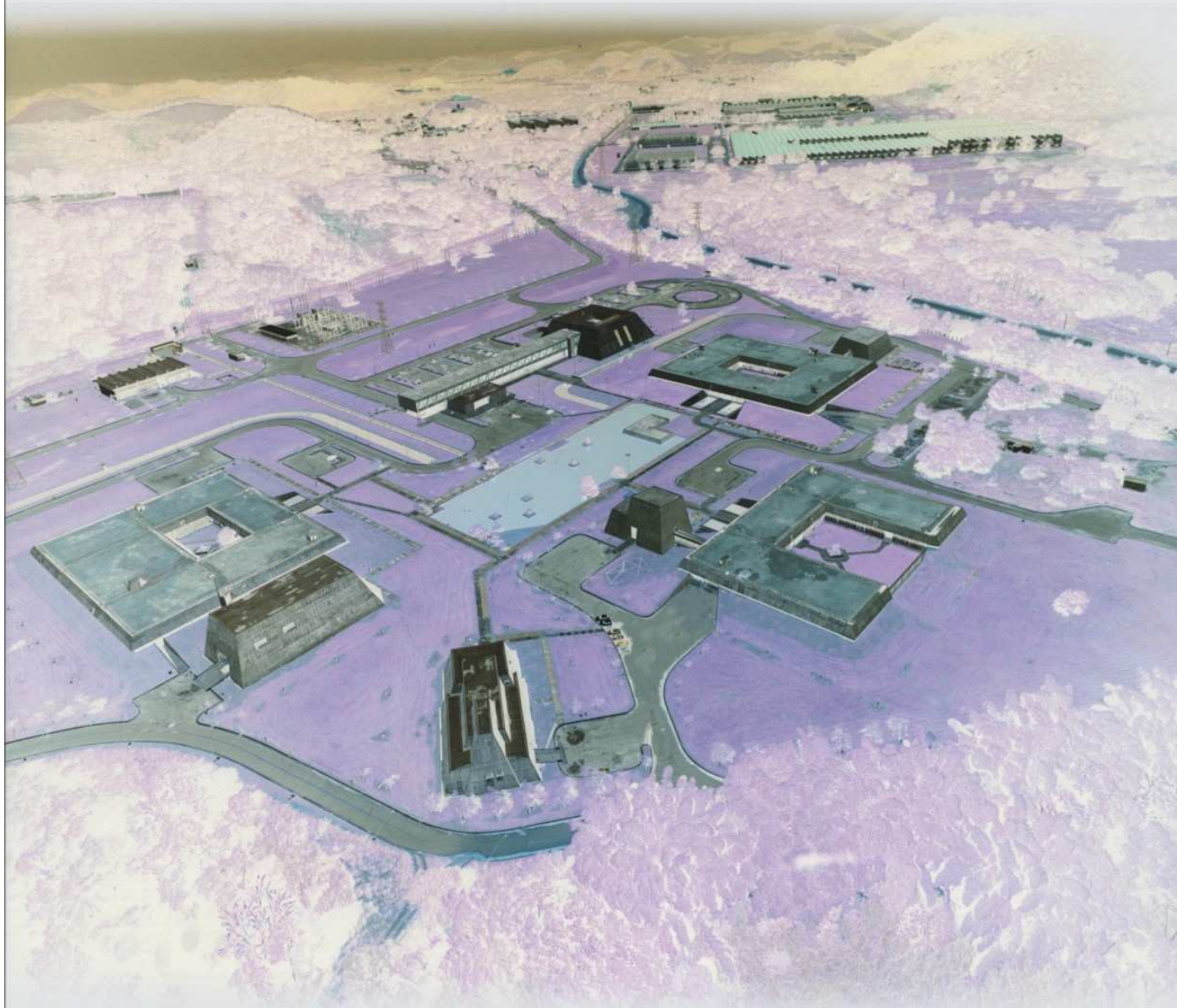


Relatório Final do Ensaio de Proficiência em Sucos – 1ª Rodada – Ácido Benzóico em Suco de Laranja



Inmetro
Diretoria de Metrologia Científica e Industrial

PEP-Dimci

Programa de ensaios de proficiência em metrologia científica e industrial

ENSAIO DE PROFICIÊNCIA EM SUCOS
1ª RODADA – ÁCIDO BENZÓICO EM SUCO DE LARANJA

RELATÓRIO FINAL – Nº 005/12

ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO



Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Inmetro
Diretoria de Metrologia Científica e Industrial – Dimci
Endereço: Av. Nossa Senhora das Graças, 50 – Xerém – Duque de Caxias
RJ – Brasil – CEP: 25250-020
E-mail para contato: pep-dimci@inmetro.gov.br

SUBCONTRATADO

Health Science Authority (HSA), Singapura
Internet: www.hsa.gov.sg

COMITÊ DE ORGANIZAÇÃO

Adelcio Rena Lemos (Inmetro/Dimci/Dicep)
Damares da Silva Santos (Inmetro/Dimci/Dicep)
Paulo Roberto da Fonseca Santos (Inmetro/Dimci/Dicep)
Valnei Smarçaro da Cunha (Inmetro/Dimci/Dquim)

COMITÊ TÉCNICO

Eliane Cristina Pires do Rego (Inmetro/Dquim/Labor)
Fernanda Figueiredo Nunes (Inmetro/Dquim/Labor)
Fernando Gustavo M. Violante (Inmetro/Dquim/Labor)
Gabriel Fonseca Sarmanho (Inmetro/Dimci/Dquim)
Janaína Marques Rodrigues (Inmetro/Dimci/Dquim)
Joyce Costa Andrade (Inmetro/Dimci/Dicep)
Michelle Reis da Silva (Inmetro/Dquim/Labor)
Raquel Duarte da Costa C. Bandeira (Inmetro/Dquim/Labor)
Werickson F. de Carvalho Rocha (Inmetro/Dimci/Dquim)

ÍNDICE

1. Introdução.....	2
2. Objetivos.....	3
3. Preparo e Envio dos Itens de Ensaio	3
3.1. Preparo dos Itens de Ensaio	3
3.2. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio	3
3.3. Envio dos Itens de Ensaio	4
3.4. Instruções de Uso do Material para o Ensaio de Proficiência	4
4. Procedimentos e Métodos Estatísticos	4
4.1. Reporte dos Resultados e Número de Replicatas	4
4.2. Avaliação da Homogeneidade e da Estabilidade dos Itens de Ensaio	5
4.3. Estabelecimento do Valor Designado.....	5
4.4. Limite para a Incerteza do Valor Designado	5
4.5. Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência	6
4.6. Índice z	6
4.7. Repetitividade	7
5. Resultados das Avaliações da Homogeneidade e da Estabilidade	7
5.1. Avaliação da Homogeneidade.....	8
5.2. Avaliação da Estabilidade.....	8
5.3. Avaliação da Estabilidade Conforme a ISO 13528:2005.....	8
6. Atribuição do Valor Designado e do Desvio Padrão do EP	9
7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes.....	9
7.1. Resultados dos Laboratórios Participantes.....	9
7.2. Avaliação do Índice z'	11
7.3. Repetitividade dos Resultados dos Laboratórios	12
7.4. Observações Relativas aos Métodos	14
8. Conclusões	16
9. Laboratórios Participantes	17
10. Referências Bibliográficas.....	19

1. Introdução

Ensaio de proficiência (EP) é o uso de comparações interlaboratoriais com o objetivo de avaliar a habilidade de um laboratório em realizar um determinado ensaio ou medição de modo competente e demonstrar a confiabilidade dos resultados gerados. Em um contexto geral, o ensaio de proficiência propicia aos laboratórios participantes: avaliação do desempenho e monitoração contínua; evidência de obtenção de resultados confiáveis; identificação de problemas relacionados com a sistemática de ensaios; possibilidade de tomada de ações corretivas e/ou preventivas; avaliação da eficiência de controles internos; determinação das características de desempenho e validação de métodos e tecnologias; padronização das atividades frente ao mercado e reconhecimento de resultados de ensaios, em nível nacional e internacional.

Com a crescente demanda por provas regulares e independentes de competência pelos organismos reguladores e clientes, o ensaio de proficiência é relevante para todos os laboratórios que testam a qualidade de produtos. Embora o número de provedores de ensaios de proficiência na área de alimentos seja grande, principalmente de provedores internacionais, os custos cobrados para a participação nestes ensaios são, normalmente, muito elevados, o que inviabiliza, em muitos casos, a participação de um laboratório em um número maior de ensaios.

O ácido benzóico é um dos conservantes mais utilizados e permitidos pela legislação brasileira para bebidas, incluindo os sucos de frutas. Os conservantes são substâncias que atuam através da inibição do crescimento de microrganismos, aumentando o tempo no qual o alimento mantém as suas características iniciais. O ácido benzóico e seus sais tem concentração máxima permitida de $0,05 \text{ g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$. Para a utilização segura de aditivos alimentares, o Brasil, como muitos países, segue a recomendação do “Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives” (JECFA).

Em função do clima, das condições hidrográficas e de solos privilegiados, o Brasil é o maior produtor de laranja do mundo. Com cerca de um terço da produção mundial, o país também é o maior exportador de suco de laranja concentrado congelado do mundo. Cerca de 80% do suco exportado no mundo sai do Brasil. Dada a importância econômica deste produto e as questões de segurança alimentar relacionadas ao uso de conservantes em alimentos, destaca-se a crescente necessidade de garantia e controle de qualidade das medições nesta área, o que implica na necessidade de participação dos laboratórios em Programas de Ensaio de Proficiência.

Este relatório apresenta os resultados da avaliação de desempenho dos laboratórios participantes da primeira rodada do Ensaio de Proficiência em sucos – Ácido Benzóico em Suco de Laranja, promovido pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro).

2. Objetivos

O objetivo deste Ensaio de Proficiência é fornecer aos laboratórios participantes uma ferramenta efetiva para verificar sua competência no ensaio de quantificação do ácido benzóico em suco de laranja utilizando suas metodologias de rotina. Este EP também contribui para:

- Avaliar o desempenho dos laboratórios de análise de alimentos e bebidas, na determinação de ácido benzóico em suco de laranja;
- Identificar problemas na metodologia aplicada pelo laboratório participante.
- Contribuir para aumentar a confiança nos resultados das medições dos laboratórios que analisam ácido benzóico em suco de fruta;

3. Preparo e Envio dos Itens de Ensaio

O item de ensaio era constituído de suco de laranja concentrado fortificado com uma massa conhecida de ácido benzóico. A fração mássica de ácido benzóico no item de ensaio encontrava-se na faixa de 300 a 1000 mg/kg.

Os procedimentos de amostragem, preparo dos itens de ensaio, e testes de homogeneidade e estabilidade foram realizados em um laboratório congênere (Instituto HSA, Singapura), seguindo as orientações da ISO GUIDE 35:2006. Os procedimentos dos itens 3.1 e 3.2, a seguir, estão relatados conforme as informações repassadas pelo laboratório congênere.

3.1. Preparo dos Itens de Ensaio

O material de estudo foi preparado a partir de sucos de laranja concentrados vendidos em embalagens de 1 L. O conteúdo de 7 embalagens foi colocado em um frasco de 10 L e agitado sob uma corrente de nitrogênio durante 10 minutos à temperatura ambiente antes de ser fortificado com uma quantidade conhecida de ácido benzóico. A mistura foi agitada por mais 2 horas e dispensada em frascos âmbar de 100 mL. As garrafas foram lacradas e armazenadas a -20 ° C antes da utilização.

3.2. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

Após o envase, a homogeneidade das amostras foi avaliada pela retirada de uma sub-amostra de 8 garrafas e 5 sub-amostras de 1 garrafa, que foram analisadas pela técnica de CLAE-EMDI (cromatografia líquida de alta eficiência - espectrometria de massas de diluição isotópica).

A estabilidade de curta duração (condições de transporte) foi avaliada em um estudo de viabilidade no qual um lote de suco de laranja foi preparado a partir do mesmo material e em uma concentração similar às das amostras preparadas para este EP. Esta avaliação ocorreu por 20 dias a 40 °C. Esta temperatura foi definida como a máxima temperatura permitida durante o

transporte. O estudo de longa duração foi realizado com abordagem “clássica” em quatro ocasiões, a -20 °C, por aproximadamente 16 semanas.

De forma complementar aos estudos feitos pelo instituto HSA, o Inmetro avaliou a estabilidade dos itens de ensaio com base nos princípios da norma ISO 13528:2005 (anexo B). Um grupo de três amostras foi analisado, antes da distribuição dos itens de ensaio aos laboratórios participantes. Ao término do prazo de envio dos resultados pelos participantes, outro grupo de três amostras foi analisado nas mesmas condições. As amostras foram analisadas em duplicata e armazenadas a -20°C durante o período de estudo.

3.3. Envio dos Itens de Ensaio

Cada laboratório participante deste EP recebeu 1 (um) frasco de vidro âmbar contendo 50 mL de suco de laranja.

Para cada laboratório inscrito no Ensaio de Proficiência para Determinação de Ácido Benzoico em Suco de Laranja foi enviado um item de ensaio contendo cerca de 50 mL do suco de laranja congelado. Estes foram enviados em uma caixa de isopor com gelo seco, devidamente lacrada.

3.4. Instruções de uso do material para o Ensaio de Proficiência

As instruções de uso do material relativo ao ensaio de proficiência foram disponibilizadas no protocolo e no formulário de registro de resultados.

4. Procedimentos e métodos estatísticos

4.1. Reporte dos resultados e número de replicatas

Os laboratórios receberam um item de ensaio contendo amostra de suco de laranja e foram orientados a retirar três porções (triplicata verdadeira) para a realização do ensaio, respeitando-se a quantidade mínima de amostra de 2 g a ser utilizada. O número de replicatas (n=3) escolhido garante que a avaliação de desempenho do laboratório não será influenciada pela repetitividade do método de análise, desde que o valor do desvio padrão relativo desta repetitividade não ultrapasse 3 % (ISO 13528, item 4.3). Desta forma, cada laboratório informou, no máximo, três resultados analíticos expressos em mg/kg, no Formulário de Registro de Resultados.

Além dos resultados analíticos, os laboratórios participantes prestaram algumas informações quanto às características de desempenho do método de análise, tais como, a recuperação (%), o limite de detecção e o limite de quantificação.

Com o intuito de identificar problemas relacionados às técnicas analíticas empregadas e fomentar a tomada de ações corretivas, os laboratórios foram orientados também a prestarem algumas

informações relevantes, através do Formulário de Registro de Resultados, sobre as técnicas e os equipamentos utilizados nos ensaios.

4.2. Avaliação da homogeneidade e da estabilidade dos Itens de Ensaio

Os itens de ensaio usados para esta rodada de EP foram retirados do lote de suco de laranja preparado pelo instituto HSA (item 3.1).

Conforme descrito no item 3.2, de forma a complementar aos estudos realizados pelo instituto HSA, o Inmetro analisou as amostras de acordo com o planejamento para o estudo de estabilidade, seguindo os princípios da ISO 13528: 2005. Nesta abordagem, a diferença entre as médias dos resultados para as amostras analisadas no início do EP, \bar{x} , e depois do envio dos resultados, \bar{y} , não deve ultrapassar o limite de 0,3 vezes o desvio padrão para avaliação de proficiência (Equação 1). Este critério tem como base o princípio de que o material deve ser suficientemente estável para o propósito do Ensaio de Proficiência.

$$|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0,3\hat{\sigma} \quad (1)$$

4.3. Estabelecimento do Valor Designado

Durante as etapas iniciais deste EP, o Material de Referência produzido pelo instituto HSA foi certificado, passando a ser, portanto, um Material de Referência Certificado (MRC). Sendo assim, o planejamento inicial para determinação do valor designado não foi utilizado e a coordenação deste Ensaio de Proficiência decidiu adotar como valor designado o valor certificado deste MRC.

Tal decisão tem como princípio o fato de que, tendo disponível um MRC com um valor certificado a partir de critérios bem estabelecidos que definem inclusive a rastreabilidade deste valor, bem como sua incerteza, então, não seria metrologicamente correto utilizar qualquer outra abordagem para se gerar um valor designado. A incerteza padrão do valor designado (u_x) é aquela apresentada no certificado do MRC.

4.4. Limite para a Incerteza do Valor Designado

Se a incerteza padrão do valor designado é muito grande em comparação com o desvio padrão para avaliação de proficiência, $\hat{\sigma}$, então há um risco de alguns laboratórios receberem resultados questionáveis ou insatisfatórios por causa da inexatidão na determinação do valor designado.

Dessa forma, a incerteza do valor designado foi limitada conforme o critério estabelecido na Equação 2 (ISO 13528:2005, item 4.2).

$$u_x \leq 0,3\hat{\sigma} \quad (2)$$

Caso essa condição não seja encontrada, então, a avaliação de desempenho dos laboratórios deverá seguir o cálculo apresentado na Equação 8.

4.5. Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência

Nesta rodada de ensaio de proficiência o desvio padrão para avaliação de proficiência dos laboratórios participantes foi calculado por um modelo geral, conforme item 6.4 da norma ISO 13528:2005. O modelo adotado nesta avaliação para o cálculo do desvio padrão está fundamentado no modelo de Horwitz, 1980 (Equação 3), que expressa a precisão interlaboratorial em termos de um desvio padrão de reprodutibilidade.

$$\sigma_H = 0,02c^{0,8495} \quad (3)$$

Onde: c é o nível de concentração expresso em fração mássica e σ_H é o desvio padrão de Horwitz.

Estudos colaborativos conduzidos recentemente mostraram que em rodadas em que a concentração do analito está abaixo de 100 ppb, o desvio padrão de reprodutibilidade encontra-se sistematicamente abaixo do previsto pela equação de Horwitz. Com base nestes estudos, Thompson, 2000, sugeriu uma modificação da equação de Horwitz levando em consideração os níveis de concentração do analito expressos em fração mássica, conforme as Equações 4, 5 e 6:

$$\sigma = 0,22c \quad , \quad \text{se } c < 1,2 \times 10^{-7} \quad (4)$$

$$\sigma = 0,02c^{0,8495} \quad , \quad \text{se } 1,2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0,138 \quad (5)$$

$$\sigma = 0,01c^{0,5} \quad , \quad \text{se } c > 0,138 \quad (6)$$

Onde: c é o nível de concentração expresso em fração mássica e σ é o desvio padrão de Horwitz modificado.

4.6. Índice z

Para a qualificação dos resultados dos laboratórios, o índice z (z-score) representa uma medida da distância relativa do resultado da medição do laboratório em relação ao valor designado do ensaio de proficiência (Equação 7).

$$z = \frac{x - X}{\hat{\sigma}} \quad (7)$$

Onde: x representa o valor do laboratório participante, X representa o valor designado e $\hat{\sigma}$ o desvio padrão de Horwitz modificado.

A interpretação do valor do **índice z** está descrita abaixo:

$|z| \leq 2$ - Resultado satisfatório

$2 < |z| < 3$ - Resultado questionável

$|z| \geq 3$ - Resultado insatisfatório

Contudo, nesta rodada de EP o índice z' foi apresentado como método alternativo para a avaliação do desempenho dos laboratórios participantes (Equação 8), caso a incerteza do valor designado não satisfaça a condição estabelecida na Equação 2.

$$z' = \frac{x - X}{\sqrt{\hat{\sigma}^2 + u_x^2}} \quad (8)$$

Onde:

x : valor reportado pelo laboratório participante;

X : valor designado;

$\hat{\sigma}$: desvio padrão para avaliação de proficiência e;

u_x : incerteza do valor designado.

4.7. Repetitividade

A repetitividade dos dados enviados pelos laboratórios participantes foi avaliada a partir do cálculo do coeficiente de variação (CV) segundo a Equação 9:

$$CV(\%) = \frac{s}{\bar{X}} \times 100 \quad (9)$$

Onde: \bar{X} é a média dos valores de concentração do laboratório e s é o desvio padrão do laboratório.

Para o cálculo de \bar{X} e s foi considerada a média dos valores de fração mássica reportados por cada laboratório para as análises das três replicatas.

5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade

Os resultados apresentados nos itens 5.1 e 5.2, a seguir, foram fornecidos pelo instituto HSA (Singapura), que produziu o Material de Referência Certificado que foi usado como item de ensaio nesta rodada de EP.

Tanto a incerteza devido à potencial heterogeneidade (u_{hom}) quanto a incerteza obtida a partir do erro padrão da inclinação da curva (u_{est}), foram consideradas como fontes para o cálculo da incerteza final do valor certificado.

5.1. Avaliação da Homogeneidade

Nenhuma diferença entre as variâncias “dentro” e “entre” as garrafas foi detectada pelo teste F com 95 % de nível de confiança. O teste t de student também indicou diferença não significativa entre as médias obtidas das análises dentro e entre as garrafas. Dessa forma, o material foi considerado suficientemente homogêneo. A incerteza devido à potencial heterogeneidade (u_{hom}) encontrada foi de **3,98 mg/kg**.

5.2. Avaliação da Estabilidade

Estabilidade de curta duração (condições de transporte): a inclinação da curva obtida pela regressão linear mostrou que não houve variação significativa da concentração de ácido benzóico durante o estudo, para um nível de confiança de 95 %, comprovando a estabilidade do ácido benzóico em suco de laranja a uma temperatura de 40 °C por 20 dias.

Estudo de estabilidade de longa duração: A inclinação da curva obtida pela regressão linear mostrou que não houve variação significativa durante esse estudo a um nível de confiança de 95 %, comprovando a estabilidade do ácido benzóico na temperatura de armazenamento. O erro padrão da inclinação da curva obtida foi de **0,121 mg/(kg.dia)**.

5.3. Avaliação da estabilidade conforme a ISO 13528:2005.

Tabela 1: Resultados da avaliação da estabilidade realizada pelo Inmetro

σ_H (mg/kg)	45,1
$0,3^* \sigma_H$ (mg/kg)	13,5
Média no início do EP (\bar{x})	747,5
Média após o envio dos resultados (\bar{y}) (mg/kg)	748,6
$ \bar{x} - \bar{y} $ (mg/kg)	1,1

Os resultados do monitoramento realizado pelo Inmetro (Tabela 1) confirmaram que o material permaneceu suficientemente estável durante o período do EP. A diferença entre as médias dos resultados das análises realizadas no início e no final do EP (após o envio dos resultados) não é significativa em relação ao desvio padrão para avaliação de proficiência, tendo em vista que o critério da Equação 1 foi atendido.

6. Atribuição do Valor Designado e do Desvio Padrão do EP.

O valor designado considerado neste EP, é o valor certificado declarado no certificado do MRC HRM – 1001A, “Benzoic acid in Oranje Juice”, batch number STY-01-02 (Health Science Authority, Singapore) (Tabela 2).

Tabela 2: Valor designado e incertezas padrão e expandida.

Valor designado:	766 mg/kg
Incerteza expandida:	52 mg/kg
k (fator de abrangência):	2
Incerteza padrão:	26 mg/kg

O desvio padrão para avaliação de proficiência (σ_H) foi calculado a partir da Equação 5, e o valor obtido foi de **45,1 mg/kg**.

7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

7.1. Resultados dos Laboratórios Participantes

Os dados reportados pelos laboratórios participantes do ensaio de proficiência foram tratados de acordo com os procedimentos descritos na ISO 13528:2005. A Tabela 3 apresenta os resultados dos laboratórios para as três replicatas, bem como o valor médio entre as análises, os coeficientes de variação, e o índice z' . Nesta tabela na cor preta estão os valores de índice z' correspondentes aos resultados satisfatórios, em azul os resultados questionáveis e em vermelho os resultados insatisfatórios.

Cada laboratório é identificado apenas pelos dois últimos números do seu código de identificação nas tabelas e gráficos seguintes.

Tabela 3: Resultados por análise (mg/kg), resultados médios dos laboratórios (mg/kg) e os coeficientes de variação (%).

Código do laboratório	Replicata	Média por amostra	Média total	(CV%)	Índice z'
05	1	417,27	412,5	4,06	-6,8
	2	393,86			
	3	426,33			
07	1	733,818	727,4	0,83	-0,7
	2	726,605			
	3	721,885			
14	1	797,87	791,4	0,78	0,5
	2	790,82			
	3	785,61			
22	1	886,89	896,3	1,20	2,5
	2	908,1			
	3	894,03			

Continuação da tabela 3

25	1	742,18	744,0	0,21	-0,4
	2	744,95			
	3	744,79			
32	1	643,07	642,5	0,13	-2,4
	2	641,5			
	3	642,9			
34 (*)	1	866,3	901,9	5,58	2,6
	2	937,5			
	3	-			
38	1	710,2	710,7	0,44	-1,1
	2	714,03			
	3	707,81			
39	1	764,96	761,8	0,41	-0,1
	2	758,66			
	3	761,64			
40	1	780,56	779,8	0,08	0,3
	2	779,55			
	3	779,35			
43	1	728,57	730,9	0,43	-0,7
	2	729,75			
	3	734,49			
44	1	601,949	608,5	0,95	-3,0
	2	612,997			
	3	610,577			
52	1	996,7	984,1	6,88	4,2
	2	910,9			
	3	1044,6			
62	1	725,5	725,5	0,55	-0,8
	2	721,5			
	3	729,5			
72	1	736,3	741,4	0,60	-0,5
	2	743,8			
	3	744,1			
83	1	753,0	755,5	0,36	-0,2
	2	755,1			
	3	758,4			
87	1	1025	1020,3	0,40	4,9
	2	1018			
	3	1018			
99	1	672,49	679,4	0,89	-1,7
	2	681,81			
	3	683,88			

(*) O laboratório 34 realizou apenas duas replicatas.

7.2. Avaliação do Índice z'

A Figura 4 apresenta os resultados do índice z' obtidos pelos laboratórios participantes para a determinação do ácido benzóico.

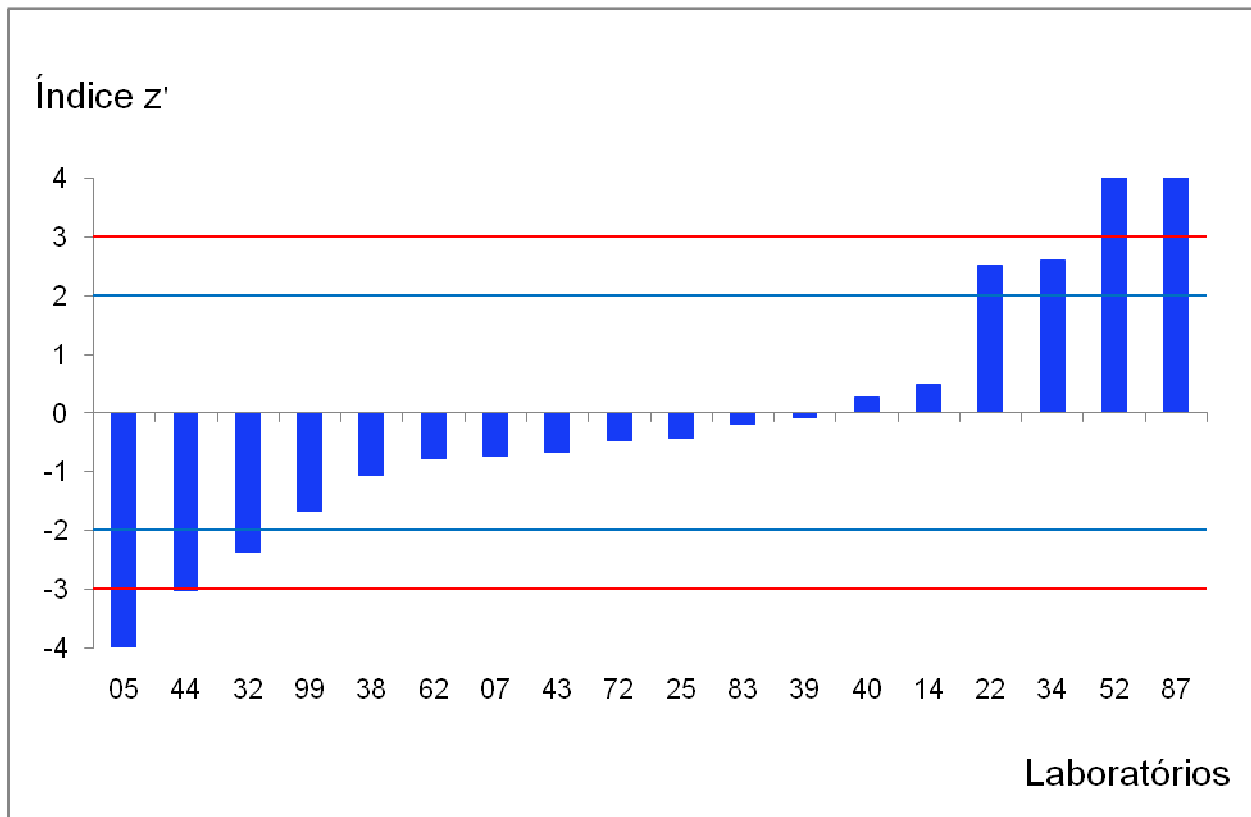


Figura 4: Gráfico de índice z' dos laboratórios participantes

De um total de dezoito resultados reportados, aproximadamente 22 % foram considerados insatisfatórios (quatro resultados), 17 % foram considerados questionáveis (três resultados), e 61 % satisfatórios (onze resultados). Sete dos dezoito laboratórios participantes obtiveram resultados insatisfatórios ou questionáveis (laboratórios 5, 22, 32, 34, 44, 52 e 87) o que representa um total de aproximadamente 39 %.

Este percentual evidencia, nestes casos, a necessidade de medidas de melhoria neste setor, devido ao elevado percentual de sinais de alerta (z' ultrapassando a linha azul – questionável) e ação (z' ultrapassando a linha vermelha – insatisfatório), obtidos nesta comparação interlaboratorial.

Cabe salientar que o índice z' é apenas um indicativo do desempenho do laboratório, cabendo a cada laboratório participante fazer a sua interpretação e implementar as ações corretivas, caso necessário.

7.3. Repetitividade dos Resultados dos Laboratórios

As Figuras 1, 2 e 3 apresentam os gráficos “Boxplot”, que refletem a dispersão dos resultados dos laboratórios participantes. Para uma melhor visualização, os gráficos foram divididos em faixas de fração mássica: Boxplot 1, para os laboratórios que obtiveram resultados médios entre 350 mg/kg e 600 mg/kg; Boxplot 2, para resultados entre 600 mg/kg e 850 mg/kg; e Boxplot 3, para resultados entre 850 mg/kg e 1100 mg/kg.

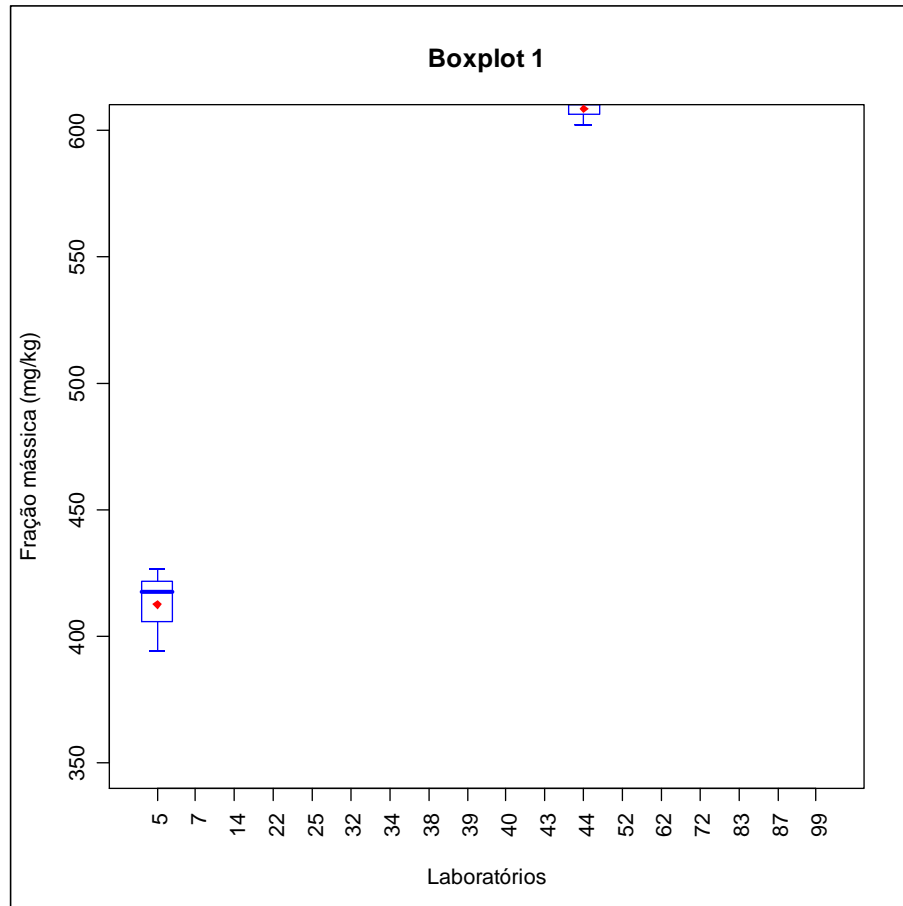


Figura 1: “Boxplot 1” dos resultados dos laboratórios participantes (médias entre 350 e 600 mg/kg).

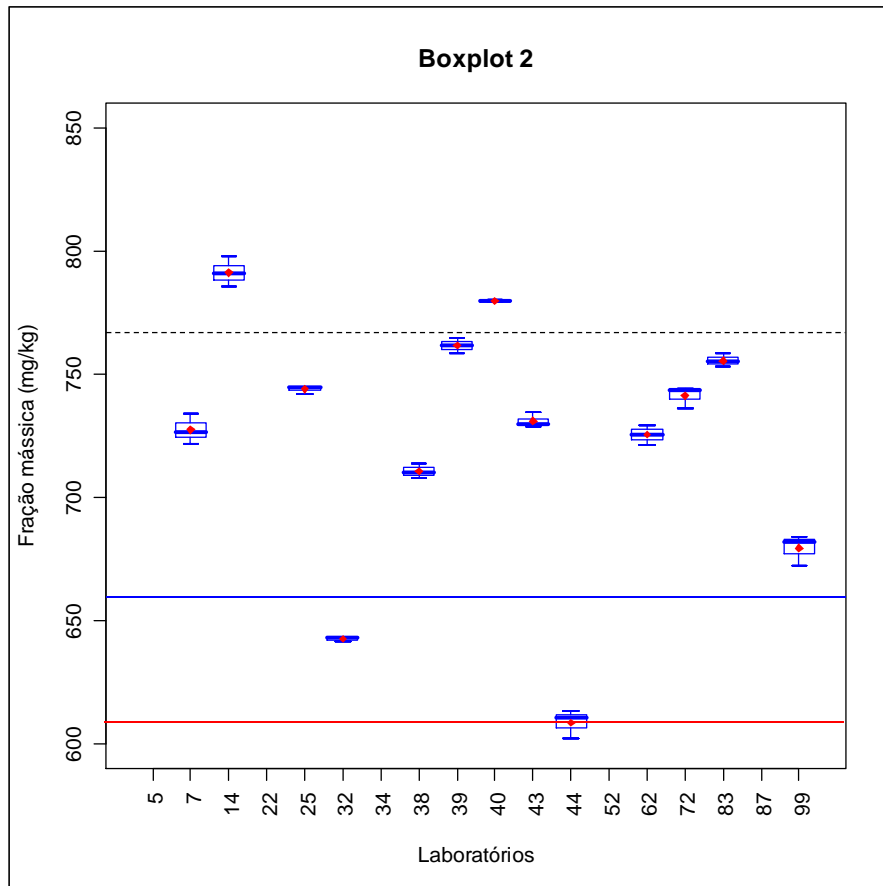


Figura 2: “Boxplot 2” dos resultados dos laboratórios participantes (médias entre 600 e 850 mg/kg).

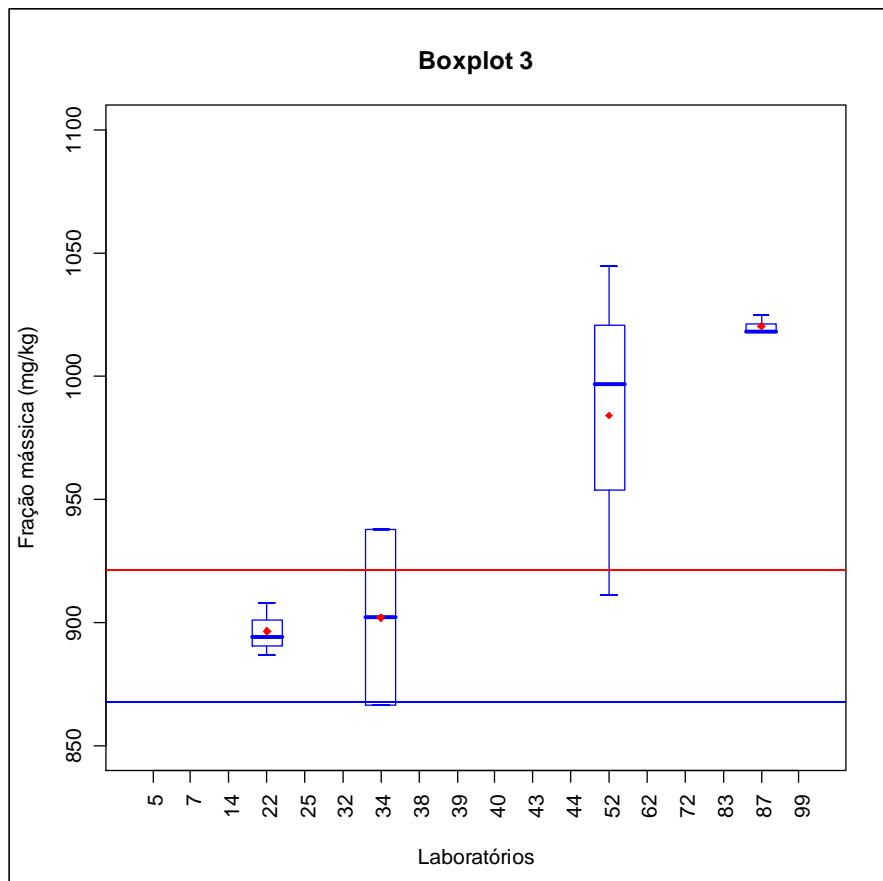


Figura 3: Boxplot 3 dos resultados dos laboratórios participantes (médias entre 850 e 1100 mg/kg).

A partir de uma análise visual dos gráficos “Boxplot” pode-se observar a incompatibilidade de alguns laboratórios que obtiveram resultados fora do limite de três vezes o desvio padrão para avaliação de proficiência (linhas vermelhas). Tais limites estão correlacionados com os limites calculados para o índice z' , que foram apresentados no item 7.3. Dentre os laboratórios que obtiveram uma dispersão elevada pode-se destacar, pela análise visual dos gráficos e pelos valores de CV (%) apresentados na Tabela 3, os laboratórios 5, 34 e 52.

Com base em algumas publicações sobre características de desempenho de métodos de análise de ácido benzóico em suco de laranja, e no estabelecimento de um número viável de replicatas para este EP, foi decidido um número de 3 replicatas para cada laboratório participante, considerando um CV (%) de aproximadamente 3 %. O valor de 3 % não foi utilizado como um limite para avaliação de desempenho, mas sim, como uma base para o cálculo do número de replicatas. A grande maioria dos laboratórios analisou as 3 replicatas, conforme solicitado, com exceção do laboratório 34 que realizou análise de apenas 2 replicatas. O estabelecimento do número de replicatas tem como objetivo limitar a influência da variação de repetitividade no desvio entre laboratórios. Neste EP, os resultados dos laboratórios não foram usados para cálculo do valor designado ou do desvio padrão do EP, portanto, o número de replicatas não influencia no EP como um todo. Apesar da repetitividade dos laboratórios não estar sendo avaliada através de um limite de desempenho, é importante que cada laboratório avalie a sua repetitividade, que pode estar refletida na dispersão encontrada entre suas replicatas, comparando-a com a dos demais laboratórios participantes. Cabe salientar que, quanto menor a repetitividade de um método (maior dispersão dos resultados), maior será sua incerteza e, conseqüentemente, maior deverá ser o número de medições (replicatas) para se obter um resultado mais confiável.

7.4. Observações relativas aos métodos

Neste EP os laboratórios foram orientados a reportarem também alguns parâmetros relativos à validação do método empregado. Algumas destas informações, tais como a técnica empregada, o tipo de calibração, a faixa de recuperação, a massa de amostra e a validação do método encontram-se resumidamente dispostos na Tabela 4, juntamente com o índice z' . Nesta tabela na cor preta estão os valores de índice z' correspondentes aos resultados satisfatórios, em azul os resultados questionáveis e em vermelho os resultados insatisfatórios.

Tabela 4: Técnica empregada, tipo de calibração, faixa de recuperação, massa de amostra e validação do método.

Laboratório	Técnica	Tipo de calibração	Faixa de recuperação (%)	Massa de amostra (g)	Método validado?	Índice z'
05	CLAE-UV	externa	93-107	2 g	Sim	-6,8
07	CLAE-UV	externa	95	1 g, 2 g e 3 g	Não	-0,7
14	CLAE-UV	externa	94	2 g	Sim	0,5
22	CLAE-UV	externa	101,62	2 g	Não	2,5
25	CLAE-UV	externa	91,83	2 g	Não	-0,4
32	CLAE	externa	94,6	2 g	Não	-2,4
34	Titulação	-	-	8,4 g	Não	2,6
38	CLAE-UV	externa	75-125	2 g	Sim	-1,1
39	CLAE-UV	externa	98,3 - 100,4	10 g	Sim	-0,1
40	CLAE-UV	externa	106	3,5 g, 2 g e 2,5 g	Sim	0,3
43	CLAE-UV	externa	80,8 -100	5 g	Sim	-0,7
44	CLAE-UV	externa	80 - 100	5g	Sim	-3,0
52	CLAE-UV	externa		5 g	Não	4,2
62	CLAE-UV	externa	90 - 110	2 g	Sim	-0,8
72	CLAE-UV	externa	70 - 110	2,5 g	Não	-0,5
83	CLAE-UV	externa	94,1	3 g	Sim	-0,2
87	CLAE-UV	externa	95 - 102	5 g	Não	4,9
99	CLAE-UV	externa	97,5	5 g	Sim	-1,7

Analisando a Tabela 4, podemos verificar que a técnica principal empregada na quantificação do ácido benzóico em suco de laranja foi a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta (CLAE-UV), utilizando a calibração externa como método de obtenção da curva de calibração. Os laboratórios que utilizaram esta técnica usaram métodos de extração distintos e, devido à complexidade destes procedimentos, não é possível associá-los a qualquer resultado insatisfatório ou questionável. Contudo, cabe destacar que 62 % dos 8 laboratórios que ainda não têm seus métodos validados (5 laboratórios), obtiveram resultados insatisfatórios ou questionáveis; enquanto 80 % dos 10 laboratórios que validaram seus métodos (8 laboratórios) obtiveram resultados satisfatórios. Apesar desta correlação depender de diversos outros fatores, cabe observar a importância de se concluir todas as etapas de validação de um método analítico, para que o laboratório possa ter total controle metrológico sobre os seus resultados.

8. Conclusões

Através de uma análise criteriosa dos dados gerados neste EP, podemos chegar às seguintes conclusões gerais:

Todos os laboratórios detectaram e quantificaram o ácido benzóico presente na amostra. Quanto ao desempenho dos laboratórios, pode-se considerar como satisfatório, pois a maior parte dos resultados reportados (61 %) atingiu o valor de índice z satisfatório. Contudo, cabe destacar que 39 % dos laboratórios obtiveram resultado insatisfatório ou questionável.

Para os laboratórios que obtiveram resultados insatisfatórios ou questionáveis, ações corretivas podem ser adotadas para o aprimoramento das suas medições. Uma avaliação detalhada, desde o recebimento do material e seu armazenamento, até o preenchimento do Formulário de Registro de Resultados, e a avaliação de todos os passos da metodologia de análise, será importante para a identificação dos pontos críticos.

Quanto à análise de CV(%), alguns laboratórios participantes apresentaram repetitividade baixa se comparados com os demais. Nestes casos o laboratório deve avaliar a possibilidade e a real necessidade de aprimoramento da sua metodologia de forma a obter uma repetitividade adequada.

Em relação ao preenchimento do formulário, cabe ainda ressaltar que a maioria dos laboratórios participantes preencheu as informações solicitadas e realizou a análise das três replicatas, conforme estabelecido.

O estabelecimento de ações corretivas e a contínua participação em ensaios de proficiência desta natureza são ferramentas de grande contribuição para o aprimoramento das medições realizadas pelos laboratórios.

9. Laboratórios participantes

Dezoito laboratórios se inscreveram neste EP e a lista com os nomes dos laboratórios participantes é apresentada na Tabela 5. A numeração que consta na Tabela 5 é apenas indicativa do número de laboratórios participantes no EP, não estando, em hipótese alguma, associada à identificação dos laboratórios na apresentação dos resultados.

Tabela 5: Laboratórios participantes do EP em Sucos – 1ª rodada.

Instituição	
1.	Bioagri Análises em Alimentos Ltda Bioagri Alimentos
2.	Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos – CEPPA Laboratório de Físico-Química de Alimentos
3.	Centro de Qualidade Analítica Ltda CQA Laboratórios
4.	Food Intelligence Laboratório de Análise de Alimentos Ltda Food Intelligence
5.	Fundação Ezequiel Dias Laboratório de Química Bromatológica e Cromatografia
6.	Instituto Adolfo Lutz Centro de Alimentos / Núcleo de Química, Física e Sensorial
7.	Instituto de Tecnologia do Paraná Laboratório de Alimentos e Medicamentos
8.	ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos CCQA - Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos
9.	Laboratório Alac Ltda Laboratório de Bebidas
10.	Laboratório Central Noel Nutels LACEN-RJ
11.	Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/MG Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/MG
12.	Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/RS Lab. Bebidas
13.	LASA pesquisas laboratoriais Ltda Dosage
14.	M Cassab Indústria e Comércio M Cassab Indústria e Comércio
15.	Qualistatus Analítica e Consultoria S/S LTDA Qualistatus Analítica e Consultoria S/S LTDA

16.	Secretaria da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Laboratório de Referência Enológica
17.	Secretaria de Estado de Saúde Pública Laboratório Central do Estado do Pará
18.	Universidade de Passo Fundo Centro de Pesquisa em Alimentação - Laboratório de Cromatografia

- Total de participantes: 18 laboratórios

10. Referências Bibliográficas

- ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011: Avaliação de Conformidade – Requisitos Gerais para ensaios de proficiência.
- BRASIL: Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/5_rdc_anexo.pdf>. Acesso em 25 de agosto de 2012.
- Especial Citricultura. Suco de laranja brasileiro: liderança e tecnologia. Agroanalysis. Setembro de 2009. Disponível em : <http://www.agroanalysis.com.br/especiais_detalhe.php?idEspecial=49>. Acesso em 25 de agosto de 2012.
- ISO 13528:2005: Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.
- ISO Guide 35:2006: Certification of Reference Materials – General and Statistical principles.
- The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 78, No. 1, pp. 145–196, 2006.
- THOMPON, M. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. *Analyst*, 2000, 125, 385-386.
- Vocabulário Internacional de Metrologia: conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM 2008). 1ª Edição Brasileira. Rio de Janeiro, 2009.



Programa de Ensaios de Proficiência da Diretoria de Metrologia Científica e Industrial - PEP Dimci
Av. Nossa Senhora das Graças, 50 - Xerém / Duque de Caxias - RJ - Brasil CEP: 25250 - 020
Fax: +55 21 2679-9745 / www.inmetro.gov.br / pep-dimci@inmetro.gov.br