

---

## Confiabilidade analítica na análise de alimentos

Josiane Bartz

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-11-4.c4>

A confiabilidade analítica pode ser definida como um conjunto de propriedades que auxiliam na caracterização das informações analíticas em termos de qualidade e utilidade para os usuários finais. É uma função cumulativa e se materializa em várias propriedades que são usadas como indicadores de qualidade. Tais indicadores permitem avaliar, comparar e validar métodos e processos analíticos e os resultados que eles fornecem de maneira fundamentada e eficiente. Por exemplo, ter um conhecimento prévio do nível de exatidão exigido, da rapidez com que os resultados serão produzidos e do custo máximo aceitável por amostra, entre outros requisitos, é essencial para facilitar e fornecer embasamento para a tomada de decisões corretas e oportunas. Sem essa referência, estratégias e trabalhos analíticos de laboratório não fazem sentido.

O fluxograma da Figura 1 agrupa os dois elementos essenciais da qualidade analítica e sua correlação com outras propriedades básicas e acessórias de maneira hierárquica conforme proposto por Válcárcel e Ríos (1993). As propriedades analíticas, vistas individualmente ou coletivamente, não são independentes umas das outras, mas podem exibir relações mútuas e, ocasionalmente, opostas. As setas no esquema ilustram a dependência das propriedades principais em relação às propriedades básicas, uma vez que precisão, sensibilidade, seletividade e robustez fornecem suporte para a exatidão, e a amostragem adequada constituiu a base para a representatividade.

O desenvolvimento do processo analítico e, conseqüentemente, sua qualidade, também deve considerar aspectos relacionados à sua produtividade e segurança, tal como estabelecido no fluxograma da Figura 1 como “propriedades acessórias”. Um bom gerenciamento do tempo, custos, materiais,

reagentes, mão-de-obra e atenuação de riscos, conduzem a maior agilidade, economia, automação, segurança e conforto pessoal. Tais fatores dependem em grande parte da estrutura que um laboratório apresenta e do quanto o mesmo é conduzido para operar de forma eficiente. O equilíbrio entre esses objetivos é o que determina em grande parte a qualidade do processo analítico e, por conseguinte, dos resultados.



**Figura 1.** Propriedades analíticas e suas relações entre si e com a qualidade analítica. Adaptado de VÁLCARCEL, 1993.

## 1. Propriedades analíticas principais

O adjetivo "principal" é sinônimo de "fundamental" e de "superior" e é usado aqui para qualificar as propriedades no topo da hierarquia analítica: **exatidão e representatividade**.

Ambas são complementares e dependerão da qualidade do trabalho realizado fora (amostragem) e dentro do laboratório (processo analítico). Um resultado altamente exato é completamente inútil quando não é representativo da amostra pois não a descreve e, portanto, não resolve qualquer problema analítico em questão. Igualmente, a exatidão também valida a representatividade já que esta se torna irrelevante caso as informações analíticas forem inexatas. Logo, a qualidade dos resultados somente é alcançada quando exatidão e representatividade são obtidas simultaneamente. Na sequência estão resumidas as características mais relevantes das propriedades analíticas principais.

### 1.1. Exatidão

A exatidão é a propriedade analítica mais intimamente relacionada ao trabalho de laboratório em que a composição química de uma amostra conhecida é determinada. É complementar à representatividade porque permite que sejam feitas determinações analíticas específicas sobre uma amostra. Em termos amplos, a exatidão é definida como o grau de consistência entre um resultado com o valor real do que se está determinando. Essa definição é puramente teórica, pois em termos práticos o valor verdadeiro, que é puramente ideal, deve ser substituído por um valor de referência aceito como verdadeiro. Isso pode ser feito a partir da utilização de materiais de referência (certificados ou não), uso de padrões analíticos, etc.

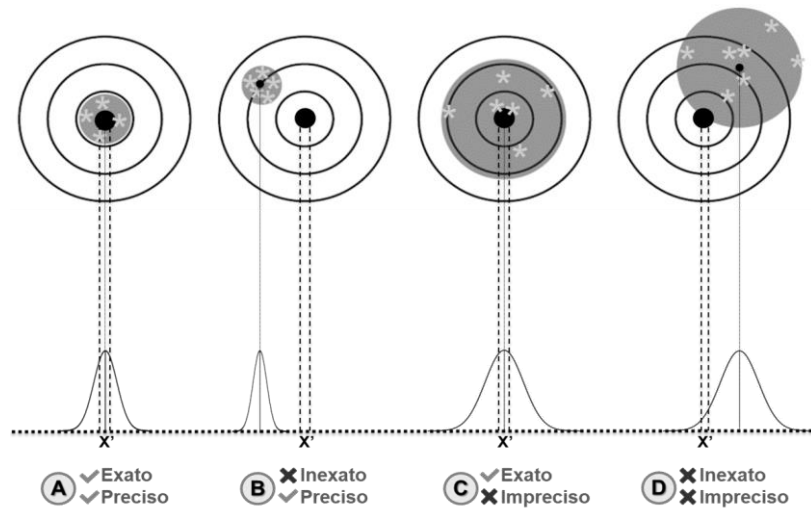
Para estimar adequadamente a exatidão é preciso considerar não apenas a proximidade de um resultado ao valor tido como verdadeiro, mas também a coerência entre os resultados repetidos que compõem a sua média. Ou seja, para definir a exatidão de um método, deve-se conhecer previamente sua precisão e comparar a dispersão dos resultados com a do valor tido como verdadeiro. Na Figura 2 estão quatro exemplos relacionando exatidão com precisão e como tal define a qualidade de um resultado em relação a um valor de referência tido como verdadeiro:

A - O resultado é preciso e exato, pois a média do conjunto de resultados se concentra bem próxima ao intervalo de  $X'$ .

B - O resultado não é exato, ainda que preciso, pois está muito distante do intervalo de  $X'$ .

C - O resultado embora exato, é menos preciso que na situação A pois, ainda que a média dos valores seja compatível com  $X'$ , esta apresenta uma alta dispersão (incerteza) em relação a esse valor.

D - O resultado não é exato nem preciso. O intervalo de incerteza para  $X'$  abrange apenas uma pequena fração daquele para a média do conjunto de dados.



**Figura 2.** Relação entre exatidão e precisão na determinação de um resultado.

Os quatro métodos principais, propostos para o estudo da exatidão, são baseados no uso de material de referência certificado (MRC), na comparação do método proposto com um método de referência, no uso de ensaios de recuperação na matriz e em estudos colaborativos.

## 1.2. Representatividade

No contexto analítico, a representatividade é sinônimo de consistência dos resultados com o material do qual as amostras são extraídas e com o objetivo da análise em questão. Um claro entendimento do problema analítico a ser respondido é determinante na maneira como as amostras serão obtidas e analisadas.

A seleção de uma amostra representativa e dos protocolos combinados para amostragem e análise devem basear-se no claro entendimento da natureza dos alimentos. Amostragem adequada é essencial para atingir um grau de representatividade apropriado ao problema analítico e, assim, fornecer resultados de qualidade. Exatidão na análise de uma amostra não representativa não tem sentido.

Por exemplo, uma determinação precisa do conteúdo de gordura do leite em apenas algumas embalagens selecionadas aleatoriamente pelo uso de metodologias validadas com base em instrumentação moderna não é uma informação analítica útil se o objetivo é determinar o conteúdo de gordura de um

lote de 10.000 embalagens. É necessária uma amostragem estatística apropriada para que as informações produzidas sejam representativas do problema como um todo.

Os alimentos são muito variáveis em sua composição, principalmente os alimentos frescos de origem vegetal. Deve-se levar em consideração que existem comportamentos fisiológicos distintos, modificações advindas do tipo de processamento aplicado ao alimento e diferenças na composição entre as várias partes de um mesmo alimento. A importância da fase de amostragem não pode deixar de ser exaustivamente enfatizada. Se a porção ensaiada (amostra) não for representativa do material original, não será possível relacionar o resultado analítico medido àquele no material original, não importando a qualidade do método analítico, nem o cuidado na condução da análise. A representatividade é, portanto, um pré-requisito inevitável e determinante de todo o processo analítico e nenhuma outra propriedade analítica pode ser justificada na ausência de representatividade.

Embora seja bastante difícil avaliar a representatividade, certas aproximações estatísticas podem ser aplicadas a técnicas de amostragem que as tornam mais fáceis de implementar e mais confiáveis. Planos de amostragem podem ser aleatórios, sistemáticos ou sequenciais, e podem ser empregados para obtenção de informações quantitativas ou qualitativas, ou para determinar a conformidade ou não-conformidade com uma especificação. Em muitos casos, é imperativo considerar peculiaridades da amostra e investigar uma variedade de técnicas para garantir uma pergunta analítica adequadamente definida que fornecerá resultados representativos do problema científico abordado.

## **2. Propriedades analíticas básicas**

Precisão, seletividade, sensibilidade e robustez são as quatro propriedades analíticas básicas que caracterizam o processo analítico (método). Amostragem adequada, outro objetivo analítico básico, não é estritamente uma propriedade analítica.

Resultados exatos não são possíveis sem sensibilidade adequada, ausência de interferências e repetibilidade/reprodutibilidade razoável (isto é, baixa incerteza). Assim como nenhuma representatividade pode ser reivindicada

na ausência de amostragem adequada. Segue uma descrição dos aspectos mais relevantes de cada propriedade.

## 2.1. Precisão

A precisão é uma propriedade básica do processo analítico e pode ser definida como o “grau de consistência entre um conjunto de resultados obtidos aplicando-se um mesmo método analítico separadamente (testes independentes) a alíquotas individuais de uma amostra”. Precisão é sinônimo de agrupamento, logo, quanto menor a dispersão maior será a precisão e vice-versa. Os parâmetros usados para medir a precisão estão relacionados a erros aleatórios (indeterminados) e medem a dispersão ou desvio dos resultados entre si e entre a sua média no caso de análises quantitativas, ou como taxas de verdadeiro e falso positivo (e negativo) no caso de análises qualitativas.

A precisão não é um conceito único e isolado, sendo dependente do objeto ao qual se aplica e da maneira como o conjunto de resultados é obtido. Ela pode ser expressa em relação a um resultado individual, a todos os resultados ou a média de uma parte desses resultados.

Embora, por definição, o método e a amostra sejam mantidos durante as medições, o laboratório, instrumentos, aparelhos, reagentes, padrões, operadores e período de tempo poderão variar entre as medidas. Quanto mais diferentes forem as condições experimentais, mais diversas serão as fontes de variabilidade e maior será a dispersão dos resultados. Assim, considerando as condições em que os dados são obtidos, a precisão poderá ser calculada em termos de repetibilidade e reprodutibilidade (ou suas variantes).

A **repetibilidade** pode ser definida como a dispersão dos resultados para testes independentes entre si, usando o mesmo método aplicado a alíquotas da mesma amostra, no mesmo laboratório, pelo mesmo operador, usando o mesmo equipamento por um curto intervalo de tempo. Ou seja, medições feitas sob condições que podem ser repetidas. Já a **reprodutibilidade**, em termos gerais, consiste na dispersão dos resultados obtidos aplicando o mesmo método à mesma amostra em condições que podem ser reproduzidas, isto é, diferentes dias, operadores, equipamentos ou laboratórios. A terminologia para designar ensaios intra ou interlaboratoriais pode variar entre as instituições reguladoras. A ANVISA, por exemplo, subdivide este parâmetro em “**precisão intermediária**”

para classificar a variabilidade dos resultados produzidos em um mesmo laboratório enquanto a **reprodutibilidade** se limita a verificação do desempenho do método por diferentes laboratórios.

A diferença mais saliente entre repetibilidade e reprodutibilidade é o grau de rigor. Como a repetibilidade é calculada sem alterações nas condições experimentais e invariavelmente leva a valores de precisão mais altos (ou seja, a menor dispersão nos resultados) do que a reprodutibilidade, que é calculada com alguma alteração nas condições e, portanto, reflete um rigor variável que depende de um, vários ou todas as condições experimentais. Ou seja, embora a reprodutibilidade seja menos precisa que a repetibilidade, ela é muito mais rigorosa porque os resultados são confirmados em diferentes condições experimentais. Em resumo, a repetibilidade reflete a dispersão mínima possível (maior precisão) e a reprodutibilidade a dispersão máxima possível (menor precisão) de um determinado processo analítico. Esses dois extremos representam os limites superior e inferior para os parâmetros com base nos quais a dispersão é expressa.

## 2.1. Seletividade e especificidade

Quando se deseja avaliar um determinado analito em uma amostra alimentícia, é necessário levar em consideração que, de maneira geral, esta será composta também por uma matriz e por outros componentes. Estes, ainda que não sejam de interesse para a medição, poderão ter algum efeito no desempenho da mesma, assim como a magnitude desse efeito poderá depender de sua concentração no alimento. Assim, o efeito de interferentes pode impedir que um método seja seletivo para um determinado analito ou conduzir a erros sistemáticos que alteram o resultado final deste.

A **seletividade** é uma propriedade básica que suporta a exatidão e representa, em termos gerais, o grau em que um método pode determinar um analito na presença de outros analitos, matrizes ou de outro material potencialmente interferente. Um método é chamado seletivo mesmo quando produz respostas para vários analitos, desde que se possa distinguir a resposta de um analito da dos outros. Já o termo **especificidade**, muitas vezes utilizado erroneamente como sinônimo de seletividade, refere-se à capacidade de um método em responder para apenas um analito de interesse.

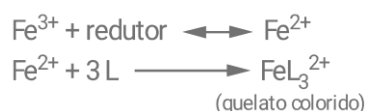
Interferências são perturbações que alteram algumas ou todas as etapas do processo analítico a partir de erros sistemáticos que aumentam ou diminuem o resultado em relação ao valor considerado verdadeiro. Em outras palavras, se a seletividade não for assegurada, a exatidão do método estará seriamente comprometida. As interferências podem ser ocasionadas por um ou múltiplos interferentes e são classificadas de acordo com a sua origem, sinal, efeito na curva de calibração e mecanismo pelo qual a perturbação é exercida:

- Em relação à origem, as interferências podem ser químicas (espécie química interferente produz uma reação de cor semelhante à produzida pelo analito por adição de um reagente (ligante) à amostra), físicas (por exemplo, causado por partículas suspensas em uma amostra que dispersa a luz durante medições da intensidade de fluorescência do analito ou de seu produto de reação) e instrumental (por exemplo, quando a taxa de fluxo e/ou a temperatura operacional não são cuidadosamente controladas em cromatografia gasosa).
- Em relação ao sinal analítico, as interferências podem tanto causar um aumento de sinal, e levar a resultados sujeitos a erros sistemáticos positivos (exemplo das interferências químicas citadas anteriormente) ou diminuir o sinal, causando erros negativos (por exemplo, na presença de uma espécie mascarada que reage competitivamente com um reagente que deveria interagir apenas com o analito).
- O mecanismo pelo qual a interferência é produzida pode ser semelhante ou idêntico ao qual o analito produz seu sinal (exemplo das interferências químicas anterior) ou diferente dele (exemplo das interferências físicas em uma determinação química).
- O efeito na curva de calibração depende da relação da interferência em questão com o analito. Assim, interferências aditivas são causadas por espécies ou efeitos independentes da concentração do analito (a curva de calibração possui uma interceptação positiva ou negativa, embora independente do espaço em branco, e é deslocada para cima ou para baixo como resultado). Interferências proporcionais surgem quando a perturbação depende do nível de concentração do analito, uma vez que a sensibilidade é aumentada ou diminuída como resultado da mudança na inclinação da parte linear da curva de calibração. Também pode ser o caso de múltiplas interferências as quais produzem erros aditivos e proporcionais. Interferências na determinação de um único analito (ou



a concentração total de analito em uma mistura) podem surgir da matriz da amostra, assim como a determinação discriminante de vários analitos também pode estar sujeita a interferências mútuas entre os analitos.

Para ilustrar alguns dos tipos mais comuns de interferências, tendo em vista uma abordagem qualitativa da sensibilidade, pode-se utilizar o exemplo da determinação de ferro em vinho a partir de um método colorimétrico. O método envolve adicionar um redutor, como ácido ascórbico ou hidroxilamina, a uma alíquota de vinho para reduzir  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ , ajuste do pH pela adição de um tampão e de um ligante como 1,10-fenantrolina para formar um quelato solúvel fortemente colorido ( $\text{FeL}_3^{2+}$ ) (equação) cuja alíquota é usada para medir a absorvância a 510 nm.



A determinação de  $\text{Fe}^{2+}$  no vinho pela formação de um quelato colorido pode ser interferida por três fatores diferentes:

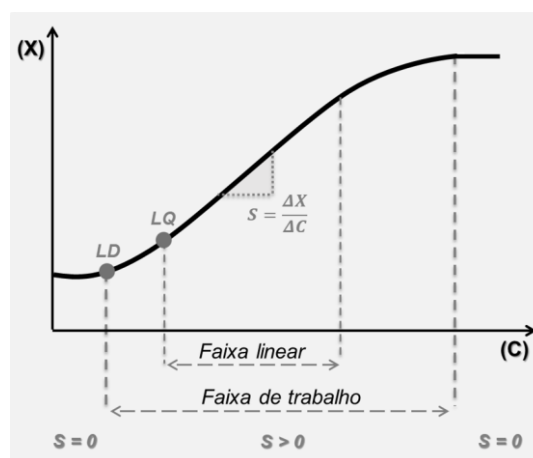
- 1) A cor típica do vinho tinto, que pode aumentar as leituras de absorvância do fotômetro e levar a erros positivos (sinal aumenta) pelo efeito do instrumento que mede um excesso de cor (por exemplo, pela presença de taninos no vinho tinto). Embora seja de natureza química, esse fenômeno surge da presença de outras substâncias no vinho e não de uma reação química (quelação) do  $\text{Fe}^{2+}$  ou outros íons.
- 2) A formação de quelatos coloridos com  $\text{Cu}^{2+}$ , resultante de uma reação indesejada do ligante com íons  $\text{Cu}^{2+}$  no vinho, a qual pode ser uma fonte de interferência se os quelatos cuprosos forem visíveis no comprimento de onda medido e levar a um erro positivo do sinal devido ao excesso de cor. Essa interferência é de natureza química e surge da formação de quelatos coloridos e, portanto, pelo mesmo mecanismo usado para determinar o  $\text{Fe}^{2+}$ .
- 3) A formação de quelatos incolores de  $\text{Fe}^{2+}$  com íons fluoreto impede que a totalidade de íon ferroso seja quelatado pelo ligante (L) e se torne "visível" ao fotômetro. Isso leva a uma redução do sinal ("uma deficiência de cor"). Essa

interferência também é de natureza química e também surge da formação de quelatos.

## 2.2. Sensibilidade

A sensibilidade pode ser definida tanto como “a capacidade de detectar (análise qualitativa) ou determinar (análise quantitativa) pequenas quantidades de um analito em uma amostra” quanto pela “capacidade de discriminar entre concentrações similares de analito”. É uma propriedade básica que caracteriza o método analítico e dá suporte para a exatidão dos resultados. Maior será a sensibilidade de um procedimento analítico quanto menores forem as concentrações de analito detectadas ou determinadas, ou mais similares, que possam ser distinguidas.

Maior será a sensibilidade quanto mais marcada for a alteração no sinal produzido por uma pequena alteração na concentração do analito. Essa ideia pode ser expressa graficamente através de uma curva de calibração, na qual a sensibilidade corresponde à inclinação da parte linear central da mesma. Comumente, a curva é construída experimentalmente medindo os sinais para uma série de padrões de concentração conhecidas crescentes do analito (dentro da faixa de concentração pretendida ou esperada da amostra), incluindo um “branco analítico” (amostra sem o analito). A Figura 3 corresponde a uma curva de calibração típica que exibe várias faixas que permitem avaliar a sensibilidade em três partes distintas pela variação do sinal analítico (X) como a concentração de analito (C):



**Figura 3.** Representação gráfica dos parâmetros de sensibilidade com base na curva de calibração.

- Em **baixas concentrações** de analito ( $S = 0$ ), o mesmo não pode ser detectado ou determinado. Logo, o menor sinal possível (limite inferior da curva) é o produzido pelo instrumento em resposta a um espaço em branco (amostra que não contém analito e/ou ruído de fundo do instrumento) e o início da curva.
- Em **concentrações muito altas** de analitos, o sinal não varia mais com a concentração ( $S = 0$ ) e o maior sinal possível (limite superior da curva) corresponde ao nível de saturação do analito, além do qual o instrumento não pode detectar quantidades maiores.
- Em **concentrações intermediárias** de analito, a sensibilidade é diferente de zero ( $S > 0$ ). Nesse caso, uma faixa de trabalho é delimitada, e corresponde a faixa de concentração em que o sinal sai do sinal em branco (limite inferior) até o sinal de saturação (limite superior). O limite inferior é chamado de "**limite de detecção**" (**LD**) porque coincide com o ponto além do qual o analito pode ser diferenciado do branco.

Na região central da faixa de trabalho,  $S$  permanece constante, sendo essa a chamada "**faixa linear**". A faixa linear é a faixa de concentração em que o sinal varia linearmente com a concentração ao longo de uma linha reta e, portanto, de acordo com uma lei de primeira ordem na qual a inclinação e a sensibilidade serão constantes e equivalentes. A faixa linear é delimitada por outras duas regiões, onde  $S$  aumenta e diminui, respectivamente. O limite inferior da faixa linear define as coordenadas para o **limite de quantificação (LQ)** porque é o ponto além do qual a quantidade de analito na amostra pode ser determinada a partir de uma simples relação sinal-concentração. Já o limite superior da faixa linear é atingido quando há um desvio significativo da linearidade, ou seja, a resposta do sinal deixa de ter uma relação linear com o analito.

Como pode ser observado, a sensibilidade está inversamente relacionada aos limites de detecção e quantificação, ou seja, quanto mais baixo forem esses limites, maior será a sensibilidade de um método em relação a uma determinada amostra ou analito.

**Limite de detecção (LD)** é a menor quantidade ou concentração do analito na amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada. Em termos mais práticos, o LD remete ao sinal produzido pelo

analito em determinada concentração que pode ser diferenciada, de forma confiável, do sinal do branco ou do ruído (se for o caso).

Conhecer o LD é especialmente crucial quando se trabalha com baixas concentrações do analito ou elementos-traço, como resíduos de defensivos agrícolas ou contaminantes. A importância dessa determinação e os problemas associados a ela advém do fato de que a probabilidade de detecção não muda rapidamente de “0” para “1” quando seu limiar é ultrapassado. Além disso, o tipo de matriz ou amostra pode exercer bastante influência no LD de um analito.

Dentre as muitas formas de estimar o LD, as mais comuns são a partir de métodos visuais, razão do sinal-ruído e a partir da curva analítica. De forma geral, o limite de detecção é estabelecido por meio da análise de soluções de concentrações conhecidas e decrescentes do analito, até o menor nível detectável. No caso de métodos não instrumentais (CCD-cromatografia de camada delgada, titulação, comparação de cor), a obtenção de uma aproximação desse limite pode ser feita visualmente, onde o limite de detecção é considerado o menor valor de concentração capaz de produzir o efeito visual esperado (mudança de cor, turvação, etc.). Para métodos que gerem uma linha de base (CLAE-cromatografia líquida de alta eficiência, CG-cromatografia gasosa, absorção atômica, espectrofotometria, etc.) o LD pode ser determinado pela comparação dos sinais medidos de amostras com baixas concentrações conhecidas do analito com os ruídos produzidos pelos brancos, definindo-se a concentração mínima em que o analito pode ser detectado com confiança. A relação sinal/ruído de 3:1 ou 2:1 é geralmente considerada aceitável para estimativa do limite de detecção. Também pode-se obter uma aproximação do LD a partir da curva de calibração (Figura 3) ou da análise de número apropriado de desvios-padrão de uma média de brancos.

**Limite de quantificação (LQ)** é definido como a menor quantidade ou concentração do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. Acima do LQ, o instrumento pode discriminar diferentes quantidades (concentrações) de analito (ou, em outras palavras, o analito é "visível" para o instrumento e pode ser quantificado por ele).

O limite de quantificação é obtido por comparação dos sinais medidos de soluções contendo concentrações decrescentes do analito com as do branco,

estabelecendo-se a concentração mínima na qual o analito pode ser quantificado.

Assim como para o LD, o LQ pode ser estimado a partir do ruído da linha de base sendo tipicamente considerado como a concentração que produza relação sinal-ruído superior a 10:1. Também pode ser estimado a partir do limite inferior da faixa linear da curva de calibração (Figura 3).

### 2.3. Robustez

A robustez representa a resistência à mudança da resposta (resultado) quando um método analítico é aplicado independentemente a alíquotas da mesma amostra, mas sob condições experimentais ligeiramente diferentes. As alterações experimentais introduzidas na determinação da robustez de um método são usadas para identificar fontes potenciais de variabilidade na rotina prática. O objetivo final é detectar e quantificar as "fraquezas" experimentais do método, para que quaisquer fatores críticos possam ser antecipados e controlados, assegurando a confiabilidade e transferibilidade<sup>1</sup> do mesmo. Por exemplo, um método que tolera temperaturas entre 15 e 20 °C será mais robusto e confiável do que outro que fornece resultados aceitáveis apenas a 20 °C.

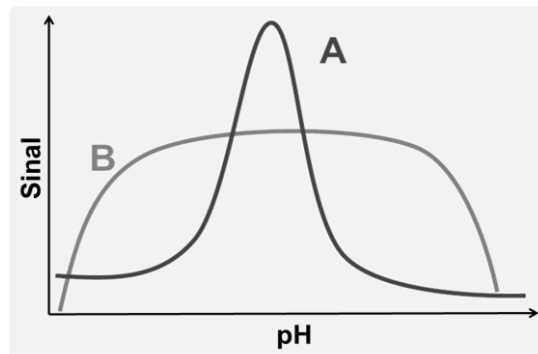
A robustez constitui uma propriedade atípica, pois não pode ser expressa quantitativamente. No entanto, pode ser testada, pela introdução deliberada de pequenas variações experimentais (por exemplo, influência da temperatura, pureza e tipo de reagentes utilizados, pH e condições de separação cromatográfica) e análise das consequências geradas por elas. Essas variações podem ou não ter uma influência significativa sobre o desempenho de um método e, à medida que afetam a resposta analítica, torna-se imprescindível manter a adoção de precauções para manter as condições de realização dos ensaios em um nível constante e aceitável de variabilidade.

O exemplo ilustrado na Figura 4 compara a robustez entre dois métodos em relação à variação de pH durante um processo analítico. O sinal de pH obtido com o método A muda abruptamente com a alteração dessa variável. Já o sinal obtido a partir do método B permanece similar em uma faixa de pH maior.

---

<sup>1</sup> A transferibilidade de um método representa sua capacidade de fornecer resultados consistentes quando aplicado/comparado por diferentes laboratórios.

Portanto, o método A é muito mais sensível e dependente do pH enquanto o método B é muito mais robusto que o método A.



**Figura 4.** Comparação da robustez entre dois métodos em relação ao pH.

Em geral, para verificar a robustez de um método analítico deve-se:

- Identificar as variáveis que poderiam ter um efeito significativo no desempenho do método;
- Planejar e realizar experimentos para avaliar o efeito de pequenas mudanças nos fatores variando-se a procedência ou pureza de reagentes, preparo de amostras, quantidades de amostras utilizadas, tempos de reação e eluição entre outros.
- Verificar a existência de efeitos significativos para todos os fatores ensaiados, isolados e conjuntamente para antecipar a possibilidade de efeito sinérgico, como por exemplo do tempo e da temperatura de reação.

A robustez de um procedimento analítico é convencionalmente determinada por comparações interlaboratoriais. No entanto, a avaliação do impacto que as condições de mudança têm no procedimento analítico pode ser previamente realizada dentro do laboratório.

### 3. Referências bibliográficas

BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA). Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899\\_29\\_05\\_2003.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html). Acesso em: 13/04/2022.

BELTER, M.; SAJNÓG, A.; BARAŁKIEWICZ, D. Over a century of detection and quantification capabilities in analytical chemistry - historical overview and trends. **Talanta**, v. 129, n. 1, p. 606-616, 2014.

BIANCHI, F.; GIANNETTO, M.; Careri, M. Analytical systems and metrological traceability of measurement data in food control assessment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 107, p. 142-150, 2018.

BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. de A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

CÁRDENAS, S.; VALCÁRCEL, M. Analytical features in qualitative analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 6, p. 477-487, 2005.

CASES, M. V.; LÓPEZ-LORENTE, A. I.; LÓPEZ-JIMÉNEZ, M. Á. **Foundations of Analytical Chemistry**. Cham: Springer International Publishing, 2018. 487 p.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Analytica Chimica Acta**, v. 391, p. 105-126, 1999.

EURACHEM. **The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics**. 2.ed. MAGNUSSON, B.; ÖRNEMARK, U (org.), 2014. Disponível em: [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org). Acesso em: 05/09/2021.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Validation of Analytical Methods for Food Control**: Report of a Joint FAO/IAEA Expert Consultation. Vienna, 1998. 19 p.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**: DOQ-CGCRE-008, Revisão 05, 2016.

KONIECZKA, P. The Role of and the Place of Method Validation in the Quality Assurance and Quality Control (QA/QC) System. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 37 n. 3, p. 173-190, 2007.

McNAUGHT, A. D.; WILKINSON, A. **Compendium of Chemical Terminology, IUPAC recommendations**. 2.ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997. Online version (2019) created by CHALK, S. J.

MILLER, J., N.; MILLER, J., C.; MILLER, R. D. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 7.ed. Harlow, 2018.

PAULA, A. P. de S. de; CUSTÓDIO, F. B. Programas da qualidade em laboratórios de análises microbiológicas de alimentos: percepção dos benefícios e dificuldades na implantação. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 6, p. 4622-4630, 2019.

SOUZA, G. B.; SOBRINHO, M. R.; BOZA, Y. (editores). **Validação de métodos para análise de alimentos: enfoque em análise centesimal**. 1.ed. São Paulo: REMESP, 2016. 123 p.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 1, p. 145-196, 2006.

VALCÁRCEL, M.; CHRISTIAN, G. D.; LUCENA, R. Teaching social responsibility in analytical chemistry. **Analytical Chemistry**, v. 84, p. 6152-6161, 2013.

VÁLCARCEL, M.; RÍOS, A. The hierarchy and relationships of analytical properties. **Analytical Chemistry**, v. 65, n. 18, p. 781-787, 1993.