



**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**  
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**“Validação do Método cromatográfico para  
determinação da Riboflavina”**

**Engenharia Biológica e Alimentar**  
**Relatório do Trabalho de Fim de Curso**

**Susana Isabel Pires Dias**

—◆—  
**CASTELO BRANCO**

**2008**

## Índice geral

<b>Nota prévia</b>	<b>I</b>
<b>Resumo</b>	<b>III</b>
<b>Abstract</b>	<b>IV</b>
<b>Índice geral</b>	<b>V</b>
<b>Índice de tabelas</b>	<b>VIII</b>
<b>Índice de figuras</b>	<b>IX</b>
<b>Índice de equações</b>	<b>X</b>
<b>Lista de abreviaturas</b>	<b>XI</b>
<b>I. Introdução</b>	<b>1</b>
<b>II. Revisão bibliográfica</b>	<b>2</b>
1- Validação	2
2- Materiais de Referência	3
3- Riboflavina	4
3.1- Classificação	4
3.2- Fontes alimentares	6
3.3- Funções	8
3.4- Absorção, transporte e excreção	9
<b>III. Parte Experimental</b>	<b>10</b>
1- Material e métodos	10
1.1- Material	10
1.2- Método	11
1.3- Procedimento	14
2- Validação do método analítico	15
2.1- Especificidade	15
2.2- Curva de calibração analítica	16
2.2.1- Coeficiente de Correlação	17
2.2.2- Linearidade	18
2.2.3- Gama de trabalho	19
2.2.4- Limiares analíticos	21
2.3- Precisão	23

2.3.1- Repetibilidade	23
2.3.2- Precisão intermédia	24
2.4- Exactidão	26
3- Estudos realizados no âmbito da produção de materiais de referência	26
3.1- Estudo da toma mínima	26
3.2- Estudo de homogeneidade	27
3.3- Estudo de estabilidade a curto prazo	30
3.4- Tratamento estatístico	31
<b>IV. Apresentação e discussão dos resultados</b>	<b>32</b>
1- Validação do método analítico	32
1.1- Especificidade	32
1.2- Curva de calibração analítica	35
1.2.1- Coeficiente de correlação	36
1.2.2- Linearidade	36
1.2.3- Gama de trabalho	37
1.2.4- Limiares analíticos	38
1.3- Precisão	39
1.3.1- Repetibilidade	39
1.3.2- Precisão intermédia	40
1.4- Exactidão	40
2- Estudos realizados no âmbito da produção de materiais de referência	41
2.1- Ensaio da toma mínima	41
2.2- Ensaio da homogeneidade	42
2.3- Ensaio da estabilidade a curto prazo	45
<b>V. Considerações finais</b>	<b>48</b>
<b>Referencias Bibliográficas</b>	
<b>Agradecimentos</b>	
<b>Anexos</b>	

## Resumo

Para garantir que o método analítico gere informações confiáveis, exactas e interpretáveis sobre a amostra, deve sofrer uma avaliação denominada validação.

O objectivo fundamental deste trabalho foi expor os principais conceitos e parâmetros de validação na análise da riboflavina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).

Os materiais de referência têm uma grande importância na garantia da qualidade dos resultados das medições. No âmbito da produção de materiais de referência a aplicação do tratamento estatístico permite concluir a toma utilizada é representativa da amostra e que a amostra é homogénea e estável a curto prazo.

O método utilizado para a determinação de riboflavina é adequado à produção de um material de referência a partir da matriz estudada.

Palavras-chave: Validação; Riboflavina; Materiais de referência.