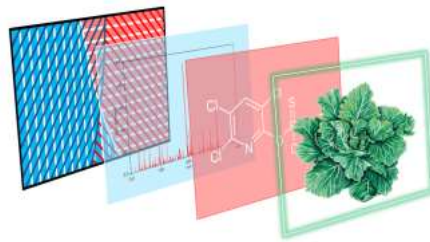


## Validação, Controlo da Qualidade e Incerteza de Exames (Análises Qualitativas) em Química



Análise Química Forense  
2023/24

Ricardo Bettencourt da Silva  
rjsilva@ciencias.ulisboa.pt

1

1

### Aula I: Índice

1. Terminologia
2. Relevância socioeconómica das medições e exames em química
3. Incerteza do resultado de um exame
  - 3.1. Teorema de Bayes
  - 3.2. Apresentação 'verbal' da incerteza
  - 3.3. Combinação da incerteza de evidências independentes
  - 3.4. Exemplo de aplicação – cenário de incêndio

2

2

## 1. Terminologia

### Análises Quantitativas – Medições (VIM [1]):

2.1 (2.1)

**medição**

*measurement*

*mesurage ; mesure*

*medición ; medida*

Processo de obtenção experimental dum ou mais valores que podem ser, razoavelmente, atribuídos a uma grandeza.

NOTA 1 A medição não se aplica a propriedades qualitativas.

### Análises Qualitativas – Exames (VIN [2]):

2.1 nominal property

property of a phenomenon, body, or substance, where the property has no size

EXAMPLE 1	Colour at a specified lighting of a given leaf of a plant.
EXAMPLE 2	Sequence variation of nucleotides of a given gene.
EXAMPLE 3	<i>Taxon</i> (2.4) of a bacterium in a given sample of urine.
EXAMPLE 4	Shape of the nucleus of a given white blood cell.

1. IPQ, INMETRO, *Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM)*, 1ª Edição, IPQ, 2012 (<http://www1.ipq.pt>).

2. G Nordin, R Dybkaer, U Forsum, X Fuentes-Arderiu, F Pontet, *Vocabulary on nominal property, examination, and related concepts for clinical laboratory sciences* (IFCC-IUPAC Recommendations 2017), *Pure Appl. Chem.* 90 (2018) 913–935 (DOI [10.1515/pac-2011-0613](https://doi.org/10.1515/pac-2011-0613)).

3

## 2. Relevância socioeconómica das medições e exames

- Estima-se que se investem 80 biliões de EUR (ou 1% do PIB) em medições e exames na Europa [3];

- 25 % da legislação da União Europeia indica a realização de medições e exames em química [4];

- Todas as medições são realizadas depois de um exame;

- As análises forenses, com grande impacto individual e colectivo, são na grande maioria exames (i.e. análises qualitativas);

(...)

3. G. Williams, *The Assessment of the Economic Role of Measurements and Testing in Modern Society*, Pembroke College, Oxford, 2002.

4. Estimado pelo Instituto de Medições de Materiais de Referência da Comissão Europeia.

4

## 2. Relevância socioeconómica das medições e exames

(...)

Os exames devem ter fiabilidade controlada para se distingir uma evidência forte de uma evidência fraca;



- A quantificação da fiabilidade do exame é conseguida através do cálculo da incerteza do exame (...)

5

## 3. Incerteza do resultado de um exame

- A quantificação da fiabilidade do exame é conseguida através do cálculo da incerteza do exame [2]:

### 3.9 examination uncertainty

fraction of *examined values* (3.5) that is different from a *reference nominal property value* (3.3) among all the examined values provided

EXAMPLE 1: The reference nominal property value is 'B'. The *nominal property value set* (3.2) of all possible nominal property values is {A, B}. For one of 10 *examinations* (2.6) the examined value differs from 'B'. The examination uncertainty is therefore 0.1 (10 %).

EXAMPLE 2: A patient suffers from a urinary tract infection. The *examination result* (3.4) from the *examination procedure* (2.12) is growth of bacteria of the species *E. coli* in a sample of urine with 20 % examination uncertainty. With knowledge and experience from the examination procedure it can be concluded that there is some probability that the true species of bacteria could be instead a *Salmonella* or *Shigella* species, while the probability that the reference nominal property value is some other species of bacteria is very low.

2. G Nordin, R Dybkaer, U Forsum, X Fuentes-Arderiu, F Pontet, **Vocabulary on nominal property, examination, and related concepts for clinical laboratory sciences** (IFCC-IUPAC Recommendations 2017), Pure Appl. Chem. 90 (2018) 913–935 (DOI [10.1515/pac-2011-0613](https://doi.org/10.1515/pac-2011-0613)).

6



### 3. Incerteza do resultado de um exame

(...)

- A forma mais trivial de determinar a incerteza de um exame é através do cálculo das taxas de falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN). Também se podem reportar as taxas de verdadeiros positivos (TP) e verdadeiros negativos (TN).

Tabela de contingência:

		Casos		Totais de resultados
		Positivos ( $pc$ )	Negativos ( $nc$ )	
Resultados	Positivos ( $p$ )	$tp$	$fp$	$p$
	Negativos ( $n$ )	$fn$	$tn$	$n$
Total de casos		$pc$	$nc$	

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

7

7



### 3. Incerteza do resultado de um exame

(...)

- A forma mais trivial de determinar a incerteza de um exame é através do cálculo das taxas de falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN). Também se podem reportar as taxas de verdadeiros positivos (TP) e verdadeiros negativos (TN).

Tabela de contingência:

		Casos		Totais de resultados
		Positivos ( $pc$ )	Negativos ( $nc$ )	
Resultados	Positivos ( $p$ )	$tp = 228$	$fp = 1$	$p = 229$
	Negativos ( $n$ )	$fn = 5$	$tn = 300$	$n = 305$
Total de casos		$pc = 233$	$nc = 301$	

Taxa de verdadeiros positivos =  $TP = ?$

Taxa de falsos positivos =  $FP = ?$

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

8

8

### 3. Incerteza do resultado de um exame

(...)

- A forma mais trivial da determinar a incerteza de um exame é através do cálculo das taxas de falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN). Também se podem reportar as taxas de verdadeiros positivos (TP) e verdadeiros negativos (TN).

Tabela de contingência:

		Casos		Totais de resultados
		Positivos ( $pc$ )	Negativos ( $nc$ )	
Resultados	Positivos ( $p$ )	$tp = 228$	$fp = 1$	$p = 229$
	Negativos ( $n$ )	$fn = 5$	$tn = 300$	$n = 305$
	Total de casos	$pc = 233$	$nc = 301$	

Taxa de verdadeiros positivos =  $TP = tp/pc = 228/233 = 97.8 \%$

Taxa de falsos positivos =  $FP = fp/nc = 1/301 = 0.33 \%$

[rjsilva@ciencias.ulisboa.pt](mailto:rjsilva@ciencias.ulisboa.pt) | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

9

9

### 3. Incerteza do resultado de um exame

(...)

- A forma mais trivial da determinar a incerteza de um exame é através do cálculo das taxas de falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN). Também se podem reportar as taxas de verdadeiros positivos (TP) e verdadeiros negativos (TN).

$$TP + ? = 1$$

$$? + FP = 1$$

[rjsilva@ciencias.ulisboa.pt](mailto:rjsilva@ciencias.ulisboa.pt) | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

10

10

### 3. Incerteza do resultado de um exame

(...)

- A forma mais trivial de determinar a incerteza de um exame é através do cálculo das taxas de falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN). Também se podem reportar as taxas de verdadeiros positivos (TP) e verdadeiros negativos (TN).

$$TP + FN = 1$$

$$TN + FP = 1$$

11

### 3. Incerteza do resultado de um exame

(...)

- Em análises forenses, por vezes, a incerteza é estimada através de outras métricas. As mais populares são as métricas indicadas pelo teorema de Bayes.



**Matemático amador britânico (1702-1761)**

12

### 3. Incerteza do resultado de um exame

(...)

- Em análises forenses, por vezes, a incerteza é estimada através de outras métricas. As mais populares são as métricas indicadas pelo teorema de Bayes.

- Vantagens das métricas do teorema de Bayes:

- 1) Combinam TP e FP numa única métrica que indica a qualidade do resultado do exame;
- 2) Permite estimar a incerteza do efeito combinado de evidências independentes:



13

### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes:

$$P(A|e) = \frac{P(A \cap e)}{P(e)} = \frac{P(A)P(e|A)}{P(e)}$$

$P(A|e)$ : Probabilidade condicional do evento  $A$  sabendo que ocorreu o evento  $e$  (habitualmente  $A$  é a hipótese indicada e  $e$  a evidência da hipótese);

$P(A \cap e)$ : Probabilidade da ocorrência simultânea de  $A$  e  $e$ ;

$P(A)$ : Probabilidade da ocorrência do evento  $A$ ;

$P(e)$ : Probabilidade da ocorrência do evento  $e$ ;

$P(e|A)$ : Probabilidade condicional do evento  $e$  sabendo que ocorreu o evento  $A$ .

14



### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes:

$$P(A|e) = \frac{P(A \cap e)}{P(e)}$$

Esta equação indica o que pode ser facilmente intuído:

$P(A|e)$  é a porção de casos em que quando ocorre a evidência  $e$  estamos de facto na presença da ocorrência  $A$ .

Apresenta-se de seguida um exemplo concreto (...)

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

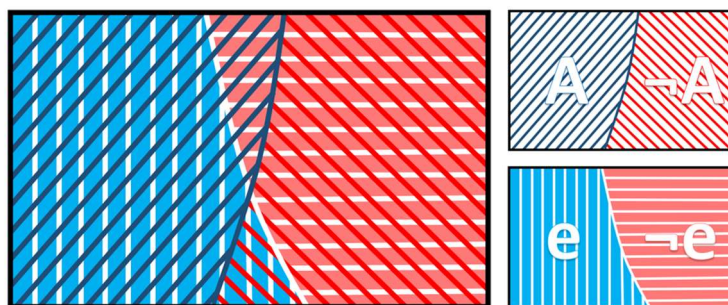
15

15



### 3. Incerteza do resultado de um exame


#### 3.1. Teorema de Bayes: Exemplo [5]



  $A \cap \neg e$

  $\neg A \cap \neg e$

  $A \cap e$

  $\neg A \cap e$

5. R. Bettencourt da Silva, Talanta 150 (2016) 553-567.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

16

16



### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes: Exemplo

Tipo de ocorrência	Número de ocorrências	Outras relações	Probabilidades	Valores de probabilidades
A	498	$A=(A \cap e)+(A \cap \neg e)=444+54$	$P(A)$	$0,512=498/972$
$\neg A$	474	$\neg A=(\neg A \cap e)+(\neg A \cap \neg e)=36+438$	$P(\neg A)$	$0,488=474/972$
$A+\neg A$	972		$P(A+\neg A)$	$1=0,512+0,488$
e	480	$e=(A \cap e)+(\neg A \cap e)=444+36$	$P(e)$	$0,494=480/972$
$\neg e$	492	$\neg e=(A \cap \neg e)+(\neg A \cap \neg e)=54+438$	$P(\neg e)$	$0,506=492/972$
$e+\neg e$	972		$P(e+\neg e)$	$1=0,494+0,506$
$A \cap e$	444		$P(A \cap e)$	$0,457=444/972$
$A \cap \neg e$	54		$P(A \cap \neg e)$	$0,0556=54/972$
$\neg A \cap e$	36		$P(\neg A \cap e)$	$0,0370=36/972$
$\neg A \cap \neg e$	438		$P(\neg A \cap \neg e)$	$0,451=438/972$

Legenda:

A: Presença de analito;

$\neg A$ : Ausência de analito;

e: Evidência observada;

$\neg e$ : Evidência não observada.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

17

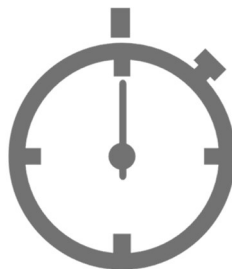
17

### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes:

$$P(A|e) = \frac{P(A \cap e)}{P(e)} = \frac{P(A)P(e|A)}{P(e)}$$

Considerando os dados da Tabela anterior estime,  $P(A|e)$ :



rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

18

18

### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes: Exemplo

$$P(A|e) = \frac{P(A \cap e)}{P(e)} = \frac{P(A)P(e|A)}{P(e)}$$

Tipo de ocorrência	Número de ocorrências	Outras relações	Probabilidades	Valores de probabilidades
A	498	$A=(A \cap e)+(A \cap \neg e)=444+54$	P(A)	0,512=498/972
¬A	474	$\neg A=(\neg A \cap e)+(\neg A \cap \neg e)=36+438$	P(¬A)	0,488=474/972
A+¬A	972		P(A+¬A)	1=0,512+0,488
e	480	$e=(A \cap e)+(\neg A \cap e)=444+36$	P(e)	0,494=480/972
¬e	492	$\neg e=(A \cap \neg e)+(\neg A \cap \neg e)=54+438$	P(¬e)	0,506=492/972
e+¬e	972		P(e+¬e)	1=0,494+0,506
A∩e	444		P(A∩e)	0,457=444/972
A∩¬e	54		P(A∩¬e)	0,0556=54/972
¬A∩e	36		P(¬A∩e)	0,0370=36/972
¬A∩¬e	438		P(¬A∩¬e)	0,451=438/972

Legenda:

A: Presença de analito;

¬A: Ausência de analito;

e: Evidência observada;

¬e: Evidência não observada.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

19

19

### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes:

$$P(A|e) = \frac{P(A \cap e)}{P(e)} = \frac{P(A)P(e|A)}{P(e)}$$

Considerando os dados da Tabela anterior estime,  $P(A|e)$ :

$$P(A|e) = \frac{0,457}{0,494} = \frac{0,512 \cdot (0,457/0,512)}{0,494} = 0,925 = 92,5\%$$

Em que foi considerada a relação:

$$P(e|A) = \frac{P(e \cap A)}{P(A)}$$

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

20

20



### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes:

$$P(A|e) = \frac{P(A \cap e)}{P(e)} = \frac{P(A)P(e|A)}{P(e)}$$

O teorema de Bayes pode ser apresentado como a atualização de  $P(A)$  (probabilidade *a priori*) com a probabilidade de se observar a evidência  $e$  pela presença de  $A$  ( $P(e|A)/P(e)$ ), obtendo-se a probabilidade *a posteriori*  $P(A|e)$ .

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

21

21



### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes:

- A incerteza do exame também pode ser apresentada na forma de distribuição,  $O$  ("Odds" no inglês). Esta métrica é muito usada nas apostas desportivas. A distribuição é a razão da probabilidade de ganhar ou perder uma aposta.

$$O(A) = \frac{P(A)}{P(\neg A)}$$

Uma distribuição,  $O(A)$ , pode-se converter numa probabilidade,  $P(A)$ , através da formula seguinte:

$$P(A) = \frac{O(A)}{O(A) + 1}$$

Aplicar ao exemplo anterior (...)



rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

22

22



### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes:

- Também se definem distribuições condicionais:

$$O(A|e) = \frac{P(A|e)}{1 - P(A|e)}$$

---


$$O(A|e) = \frac{P(A|e)}{P(\neg A|e)} = \frac{P(A)P(e|A)}{P(\neg A)P(e|\neg A)} = O(A) \frac{P(e|A)}{P(e|\neg A)} = O(A)O(e|A) = O(A) \frac{TP}{FP} = O(A)LR$$

***O(A)***: Distribuição *a priori*;

***LR***: Razão de verosimilhança (representa: perante um resultado positivo quantas vezes é mais provável que este seja verdadeiro em vez de falso).

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

23

23



### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.1. Teorema de Bayes:

- Também se definem distribuições condicionais:

$$O(A|e) = \frac{P(A)P(e|A)}{P(\neg A)P(e|\neg A)} = O(A)O(e|A) = O(A)LR$$

***LR***: Razão de verosimilhança ('Likelihood ratio');

Tendo em conta que a razão de verosimilhança não depende de informação independente do caso específico estudado, é muito usada em decisões forenses.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

24

24



### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.2. Apresentação 'verbal' da incerteza:

Interpretação da razão de verosimilhança proposta para análises forenses pela "Association of Forensic Science Providers" do Reino Unido [6].

Valor da Razão de Verosimilhança	Equivalente Verbal
>1–10	Fraco apoio da hipótese
10–100	Moderado
100–1000	Moderadamente forte
1000–10,000	Forte
10,000–1,000,000	Muito forte
>1,000,000	Extremamente forte

6. Association of Forensic Science Providers, Science and Justice 49 (2009) 161–164.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

25

25



### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.3. Combinação da incerteza de evidências independentes

- Uma das características mais útil das distribuições é a forma como se combinam evidências independentes da mesma hipótese:

$$O(A|e_1, e_2, \dots, e_n) = O(A) \prod_{i=1}^n LR_i$$

em que  $e_i$  representa a evidência independente  $i$  e  $LR_i$  a razão de verosimilhança associada a  $e_i$  ( $i=1$  a  $n$ ).

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

26

26



### 3. Incerteza do resultado de um exame

#### 3.4. Exemplo de aplicação:

Uma equipa de peritos investigou a utilização de gasolina para deflagração de um incêndio usando duas técnicas distintas:

- Olfato a gasolina detetado por um perito (Técnica 1);
- Determinação de resíduos de incêndio por GC-MS e tratamento de dados por análise multivariada (Técnica 2).

Sabendo que se confirmou a origem criminosa em 15 das 73 investigações realizadas no passado recente e destas 25 % envolveram a deflagração do incêndio com gasolina estime a incerteza do resultado positivo indicado pela convergência das técnicas 1 e 2.

Desempenho das técnicas:

	TP	FP
Técnica 1	50 %	1 %
Técnica 2	99,9 %	0,001 %

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

27

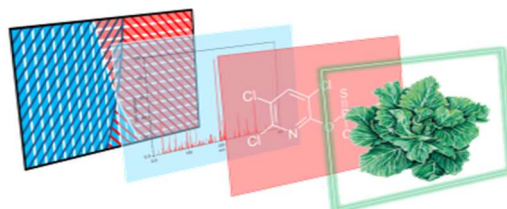
27



#### Bibliografia recomendada

- R. Bettencourt da Silva, S. L. R. Ellison (eds.), Eurachem/CITAC Guide: Assessment of performance and uncertainty in qualitative chemical analysis. First Edition, Eurachem (2021). ISBN 978-0-948926-39-6. (Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)).

- A joint Eurachem/CITAC Online Workshop, Assessment of Performance and Uncertainty in Qualitative Chemical Analysis, 01/2022: <https://www.eurachem.org/index.php/events/completed/394-wks-aqa2022>



rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

28

28



## Aula II: Índice

1. Introdução
2. Conceitos estatísticos básicos
3. Critérios de concordância de tempos de retenção
  - 3.1. Validação
  - 3.2. Controlo da qualidade
  - 3.3. Exemplo
4. Critérios de concordância de razões de abundância de iões do espectro de massa
  - 4.1. Validação
  - 4.2. Controlo da qualidade
  - 4.3. Exemplo
5. Identificação de compostos por GC e LC
6. Incerteza de exames por GC-MS e LC-MS

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

29

29



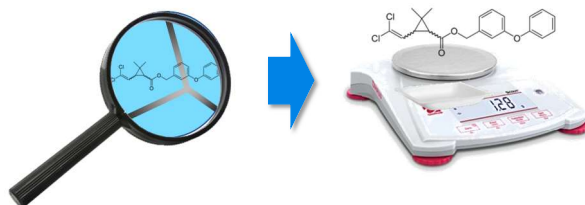
## 1. Introdução

**A relevância da validação e controlo da qualidade de avaliações qualitativas:**

**Muitos ensaios químicos relevantes são qualitativos:**

(e.g. identificação de acelerantes em resíduos de incêndios, da estripe de uma bactéria, da origem do derrame criminal de hidrocarbonetos, de defeitos em matérias primas da industria, etc.).

**As quantificação seletivas de analito envolvem uma identificação prévia do mesmo.**



**Desta forma, todos os ensaios químicos dependem da fiabilidade da etapa qualitativa do ensaio.**

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

30

30



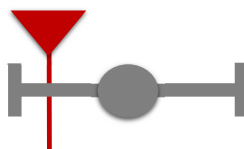
## 2. Conceitos estatísticos básicos

### 2.1. Distribuição normal:

Muitas vezes, os sinais instrumentais e os resultados de medições em química têm uma distribuição normal.

(...) ou seja, sabendo a média,  $\bar{x}$ , e o desvio padrão,  $s_x$ , de um número  $n$  de determinações, é possível definir um intervalo de confiança ( $\bar{x} \pm t s_x$ ) que deverá incluir a determinação seguinte ( $n+1$ ) (em que  $t$  é a t-Student para  $(n-1)$  graus de liberdade e o nível de confiança desejado (e.g. 95 % ou 99 %)).

Caso as determinações correspondam à medição de uma grandeza, e estas não sejam afectadas por efeitos sistemáticos significativos, o intervalo de confiança anterior dá indicações sobre o valor verdadeiro da grandeza medida.



rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

31

31



## 2. Conceitos estatísticos básicos

### 2.1. Distribuição normal:

Graus de liberdade	Valores de t para diversos níveis de confiança			
	90 %	95 %	98 %	99 %
1	6,31	12,71	31,82	63,66
2	2,92	4,30	6,96	9,92
3	2,35	3,18	4,54	5,84
4	2,13	2,78	3,75	4,60
5	2,02	2,57	3,36	4,03
6	1,94	2,45	3,14	3,71
7	1,89	2,36	3,00	3,50
8	1,86	2,31	2,90	3,36
9	1,83	2,26	2,82	3,25
10	1,81	2,23	2,76	3,17
12	1,78	2,18	2,68	3,05
14	1,76	2,14	2,62	2,98
16	1,75	2,12	2,58	2,92
18	1,73	2,10	2,55	2,88
20	1,72	2,09	2,53	2,85
30	1,70	2,04	2,46	2,75
50	1,68	2,01	2,40	2,68
$\infty$	1,64	1,96	2,33	2,58

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

32

32



## 2. Conceitos estatísticos básicos

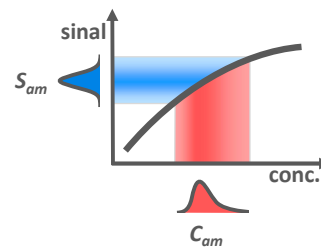
### 2.2. Distribuições não normais:

Para a maioria dos processos de medição em controlo estatístico pode assumir-se que os dados têm uma distribuição aproximadamente Normal.

No entanto, existem variáveis de interesse analítico com uma distribuição claramente “não-normal”.

#### Exemplo 1:

Se um método instrumental de análise for calibrado considerando uma regressão quadrática do “sinal” vs. “concentração”, a distribuição Normal do sinal da amostra,  $S_{am}$ , projeta-se numa estimativa da concentração da amostra,  $C_{am}$ , com distribuição não-normal.



33

## 2. Conceitos estatísticos básicos

### 2.2. Distribuições não normais:

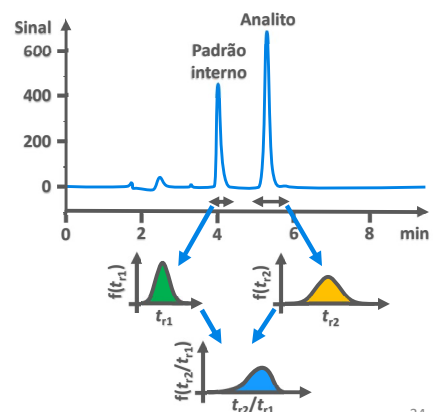
Para a maioria dos processos de medição em controlo estatístico pode assumir-se que os dados têm uma distribuição aproximadamente Normal.

No entanto, existem variáveis de interesse analítico com uma distribuição claramente “não-normal”.

#### (...) Exemplo 2:

Num sistema cromatográfico não afetado por tendências no processo de eluição (e.g. aumento do tempo de retenção entre eluições sucessivas), o tempo de retenção tem uma Distribuição Normal.

No entanto, o tempo de retenção relativo, referenciado à retenção de um padrão interno, não tem uma distribuição normal (...)



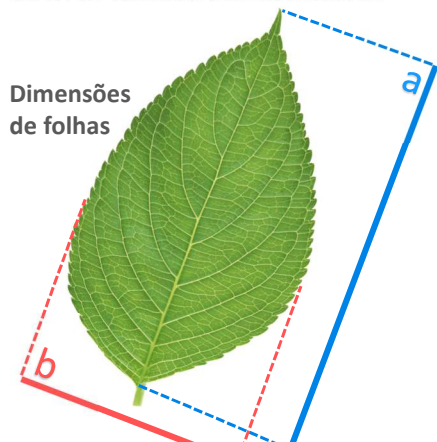
34

2. Conceitos estatísticos básicos

2.2. Distribuições não normais:

(...)

A distribuição não-normal da razão de tempos de retenção é uma propriedade conhecida da razão de duas variáveis Normais correlacionadas.

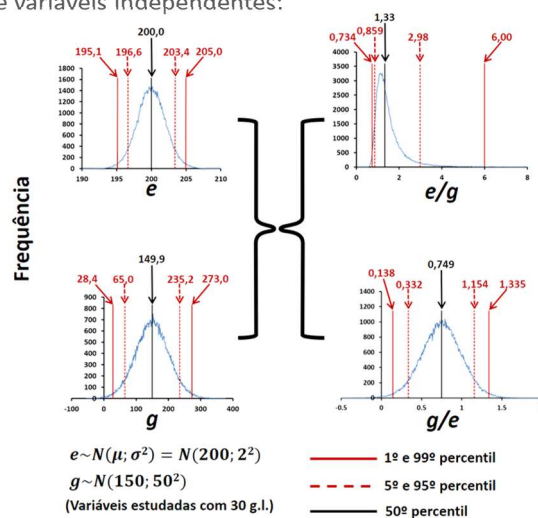


rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt

2. Conceitos estatísticos básicos

2.2. Distribuições não normais:

2.2.1. Distribuição da razão de variáveis independentes:



rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt

## 2. Conceitos estatísticos básicos

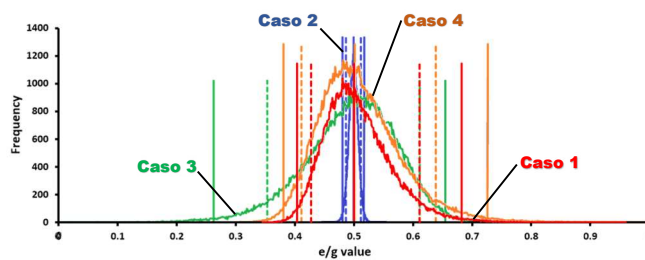
### 2.2. Distribuições não normais:

#### 2.2.2. Distribuição da razão de variáveis correlacionadas:

Caso	e			g			e vs. g		e/g	
	$\bar{e}$	$s_e$	$v_e$	$\bar{g}$	$s_g$	$v_g$	$\rho$	$P_1$	$P_{50}$	$P_{99}$
1	400	10	30	800	100	30	0,9	0,404	0,500	0,680
2	400	10	30	800	10	30	0,9	0,482	0,500	0,518
3	400	100	30	800	100	30	0,9	0,260	0,500	0,653
4	400	10	30	800	100	30	0	0,379	0,500	0,727



$\bar{x}$  : média;  
 $s$  : desvio padrão;  
 $v$  : graus de liberdade;  
 $\rho$  – coeficiente de correlação de postos de Spearman;  
 $P_i$  : i-ésimo percentil.



rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

37

37

## 2. Conceitos estatísticos básicos

### 2.3. Condições de precisão dos ensaios:

#### 2.20 condição de repetibilidade de medição

Condição de **medição** num conjunto de condições, as quais incluem o mesmo **procedimento de medição**, os mesmos operadores, o mesmo **sistema de medição**, as mesmas condições de operação e o mesmo local, assim como medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares durante um curto período de tempo.

#### 2.22 condição de precisão intermediária

Condição de **medição** num conjunto de condições, as quais compreendem o mesmo **procedimento de medição**, o mesmo local e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares, ao longo dum período extenso de tempo, mas pode incluir outras condições que envolvam mudanças.

1. Vocabulário Internacional de Metrologia - Conceitos fundamentais e gerais e termos associados, 1ª edição luso-brasileira, IPQ, INMETRO, 2012.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

38

38



### 3. Definição de critérios de tempos de retenção

#### 3.1. Tempo de retenção obtido em condições de repetibilidade

##### 3.1.1. Validação

3.1.1.a. Recolha de réplicas de tempos de retenção únicos obtidos em condições de repetibilidade.

3.1.1.b. Estimativa do desvio padrão da repetibilidade dos tempos de retenção ( $s_{tr(r)}$ ).

Podem-se combinar dados de diversos dias ( $i$ ) na mesma estimativa da repetibilidade dos tempos de retenção:

$$s_{tr(r)} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^p (n_i - 1) s_{tr(i)}^2}{\sum_{i=1}^p (n_i - 1)}}$$

(...)

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

39

39



### 3. Definição de critérios de tempos de retenção

#### 3.1. Tempo de retenção obtido em condições de repetibilidade

##### 3.1.1. Validação

(...) 3.1.1.c. Avaliar se a repetibilidade dos tempos de retenção é adequada ao objetivo:

Critério 1:  $\left(\frac{s_{tr(r)}}{\bar{t}_r}\right) \leq 5\%$  (pode usar-se outro valor máximo);

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

40

40



### 3. Definição de critérios de tempos de retenção

#### 3.1. Tempo de retenção obtido em condições de repetibilidade

##### 3.1.1. Validação

(...) 3.1.1.c. Avaliar se a repetibilidade dos tempos de retenção é adequada ao objetivo:

Critério 1:  $\left(\frac{s_{tr(r)}}{\bar{t}_r}\right) \leq 5\%$  (pode usar-se outro valor máximo);

Critério 2: Não sobreposição de tempos de retenção de picos vizinhos ( $\alpha$  e  $\beta$ ):

$$|\bar{t}_{r\alpha} - \bar{t}_{r\beta}| > t \sqrt{(s_{tr\alpha(r)})^2 + (s_{tr\beta(r)})^2} \text{ em que } t=3 \text{ ou } (\dots)$$

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

41

41



### 3. Definição de critérios de tempos de retenção

#### 3.1. Tempo de retenção obtido em condições de repetibilidade

##### 3.1.1. Validação

(...) 3.1.1.c. Avaliar se a repetibilidade dos tempos de retenção é adequada ao objetivo:

Critério 1:  $\left(\frac{s_{tr(r)}}{\bar{t}_r}\right) \leq 5\%$  (pode usar-se outro valor máximo);

Critério 2: Não sobreposição de tempos de retenção de picos vizinhos ( $\alpha$  e  $\beta$ ):

$$|\bar{t}_{r\alpha} - \bar{t}_{r\beta}| > t \sqrt{(s_{tr\alpha(r)})^2 + (s_{tr\beta(r)})^2} \text{ em que } t=3 \text{ ou } (\dots)$$

t-Student para um nível de confiança de 99 % e v graus de liberdade (número inteiro mais próximo):

$$v = \frac{\left(\frac{s_{tr\alpha}^2}{n_\alpha} + \frac{s_{tr\beta}^2}{n_\beta}\right)^2}{\frac{\left(\frac{s_{tr\alpha}^2}{n_\alpha}\right)^2}{n_\alpha - 1} + \frac{\left(\frac{s_{tr\beta}^2}{n_\beta}\right)^2}{n_\beta - 1}}$$

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

42

42

### 3. Definição de critérios de tempos de retenção

#### 3.1. Tempo de retenção obtido em condições de repetibilidade

##### 3.1.2. Controlo da qualidade

##### 3.1.2.a. Critério de aceitação do tempo de retenção do dia ( $t_{r(dia)}$ ):

$$|t_{r(padr\tilde{a}o-dia)} - t_{r(dia)}| \leq t \cdot \sqrt{2} \cdot s_{tr(r)}$$

Condições de Aplicabilidade:

(C1) As áreas dos picos comparados não pode diferir mais do que 10 vezes porque o tempo de retenção varia com a dimensão do pico.

Aplicabilidade:

Este critério serve para avaliar sinais de padrões e amostras considerando o historial reunido.

Este critério permite um controlo fino dos tempos de retenção. O critério pode ser convertido num valor absoluto ou relativo arredondado superior.

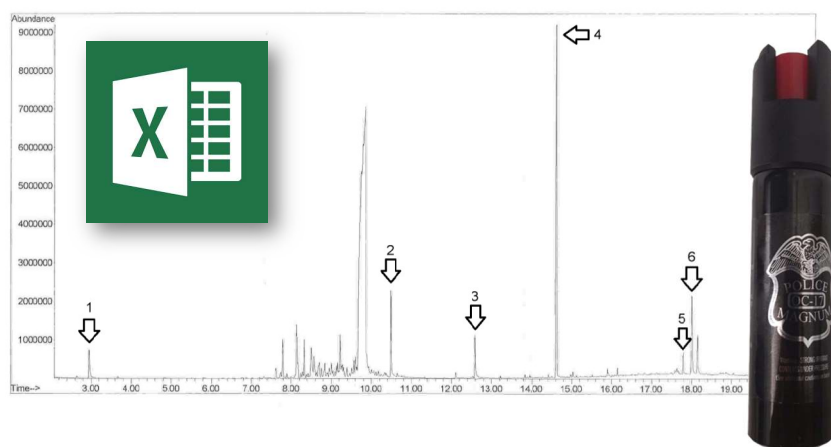
(exemplo: se  $(t \cdot \sqrt{2} \cdot s_{tr(r)}) = 0,0193 \text{ min}$  pode usar-se o valor  $0,02 \text{ min}$ )

43

### 3. Definição de critérios de tempos de retenção

#### 3.1. Tempo de retenção obtido em condições de repetibilidade

##### 3.1.3. Exemplo 1: Identificação de capsaicina em armas de defesa pessoal



44

### 4. Definição de critérios sinais de MS

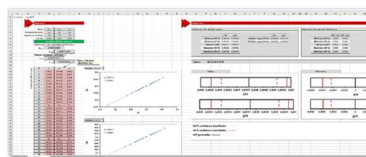
#### 4.1. Razão de abundâncias de iões obtidos em precisão intermédia

##### 4.1.1. Validação

##### 4.1.1.a. Seleção de iões seletivos do espectro de massa (...)

4.1.1.b. Recolha de réplicas de abundâncias de iões obtidos em diferentes dias. Devem reunir-se pelo menos 15 tripletes. Se necessário, recolher dados a diversos níveis de analito.

4.1.1.c. Reunir os valores na folha de cálculo “COVARAS.xlsx” que estima a média, dispersão, graus de liberdade e correlação das abundâncias A. Este dados são posteriormente usados para se estimar a variabilidade da razão de abundâncias (RA) para níveis de confiança de 95 % e 99 %.



2. R. Bettencourt da Silva, Talanta 150 (2016) 553-567.

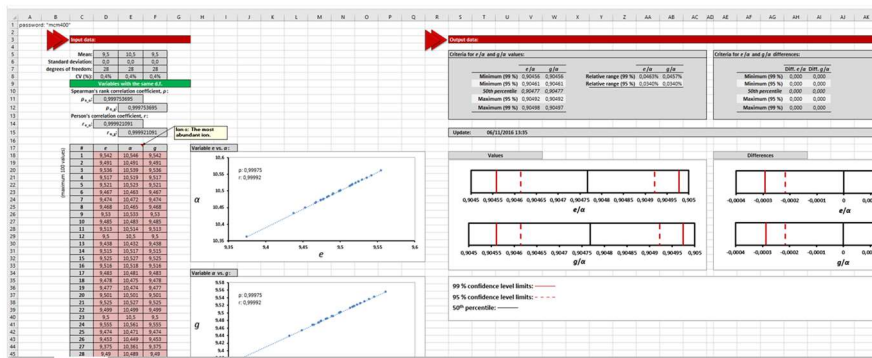
rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt

### 4. Definição de critérios sinais de MS

#### 4.1. Razão de abundâncias de iões obtidos em precisão intermédia

(...)

4.1.1.c. Reunir os valores na folha de cálculo “COVARAS.xlsx” que estima a média, dispersão, graus de liberdade e correlação das abundâncias A. Este dados são posteriormente usados para se estimar a variabilidade da razão de abundâncias (RA) para níveis de confiança de 95 % e 99 %.



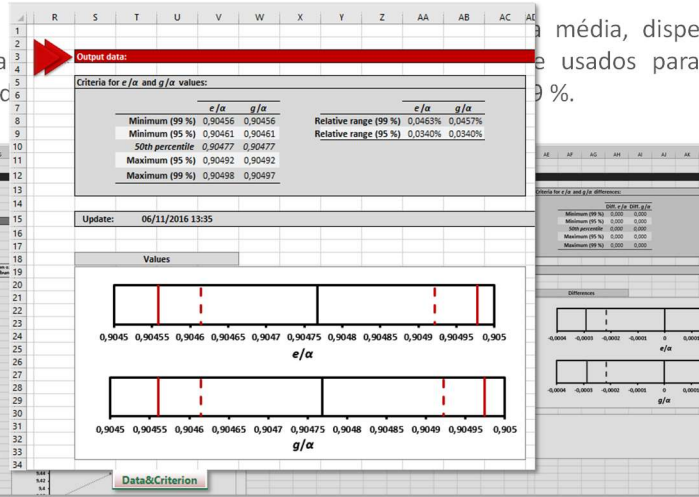
rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt

### 4. Definição de critérios sinais de MS

#### 4.1. Razão de abundâncias de iões obtidos em precisão intermédia

(...)

4.1.1.c. Reunir os valores na liberdade e correlação das a variabilidade da razão de abun



média, dispersão, graus de liberdade e correlação das a e usados para se estimar a %.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt

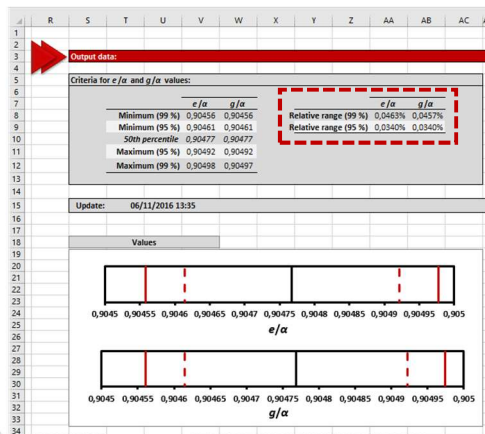
### 4. Definição de critérios sinais de MS

#### 4.1. Razão de abundâncias de iões obtidos em precisão intermédia

4.1.1. Validação

(...) 4.1.1.c. Avaliar se a precisão intermédia das RA é adequada ao objetivo:

Critério 1: Amplitude relativa do intervalo de confiança menor que 20-40 %.



rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt





#### 4. Definição de critérios sinais de MS

##### 4.1. Razão de abundâncias de iões obtidos em precisão intermédia

##### 4.1.2. Controlo da qualidade

##### 4.1.2.a. Critério de aceitação da RA do dia ( $RA_{(dia)}$ ):

$$P_{0,5} \leq RA_{(dia)} \leq P_{99,5}$$

$P_i$  = i-ésimo percentil.

Condições de Aplicabilidade:

(C1) As áreas dos picos comparados não podem diferir mais do que 10 vezes porque a variabilidade da RA varia com o teor de analito;

Aplicabilidade:

Este critério serve para avaliar sinais de padrões e amostras considerando o historial reunido.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

49

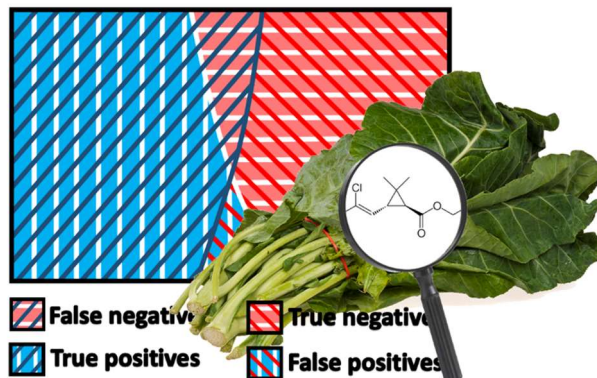
49



#### 4. Definição de critérios sinais de MS

##### 4.1. Razão de abundâncias de iões obtidos em precisão intermédia

##### 4.1.3. Exemplo 2: Identificação de clorpirifos-metilo em produtos de origem vegetal



rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

50

50



## 5. Identificação de compostos por GC e LC

**Identificação de compostos por cromatografia acoplada com detetor pouco seletivo (e.g. GC-FID, GC-ECD, HPLC-UV):**

- Avaliação da retenção do analito em dois sistemas cromatográficos distintos (colunas com diferentes polaridades ou perfis de eluentes diferentes);

**Identificação de compostos por cromatografia acoplada com detetor de massa (e.g. GC-MS e LC-MS):**

- Identificação de compostos baseada no tempo de retenção absoluto ou relativo do analito e na razão da abundância de dois pares de três fragmentos característicos.



## 6. Incerteza de exames por GC-MS e LC-MS

$$LR = LR(TR) \cdot LR(RA1) \cdot LR(RA2)$$

**$LR(TR)$ :** Razão da verosimilhança associada à identificação pelo TR;

**$LR(RA1)$  e  $LR(RA2)$ :** Razão da verosimilhança associada à identificação pela razão de abundâncias de íões 1 e 2.

$$LR(i) = TP(i) / FP(i)$$

**$TP(i)$ :** Nível de confiança associado ao critério de aceitação;

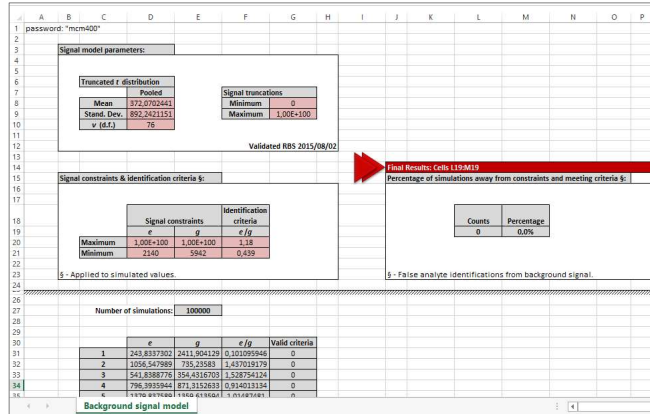
**$FP(TR)$ :** função da complexidade de matriz (e.g. 10 % na identificação de pesticidas em extratos de alimentos de origem vegetal);

**$FP(AR)$ :** Estimada por simulação de modelos do ruído do sinal. Percentagem de casos em que o ruído produz sinais que indicam a presença do analito.

### 6. Incerteza de exames por GC-MS e LC-MS

(...)

**FP(AR):** Estimada por simulação de modelos do ruído do sinal. Percentagem de casos em que o ruído produz sinais que indicam a presença do analito.



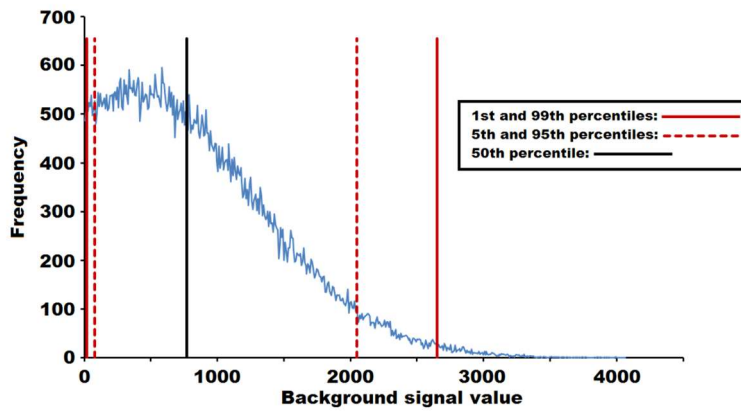
2. R. Bettencourt da Silva, Talanta 150 (2016) 553-567.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt

### 6. Incerteza de exames por GC-MS e LC-MS

(...)

**FP(AR):** Estimada por simulação de modelos do ruído do sinal. Percentagem de casos em que o ruído produz sinais que indicam a presença do analito.



2. R. Bettencourt da Silva, Talanta 150 (2016) 553-567.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt

## 6. Incerteza de exames por GC-MS e LC-MS

(...)

Identificação de resíduos de pesticidas em extratos de alimentos de origem vegetal com alto teor em água [2]:

Tabela 9: Razão de verosimilhança da identificação de analitos próximo dos limites de determinação (LOQ, 2LOQ, LOD and 2LOD).

Analito	Clorpirifos metilo		Malatião	
	Razão de verosimilhança		Razão de verosimilhança	
Parâmetros usados no exame	Razão e/ $\alpha$ (208/271) m/z	Razão g/ $\alpha$ (241/271) m/z	Razão e/ $\alpha$ (99/127) m/z	Razão g/ $\alpha$ (117/127) m/z
LOQ	98,000	98,000	98,000	98,000
2LOQ	98,000	98,000	98,000	98,000
LOD	3.24	3.07	3.29	3.87
2LOD	490	490	98,000	98,000

Nota: A TP é 98 %.

2. R. Bettencourt da Silva, Talanta 150 (2016) 553-567.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

55

55

## 6. Incerteza de exames por GC-MS e LC-MS

Interpretação da razão de verosimilhança proposta para análises forenses pela “Association of Forensic Science Providers” do Reino Unido [3].

Valor da Razão de Verosimilhança	Equivalente Verbal
>1–10	Fraco apoio da hipótese
10–100	Moderado
100–1000	Moderadamente forte
1000–10,000	Forte
10,000–1,000,000	Muito forte
>1,000,000	Extremamente forte

3. Association of Forensic Science Providers, Science and Justice 49 (2009) 161–164.

rjsilva@ciencias.ulisboa.pt | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

56

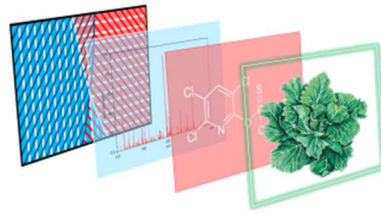
56



### Bibliografia recomendada

- R. Bettencourt da Silva, S. L. R. Ellison (eds.), Eurachem/CITAC Guide: Assessment of performance and uncertainty in qualitative chemical analysis. First Edition, Eurachem (2021). ISBN 978-0-948926-39-6. (Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)).

- A joint Eurachem/CITAC Online Workshop, Assessment of Performance and Uncertainty in Qualitative Chemical Analysis, 01/2022:  
<https://www.eurachem.org/index.php/events/completed/394-wks-aqa2022>



[rjsilva@ciencias.ulisboa.pt](mailto:rjsilva@ciencias.ulisboa.pt) | <https://mechem.rd.ciencias.ulisboa.pt>

57