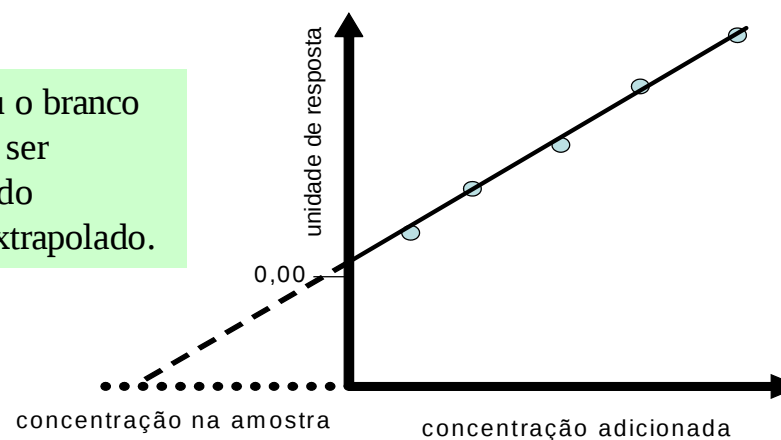
ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

CURVA DE RESPOSTA

CURVA NÃO LINEAR: Quando sistematicamente um ou mais pontos de uma curva, ficam fora dos pontos da reta, mesmo após a regressão linear, pode significar que a curva deve ser avaliada pela equação da curva quadrática, ou seja: $y = -ax^2 + bx + c$.



CURVA POR ADIÇÃO: Nem sempre o placebo ou o branco da amostra está disponível. Neste caso a curva pode ser obtida por adição do ativo sobre a amostra, resultando numa curva, cujo valor a ser analisado deverá ser extrapolado.



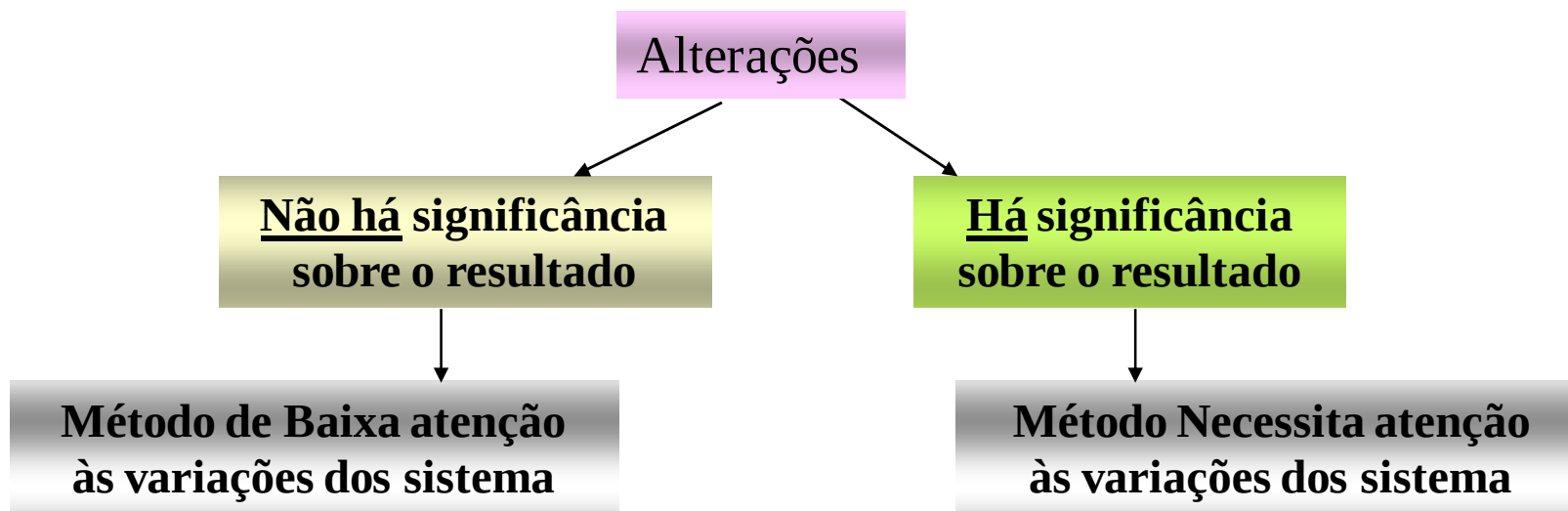


ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

ROBUSTEZ

Foi criada num momento tecnológico que se fazia necessário garantir a repetição do resultado (“Dicas Analíticas”).

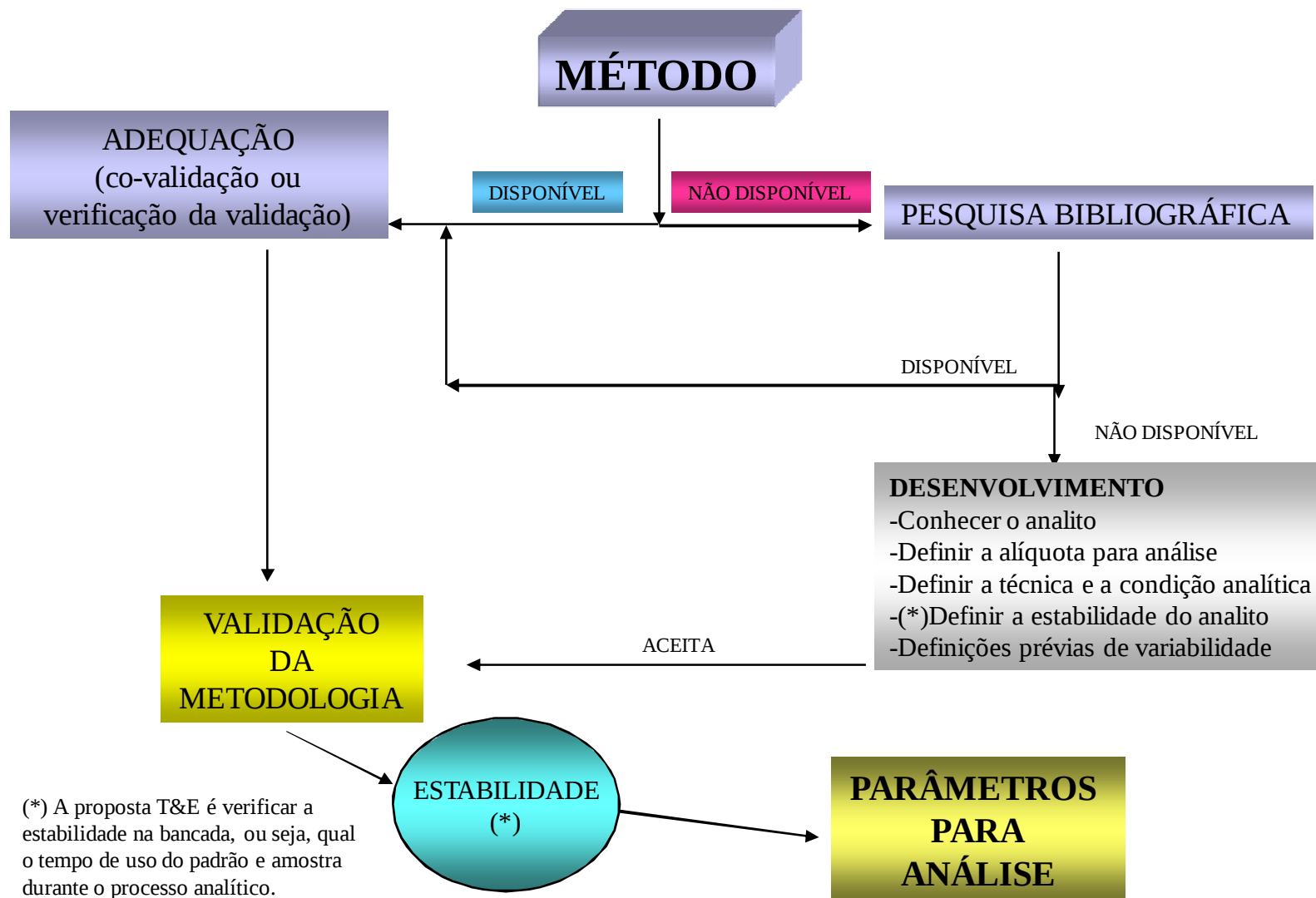
A **Robustez** garantia, por meio de mudanças nas variáveis da condição analítica ou do sistema, que a resposta Quali e Quanti Não Sofreria ou Sofreria alteração no resultado





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO



(*) A proposta T&E é verificar a estabilidade na bancada, ou seja, qual o tempo de uso do padrão e amostra durante o processo analítico.
Obs.: O tempo pesquisado será o obtido durante o processo de validação do método.



ANALÍTICA
Centro Analítico e Científico

Desenvolvendo: CONSTANTE DE EQUILÍBRIO



Constante de Equilíbrio $K = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$

Reação Reversa $K_1 = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} = 1 / K_2$

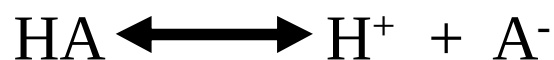
Letra minúscula = coef.estequiométrico

Letra maiúscula = uma espécie química

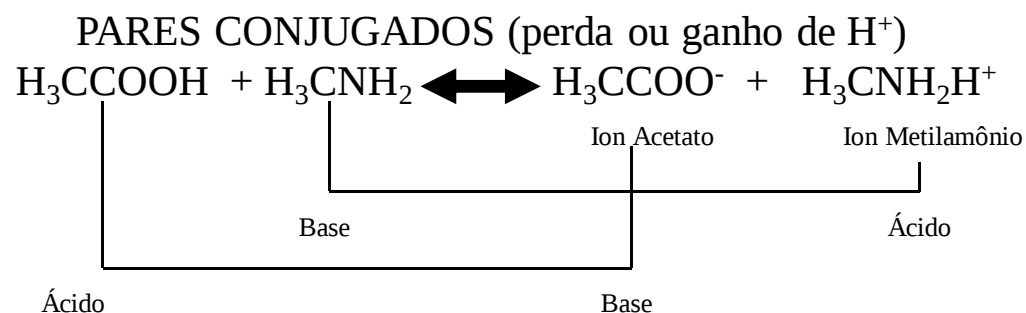
[] = concentração mol/litro

$K > 1$ = reação favorecida

Conc. Equilíbrio = 1 molar, ou seja, $[A]^a/1M$
para solutos não gasosos



$$K = \frac{[H^+] [A^-]}{[HA]}$$



$$pK = -\log [K]$$

K	2	4	8	10
-Log	-0,301	-0,602	-0,903	-1



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

Desenvolvendo: SOBRE O pK

- Quanto MENOR o valor de pKa, mais forte será o ácido conjugado
- Quanto MAIOR o valor de pKa, mais forte será a base conjugada

Ácidos fortes $pK_A < 0$ reagem completamente com água, produzindo o ion hidroxônio, e não deixam o ácido não dissociado possível de ser medido.

Bases fortes $pK_a > 14$ convertem água na sua base OH^-

SOLVENTE	VALOR pK
ÁGUA	4,76
20% DIOXANO	5,29
45% DIOXANO	6,31
70% DIOXANO	8,32
82% DIOXANO	10,14
10% METANOL 90% ÁGUA	4,9
80% ÁGUA 20% METANOL	5,08
100% BENZENO	IMPOSSÍVEL MEDIR, MUITO BAIXA

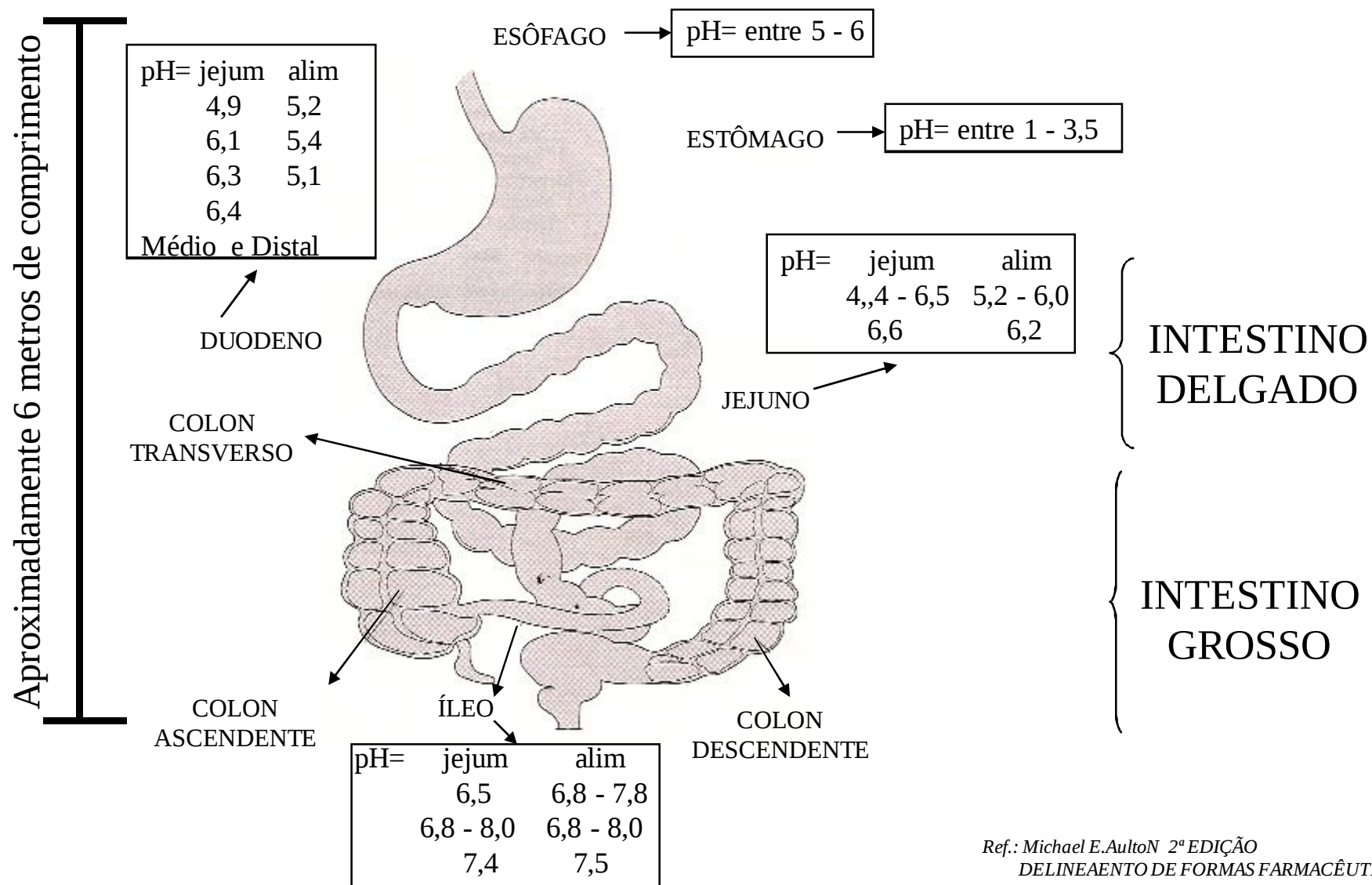
Ácido fórmico :	pka 3,8
Benzoico	4,2
Acético	4,8
Nítrico	-1,4
Ion amônio	9,2

Efeito do solvente na dissociação do ácido acético a 25oC



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

COMPREENDENDO O pH EM FÁRMACOS



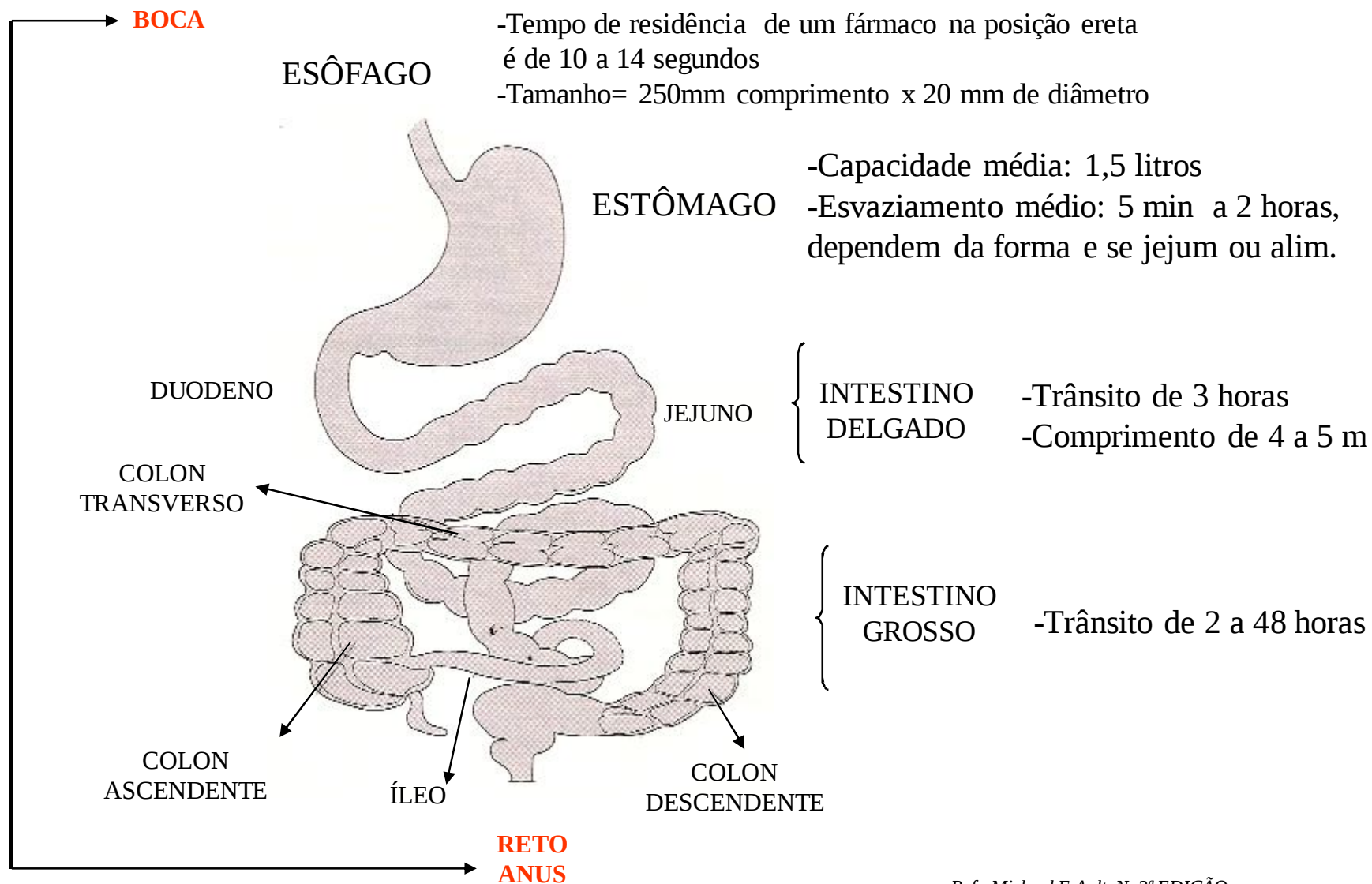
Ref.: Michael E. Aulton 2ª EDIÇÃO
DELINEAMENTO DE FORMAS FARMACÊUTICAS



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

COMPREENDENDO O TMAX E CMAX

TRANSITO DE NORMAL ACIMA DE 24 HORAS



Ref.: Michael E.Aulton 2ª EDIÇÃO
DELINEAMENTO DE FORMAS FARMACÊUTICAS



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

ESTABILIDADE

No Produto

ESTABILIDADE (Calor e Umidade)

- ACELERADA – 6 meses
- LONGA DURAÇÃO > 1 ano

No Método Analítico

Estabilidade no ensaio de SELETIVIDADE. Formas de “STRESS” :

1- Luz

2- Calor

3- Umidade

4- Hidrólise ácida/básica

5- Oxidação

No Padrão e Produto

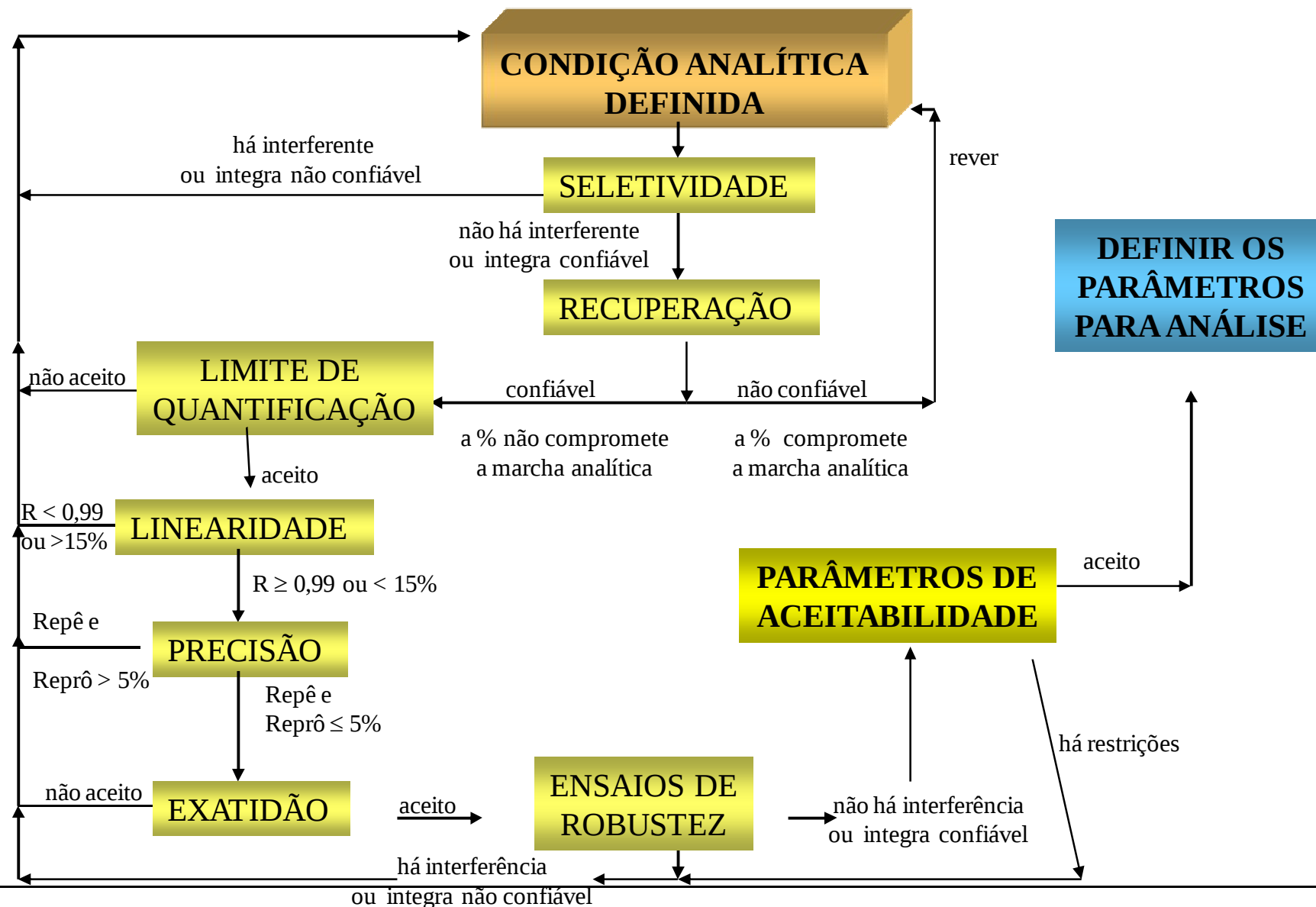
ESTABILIDADE de BANCADA E GELADEIRA

- Para tempo de armazenamento entre bancada e geladeira
- Para tempo de sistema de injetor automático



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

VALIDAÇÃO DO MÉTODO





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

VALIDAÇÃO

São valores de Precisão:

- Repetitividade (inter e intra ocasião)
- Reprodutividade
- Desvios
- Testes de rejeição

Robustez
“dicas”

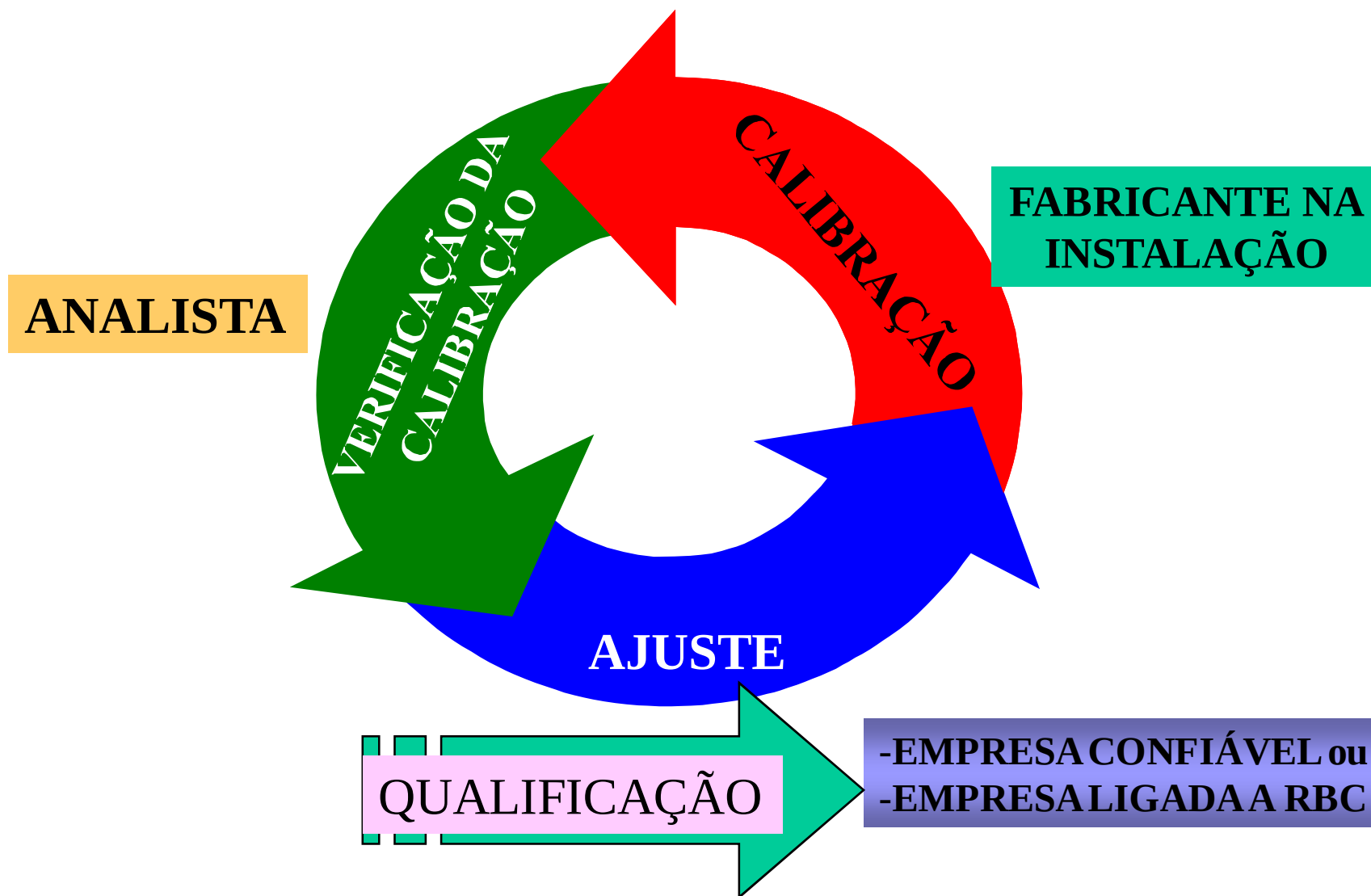
São valores de Exatidão:

- seletividade/especificidade
- calibração
- padrões
- linearidade (curvas e detecção)
- recuperação
- ensaio interlaboratorial
- integração do sinal analítico
- *experiência do analista*



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

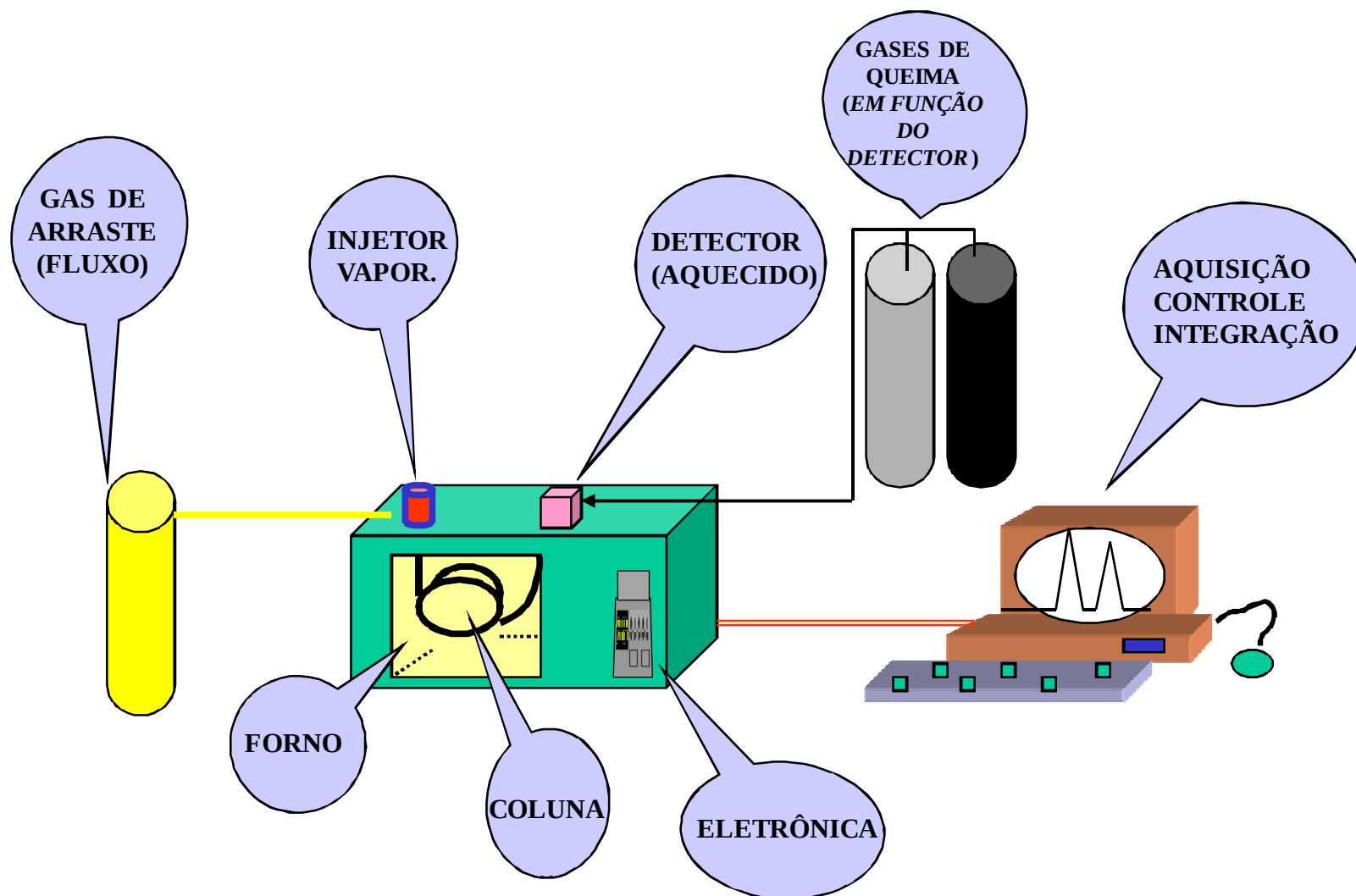
QUEM FAZ : CALIBRAÇÃO/VERIFICAÇÃO/AJUSTE





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

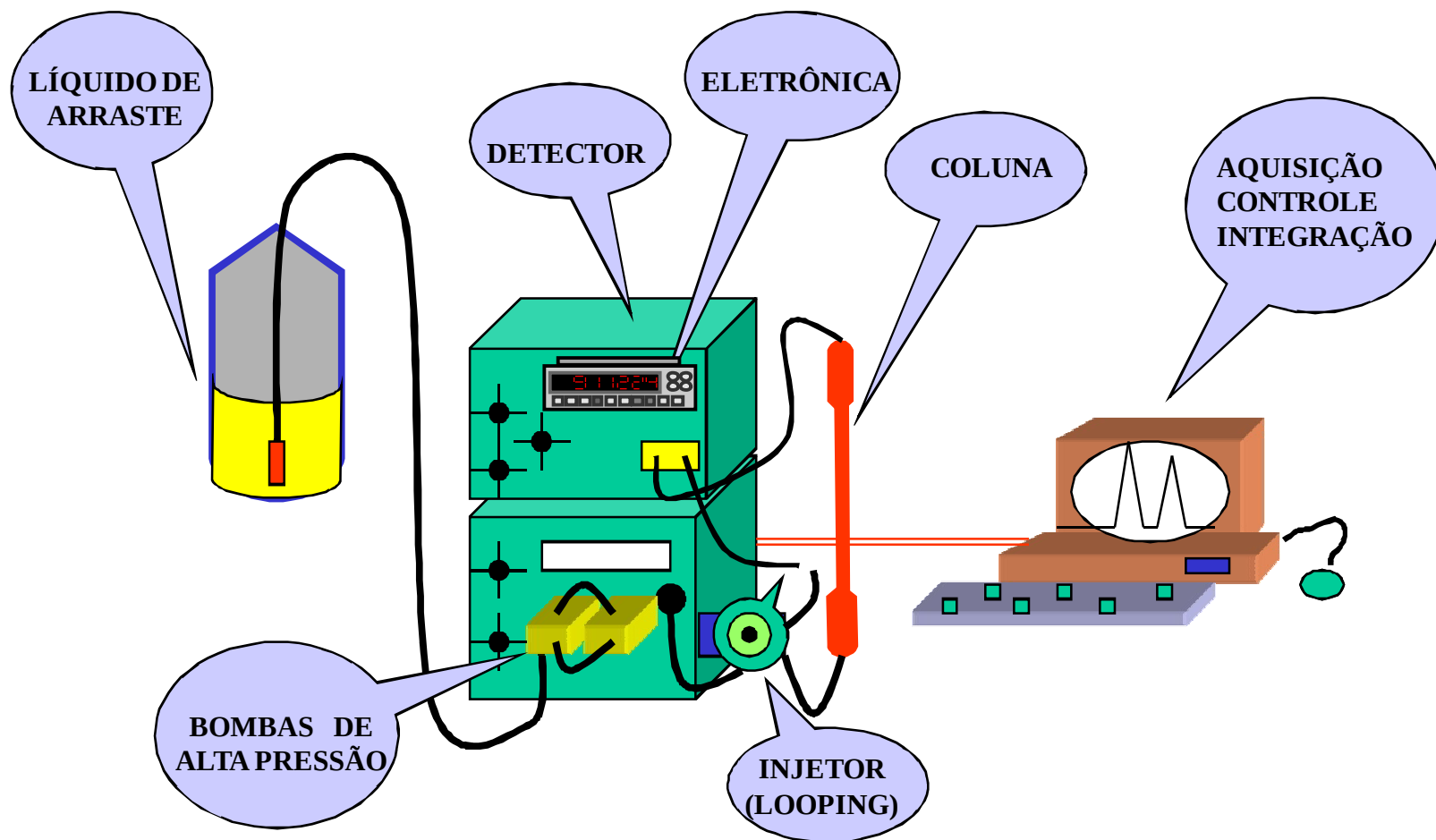
CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

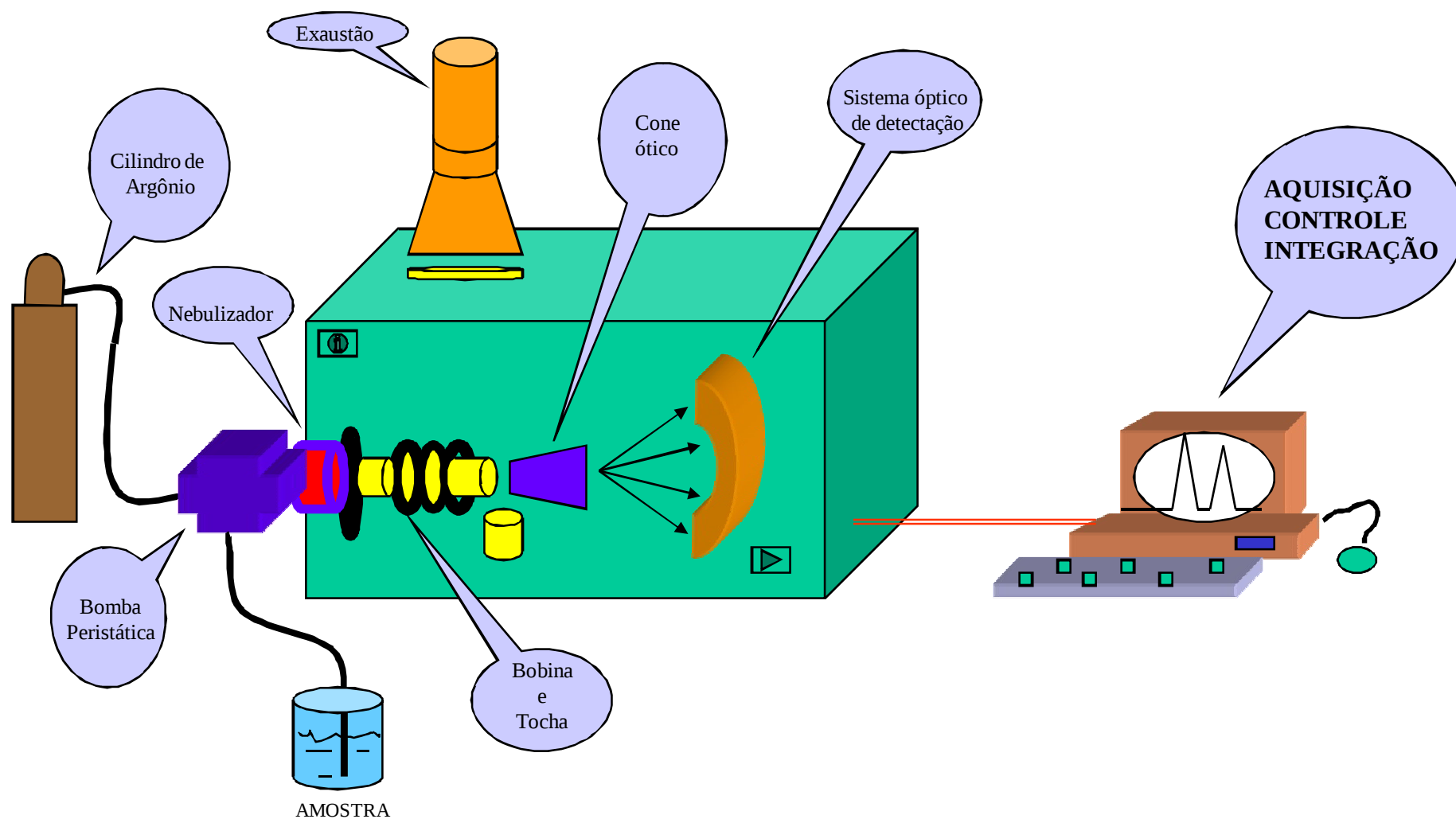
CROMATOGRAFIA EM FASE LÍQUIDA





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

I.C.PLASMA





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

MODELOS DE RELATÓRIO

Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003

Contempla o sistema BPL

NBR 14029 30 de junho de 2005

Contempla o sistema ISO 17025



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003

1.7. No caso de metodologia analítica não descrita em farmacopéias ou formulários oficiais, devidamente reconhecidos pela ANVISA, a metodologia será considerada validada, desde que sejam avaliados os parâmetros relacionados Tabelas 1 e 2.

1.7.1. Especificidade e Seletividade

1.7.2. Linearidade

1.7.3. Intervalo

1.7.4. Precisão

1.7.5. Limite de detecção (sensibilidade)

1.7.6. Limite de quantificação

1.7.7. Exatidão

1.7.8. Robustez



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003

Tabela 1. Classificação dos testes, segundo sua finalidade:

Categoria	Finalidade do teste
I	Testes quantitativos para a determinação do princípio ativo em produtos farmacêuticos ou matérias-primas
II	Testes quantitativos ou ensaio limite para a determinação de impurezas e produtos de degradação em produtos farmacêuticos e matérias-primas
III	Testes de performance (por exemplo: dissolução, liberação do ativo)
IV	Testes de identificação

Tabela 2. Ensaios necessários para a validação do método analítico, segundo sua finalidade:

Parâmetro	Categoria I	Categoria II		Categoria III	Categoria IV
		Quantitativo	Ensaio limite		
Especificidade	Sim	Sim	Sim	*	Sim
Linearidade	Sim	Sim	Não	*	Não
Intervalo	Sim	Sim	*	*	Não
Precisão Repetibilidade	Sim	Sim	Não	Sim	Não
Intermediária	**	**	Não	**	Não
Limite de detecção	Não	Não	Sim	*	Não
Limite de quantificação	Não	Sim	Não	*	Não
Exatidão	Sim	Sim	*	*	Não
Robustez	Sim	Sim	Sim	Não	Não

* pode ser necessário, dependendo da natureza do teste específico.

** se houver comprovação da reprodutibilidade não é necessária a comprovação da Precisão Intermediária.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

INCERTEZAS

Medições Diretas

A Incerteza pode ser avaliada em medições Diretas durante a análise quando se obtém a medida ou indicação, naturalmente pelo sistema de medição aplicado sobre o que se está medindo. Como exemplo está uma medida de pH pelo peagômetro:

- o valor do potencial hidrogeniônico
- a temperatura
- a agitação
- a limpeza do eletrodo

Medições Indiretas

A Incerteza pode ser avaliada em medições Diretas durante a análise quando as medidas são avaliadas pelas influências que possam ocorrer sobre o sistema de medição durante a medida. Continuando como exemplo o peagômetro:

- a variação da corrente elétrica no circuito
- a temperatura externa do ambiente
- o ruído eletrônico
- a robustez do equipamento.

FONTES DE INCERTEZA-Med.Direta

INCERTEZA PADRONIZADA por Repetições :

Neste caso a estimativa da Incerteza Padronizada baseia-se em parâmetros estatísticos obtidos e estimados a partir de repetitivas medidas do mensurando.

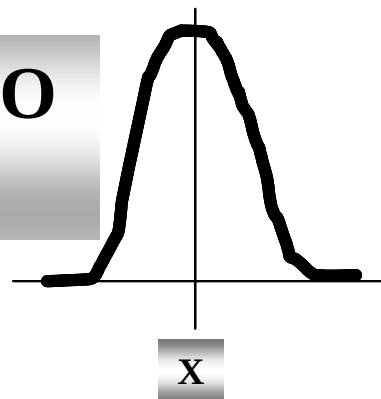
INCERTEZA PADRONIZADA por Informações :

Neste caso a estimativa da Incerteza Padronizada baseia-se em dados, a princípio, já conhecidos como: histórico de medidas; certificados de calibração; especificações do equipamento; manuais técnicos, etc.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

DISTRIBUIÇÃO NORMAL



Incerteza

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{9}}$$

A raiz de 9 deve ser aplicada ao percentual de confiança até 99,7%

1. Quando a estimativa é realizada por meio de observações repetidas não seqüenciais.
2. A incerteza da medida é dada por meio da estimativa do desvio padrão s , ou do
3. Coeficiente de Variação (CV%) sem definição da distribuição.
4. A incerteza aplicada possua um intervalo de $x \pm c$ com um percentual de confiança (normalmente 95%), sem definição da distribuição.

1) $u(x) = s$ Aplicada para medidas repetitivas

2) $u(x) = s$

$u(x) = x \cdot (s / \bar{x})$ Aplicadas para variações medidas em relação à estimativa do desvio padrão ou pelo CV%

$$u(x) = (cv\%/100) x$$

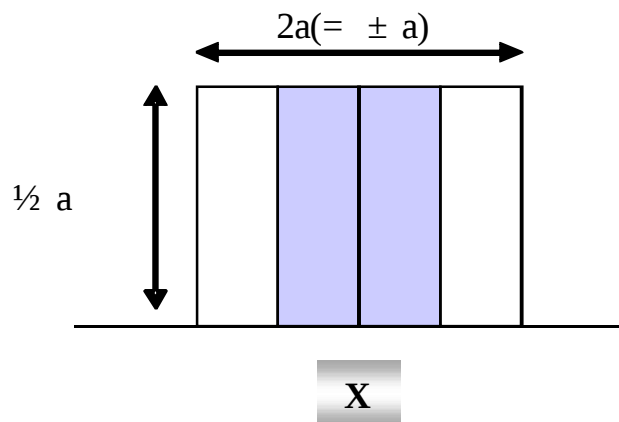
3) $u(x) = c/2$ para c até 95%

$u(x) = c/3$ para c até 99,7%



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

DISTRIBUIÇÃO RETANGULAR



Incerteza

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$$

1-Quando há um certificado ou limites especificando um nível de confiança $25\text{mL} \pm 0,05\text{mL}$

2-É feito uma estimativa de um valor máximo.

3-Baixa variabilidade no sistema.

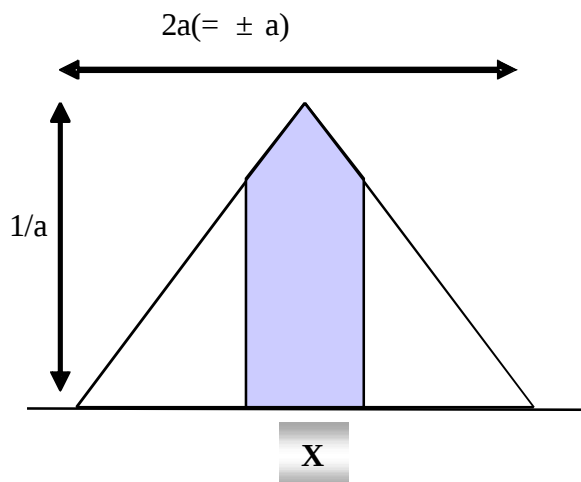
Exemplo de aplicação: um balão volumétrico de 25mL possui certificado numa faixa de $\pm 0,3 \text{ mL}$, ou seja, com valores prováveis.

Neste caso a incerteza padrão é de $0,3/\sqrt{3}$



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

DISTRIBUIÇÃO TRIANGULAR



Incerteza

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

Exemplo de aplicação: um balão volumétrico de 25mL possui certificado numa faixa de $\pm 0,3$ mL, porém, sem um nível de confiança, portanto, valores extremos improváveis. Neste caso a incerteza padrão é de $0,3/\sqrt{6}$

Valores fechados para x são mais próximos do conjunto do que dos limites.
Quando uma estimativa é feita na forma de ranges máximos ($\pm a$) descritos por distribuições simétricas.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

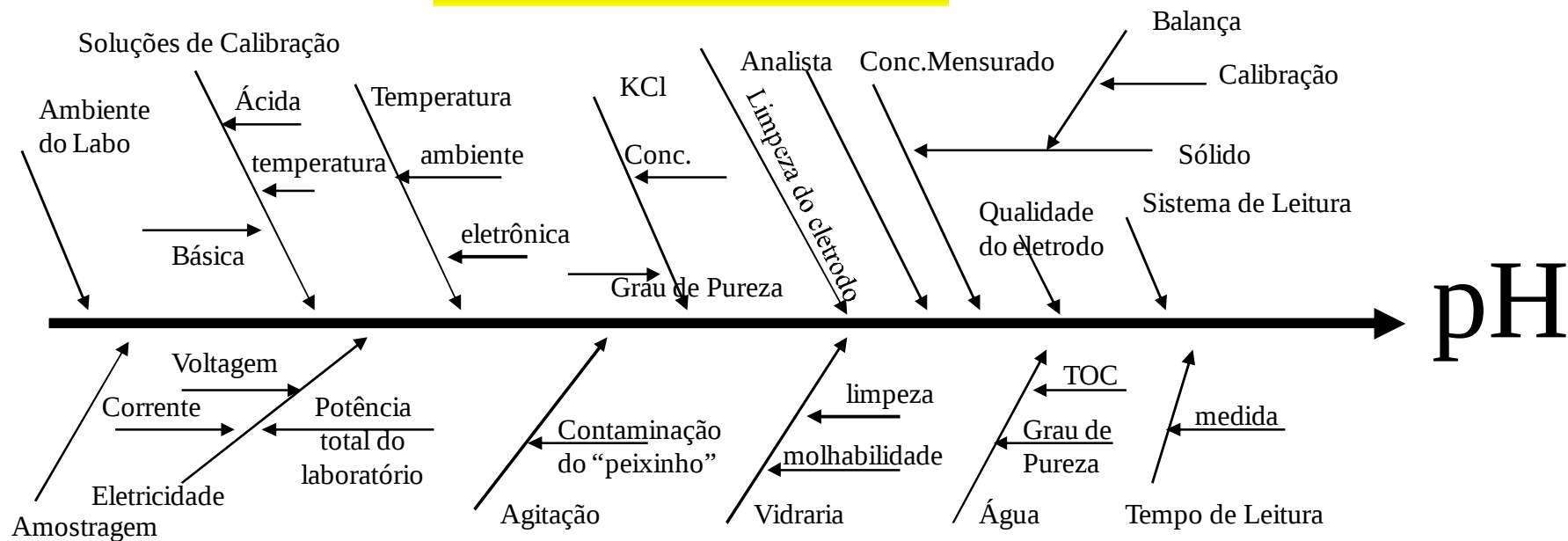
IDENTIFICANDO FONTES DE ERROS

Considere uma medição qualquer dentro da química.
Dentro das operações essenciais verifique se ela foi ideal analiticamente

Medida do pH:

- 1- Introduzir o eletrodo numa solução
- 2- em agitação e
- 3- ler o resultado

DIAGRAMA DE CAUSAS E EFEITOS





ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

INCERTEZAS DE MEDIÇÃO-ISO 17025

Sequência de Tópicos

1- Incerteza Padrão = μ aplicada sobre a variabilidade

$$\mu = \frac{x}{1,94} \text{ Distribuição Normal} \quad \mu = \frac{x}{\sqrt{3}} \text{ Distribuição Retangular} \quad \mu = \frac{x}{\sqrt{6}} \text{ Distribuição Triangular}$$

2- Incerteza Combinada = . Neste caso será adotado a regra da somatória das incertezas:

$$\mu_c = \sqrt{\mu_1^2 + \mu_2^2 + \mu_n^2}$$

3- Incerteza Expandida = U . Normalmente o fator k a ser aplicado será igual à aproximadamente 2

$$U = \mu_c . k$$

4- Expressão do resultado

Resultado = valor medido $\pm$ U (unidades) onde, valor medido pode ser a média aritmética das medidas.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

RASTREABILIDADE

Rastreabilidade em Química:

CITAC (Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry), É considerada a mais importante instituição internacional de rastreabilidade em Química Analítica.

A CITAC nos últimos anos, tem procurado alinhar o máximo os padrões e materiais de referência em química, desta forma criando unificação a nível global.

<http://www.citac.cc>

Hoje, em Química de análise, temos dois tipos de entendimento de Rastreabilidade.

- a) De Referências
- b) Da Investigativa Comprobatória

De Referência:

Diz respeito ao laboratório estar utilizando referências padronizadas ou confiáveis para a análise de identificação e quantificação, para os resultados obtidos por qualquer procedimento analítico, da mesma forma, garantir que calibrações reduzam os erros dos equipamentos de medidas. As auditorias verificam a existência das referências, a capacidade de fazer, validades, validações, armazenamentos, calibrações entre outras. Enfim o laboratório, como um todo, tem a acreditação.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

RASTREABILIDADE

Da Investigativa Comprobatória:

Diz respeito à comprovação de a análise ter sido realizada, ou seja, sobre os diferentes momentos entre a análise do ativo e a comprovação da análise deste ativo. O aspecto científico é praticamente restrito ao desenvolvimento e validação da metodologia. Após a conclusão destas etapas, vem o controle de fabricação do produto, denominado de controle de qualidade. A partir deste momento ocorre um desequilíbrio na balança da análise, na qual a formação do profissional na busca da melhor condição analítica (pesquisa e desenvolvimento) entra em choque com a comprovação de a análise ter sido realizada.

Considerar a titulação ácido-base na qual se busca a concentração de um ácido. Para realizar esta análise, precisa-se de água, de uma base, de um indicador e vidrarias.

Pensando na Água: (se achar interessante, extrapolar para outro tipo de análise).

a) Se pensar na água com a melhor das intenções analítica, há de se garantir que ela esteja sob controle, portanto, a origem da mesma, a filtração, a presença de microorganismos, a Quantidade de orgânicos, a quantidade de ametais, de semi metais, de metais, a acidez enfim análises que levam ao conhecimento de potabilidade ou de ultra-pureza, sobre qualquer desses parâmetros, pode-se levantar a dúvida do quanto um constituinte interferirá na análise.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

RASTREABILIDADE

Considerando como auditoria simples

QUESTIONAMENTOS	RESPOSTAS
1-Qual a origem desta água?	Rede pública
2-Há filtração	Sim, antes do equipamento
3-Após a filtração qual o tratamento	Destilação
4-Há microorganismos	100 UFC
5-Como é armazenada esta água	Em garrações de vidro
6-Quanto tempo fica armazenada esta água	1 mês
7- Qual o pH da água	6,5
8-Qual o uso desta água	Enchimento da pisseta e preparação da amostra.



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

RASTREABILIDADE

Considerando auditoria mais crítica ...pode-se aumentar a profundidade das questões

QUESTIONAMENTOS	RESPOSTAS
1-Qual a origem desta água?	Rede pública
2-Foi realizada análise baseado na Port.518	Não, pois é rede pública
3-Há filtração	Sim, antes do equipamento
4-Quantos e quais os tipos de filtros	Dois filtros e filtros de porcelana
5-Após a filtração qual o tratamento	Destilação
6-Houve tratamento sobre resinas tipo para ultra purificação?	Não, pois não é necessário para análise ora realizada
7-Há microorganismos	100 UFC
8- Foram identificados as espécies de microorganismos	Não, pois se acreditou na água proveniente da rede pública e com baixo teor
9-Como é armazenada esta água	Em garrações de vidro
10-Como o garrafão é lavado e com qual periodicidade.	Lavado por esfregão de cepilho e água destilada recente. Lavagem mensal.
11-Quanto tempo fica armazenada esta água	1 mês
12-Durante o período de armazenagem é feito análises microbiológicas	Não.
13- Há contato água-ar do laboratório	Existe a possibilidade
14- Qual o pH da água	6,5
15- O pHmetro foi calibrado? Quando?	Sim. É verificada com soluções, sempre na primeira medida do dia.
16- Qual o uso desta água	Enchimento da pisseta e preparação da amostra.

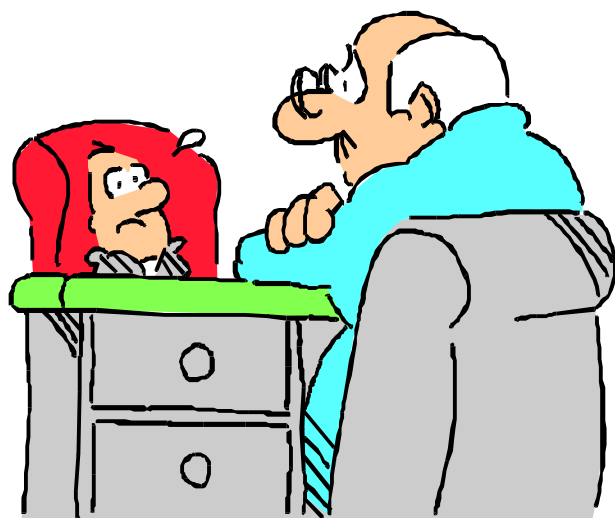
...pode-se aumentar a profundidade das questões!!!!!!!!!!!!!!



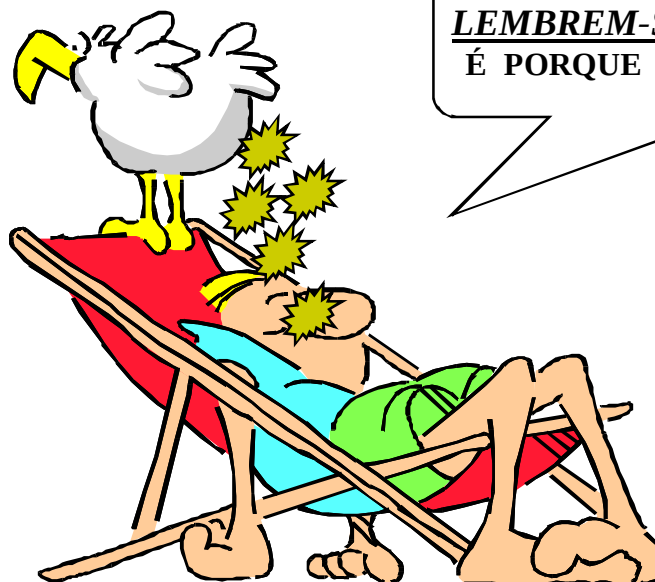
ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

TRANQUILIDADE

O QUE FAZER?



CONVERSAR SEMPRE



TRANQUILO MAS ATENTO

LEMBREM-SE: QUEM SONHA MUITO
É PORQUE DORME DEMAIS.

W.Churchil

ANÁLISES

Desenvolvimentos

Validações



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico

Farmacêutica

Veterinária

Cedoc

Microbiologia

M.Ambiente

Vendas

Consultoria

Petroquímica

Agroquímica

Rações/Pré-Mix

Alimentos

ANVISA

Cursos/Treinamentos

INMETRO

Min.Agricultura

Analytical Compliance

QUÍMICA



ANALÍTICA
Centro Analítico & Científico



Clínica

Laboratórios





BOA SORTE
OBRIGADO

T&E ANALÍTICA

CAMPINAS – Rua Lauro Vanucci 1260 – J.Sta.Cândida CEP: 13087 548

F: (19)-3756 6600 Fx: 3296 0128

teanalitica@teanalitica.com.br

flavio@teanalitica.com.br

www.teanalitica.com.br