

## Avaliação da incerteza de medição associada à análise de carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência.

João Oiano-Neto<sup>1\*</sup> (PQ), Ronoel Luiz de Oliveira Godoy<sup>1</sup> (PQ), Sidney Pacheco<sup>1</sup> (TC), Jeane Santos da Rosa<sup>1</sup> (TC), Angela Aparecida Lemos Furtado<sup>2</sup> (PQ).

(1) Laboratório de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência; (2) Unidade da Garantia da Qualidade - UGQ. Embrapa Agroindústria de Alimentos, Avenida das Américas 29.501, Bairro Guaratiba, Rio de Janeiro - RJ. Email: oiano@ctaa.embrapa.br

Palavras Chave: incerteza expandida, validação, carotenóides, cromatografia líquida.

### Introdução

Métodos analíticos confiáveis são necessários para estar em concordância com as regulamentações nacionais e internacionais aplicadas em diferentes áreas<sup>1</sup>.

A incerteza de medição é o parâmetro associado ao resultado e caracteriza a dispersão dos valores que podem ser fundamentalmente atribuídos a um mensurando. Alguns componentes da incerteza podem ser estimados por meio de desvio padrão experimental ou avaliados por meio da distribuição de probabilidades assumidas.

A incerteza apresenta duas componentes: incerteza padrão combinada ( $\mu_c$ ) e incerteza expandida (U), onde a incerteza expandida fornece um intervalo dentro do qual se acredita, com uma alta probabilidade de abrangência, que o valor do mensurando esteja contido. O valor de U é obtido pela multiplicação da incerteza padrão combinada ( $\mu_c$ ) por um fator de abrangência (k) e a escolha deste fator é baseada na probabilidade de abrangência desejada<sup>2</sup>.

O objetivo deste trabalho foi avaliar, por cálculos matemáticos, a incerteza expandida associada ao método utilizado na quantificação de carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência.

### Resultados e Discussão

O cálculo da incerteza associada à medida da concentração de cada carotenóide é dado por:

$U = \pm mc.k$ , onde U é a incerteza expandida;  $\mu_c$  a incerteza combinada e k o fator de abrangência (probabilidade de abrangência de aproximadamente 95%). A concentração de cada carotenóide na amostra é dada pelo método matemático:  $C(mg/g) = C_s.V.Repe.F/m$ , onde  $C_s$  (concentração do carotenóide no extrato); V (volume do extrato); Repe (repetitividade da medida cromatográfica), m (massa da amostra) e F (fator de correção do volume). Através deste modelo matemático a incerteza combinada ( $\mu_c$ ) de todas as fontes de incerteza é dada por:

$$(\mu_c)^2 = (\frac{C}{C_s} \cdot \mu_{C_s})^2 + (\frac{C}{V} \cdot \mu_V)^2 + (\frac{C}{F} \cdot \mu_F)^2 + (\frac{C}{Repe} \cdot \mu_{Repe})^2 + (\frac{C}{m} \cdot \mu_m)^2$$

onde:  $\mu_c$  (incerteza combinada da medida da concentração);  $\mu_{C_s}$  (incerteza associada à curva de calibração);  $\mu_V$  (incerteza associada ao volume);  $\mu_m$  (incerteza associada à massa);  $\mu_{Repe}$  (incerteza associada à repetitividade) e  $\mu_F$  (incerteza associada ao fator de correção do volume). As derivadas parciais correspondem aos coeficientes de sensibilidade:  $\frac{C}{C_s} \mu_{C_s} = (V.F.Repe)/m$ ;  $\frac{C}{V} \mu_V = (C_s.F.Repe)/m$ ;  $\frac{C}{m} \mu_m = -(C_s.V.F.Repe)/m^2$ ;  $\frac{C}{Repe} \mu_{Repe} = (C_s.V.F)/m$ ;  $\frac{C}{F} \mu_F = (C_s.V.Repe)/m$ .

Após o desenvolvimento matemático de cada parâmetro descrito acima, obteve-se para  $\mu_c$  o valor de  $\pm 52,0482$ . O valor de k aplicado no cálculo da incerteza expandida (U) foi obtido na tabela *t-Student* através dos graus de liberdade efetivos ( $\nu_{eff}$ ). O valor de  $\nu_{eff}$  foi calculado como:  $(\nu_{eff}) = (mC)^4 / [(mC)^4 / u_m + (mC_s \cdot \frac{C}{C_s})^4 / u_{C_s} + (mRepe)^4 / u_{Repe} + (mF)^4 / u_F + (mV)^4 / u_V]$ .

Considerando os graus de liberdade para Repe, F, V e massa infinitos e para a curva de calibração igual a 2 (distribuição normal com probabilidade de abrangência de aproximadamente 95%) têm-se  $(\nu_{eff}) = (mC)^4 / [(mC_s \cdot \frac{C}{C_s})^4 / u_{C_s}] \gg \nu_{eff} = 2,0$ .

Com base neste valor de graus de liberdade efetivos ( $\nu_{eff} = 2,0$ ), tem-se pela tabela de *t-Student*, com probabilidade de abrangência de aproximadamente 95%, o valor de  $k = 4,53$ . O valor calculado da incerteza expandida para a análise do perfil de carotenóides é de  $U = \pm 235,78$ . Este valor é 98,99% devido à incerteza associada à curva de calibração ( $\mu_{C_s}$ ).

### Conclusões

Parâmetros como temperatura, medidas de volume, medidas de massa e repetitividade contribuem com menos de 1,5% no valor da incerteza expandida. Desta forma, a elaboração e a estabilidade da curva de calibração são os pontos críticos de controle durante a execução da metodologia analítica quando se deseja reduzir os valores de U.

<sup>1</sup> Taverniers, I.; Bockstaele, E. V.; De Loose, M. TrAC. 2004, 23, 480.

<sup>2</sup> EURACHEM / CITAC Guide CG 4. Quantifying uncertainty in analytical measurement. 2<sup>a</sup> ed. Helsinki, 2000. 120p.