



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

✓ Limite de Quantificação (L.Q.)

Corresponde à menor concentração medida a partir da qual é possível a quantificação do analito, com uma determinada exatidão e precisão. Este limiar, após ter sido determinado, deve ser testado para averiguar se a exatidão e precisão conseguida é satisfatória. Este teste pode ser realizado através da passagem, em condições de precisão intermédia, de uma série de padrões internos, cuja concentração é próxima ou igual ao limiar de quantificação. Segundo as recomendações da IUPAC, o coeficiente de variação (desvio padrão a dividir pela média dos valores encontrados) para estes padrões não deve exceder 10%.



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

L.Q. = $X_0 + 10 \sigma_0$ em que:

- ✓ - X_0 é a média aritmética do teor medido de uma série de brancos (entre 10 e 20 ensaios), preparados de forma independente e lidos ao longo de vários dias de trabalho, isto é, reproduzindo o mais possível a situação de rotina;
- ✓ - σ_0 representa o desvio padrão associado a X_0 ;



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

✓ Ensaio em branco

Para metodologias que utilizam gamas baixas de concentrações e propicias a contaminações.

Deve realizar-se ensaio em branco (ensaio realizado com todos os reagentes e substituindo a amostra por água desionizada), o valor do sinal do ensaio em branco deve ser menor que $1/3$ do sinal correspondente ao LQ, ou seja menor que o sinal correspondente ao LD.



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

✓ Precisão (Fidelidade)

A precisão é um termo geral que pretende avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos sobre uma mesma amostra ou padrões, em condições definidas. É importante salientar que será mais realista estudar preferencialmente a precisão sobre amostras, para minimizar efeitos de matriz. Convém referir que geralmente a precisão varia com a gama de concentrações.



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

- ✓ Repetibilidade (medida da variabilidade mínima de um método de ensaio)

Para determinar a repetibilidade de um método no próprio Laboratório, efetuam-se uma série de medições ($n > 10$) sobre uma mesma amostra ou padrões, em condições de repetibilidade (mesmo dia, mesmo operador).

Limite de repetibilidade $r = 2,8 * \sqrt{Sr_i^2}$ (valor absoluto)

Sr_i – desvio padrão de repetibilidade associada aos resultados considerados



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

O Coeficiente de Variação de Repetibilidade (CVr), para cada nível de concentrações, expresso em percentagem, é dado por :

$$CVr = \frac{S_{r_i}}{\bar{x}} \times 100$$

S_{r_i} – desvio padrão de repetibilidade associada aos resultados considerados;

\bar{x} - Média dos valores considerados;

A repetibilidade deve ser efetuada em cada matriz.



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

✓ Critério de aceitação de duplicados

Pode ser avaliado através da precisão intermédia (Esta medida de precisão é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados num laboratório; o valor da precisão intermédia é função da gama de concentração do ensaio);

Pode ser avaliado em termos de amplitude média relativa;

Pode estar já definido na norma e cabe ao laboratório demonstrar que cumpre;



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

✓ Ensaio de Recuperação

Serve para avaliar a presença de interferências;

Avalia a especificidade/seletividade do método (capacidade do método distinguir um analito em particular numa mistura complexa, sem interferência dos outros componentes);

Ter atenção ao efeito de diluição (minimizar a diluição da matriz);

Critério aceitação 80-120%;



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

- ✓ Materiais de referência internos (MRI)
 - estáveis a médio/longo prazo, de modo a permitir a comparação de lotes de MRI novos com antigos e assim avaliar continuamente a variabilidade de resultados no tempo;
 - a homogeneidade de cada lote de MRI ser igual ou superior à precisão/fidelidade exigida aos resultados;
 - o valor de referência do MRI deve ser atribuído tomando as precauções necessárias para garantir a sua exatidão (por exemplo, por aferição com um MRC ou por confrontação de técnicas);



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

- ✓ Materiais de referência internos (MRI)

Podem ser utilizados como MRI, amostras de controlo (de um lote reservado para esse fim), padrões de matriz ajustada com a das amostras, padrões semelhantes (mas independentes dos de calibração) e/ou remanescentes de amostras de ensaios interlaboratoriais.

Os MRI permitem controlar a exatidão (quando rastreados com MRC ou EIL) e a precisão/fidelidade ao longo do tempo.



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

- ✓ Materiais de referência internos (MRI)

A frequência do uso dos MRI deve aumentar quando:

- não houver MRC ou ensaios interlaboratoriais disponíveis e adequados;
- não forem utilizados outros meios de controlo da precisão/fidelidade a médio/longo prazo.



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

Exemplo da utilização do MRI mensal na determinação da humidade em géneros alimentícios:

- Aquisição de amostras do mesmo lote da matriz que queremos analisar (exemplo 13 latas de atum do mesmo lote);
- Executar pelo menos 10 ensaios em dias diferentes e em pelo menos duas amostras independentes;
- Calcular média e desvio padrão dos resultados para definir os limites de controlo;



NP EN ISO/IEC 17025

1 – Validação do método

- Elaborar uma carta de controlo com o valor médio e o limite superior (média + 3 desvios padrão) e limite inferior (média-3 desvios padrão);
- Mensalmente analisar uma amostra e verificar se está dentro dos limites de controlo;

Nota: Consultar OGC 002