

Relatório Final do Ensaio de Proficiência
em Sucos - 2ª Rodada
Ácido Benzóico em Suco de Laranja



Inmetro
Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

PEP-Inmetro

Programa de Ensaios de Proficiência do Inmetro

ENSAIO DE PROFICIÊNCIA EM SUCOS
2ª RODADA – ÁCIDO BENZÓICO EM SUCO DE LARANJA

Período de inscrição: 01/09/14 a 12/09/14

RELATÓRIO FINAL N° 001/15

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-inmetro@inmetro.gov.br

COMITÊ DE ORGANIZAÇÃO

Adelcio Rena Lemos (Inmetro/Dimci/Dicep)

Eliane Cristina Pires do Rego (Inmetro/Dquim/Labor)

Paulo Roberto da Fonseca Santos (Inmetro/Dimci/Dicep) - Coordenador PEP-Inmetro

Valnei Smarçaro da Cunha (Inmetro/Dimci/Dquim)

Viviane Silva de Oliveira Correa (Inmetro/Dimci/Dicep)

COMITÊ TÉCNICO

Bruno Carius Garrido (Inmetro/Dquim/Labor)

Eliane Cristina Pires do Rego (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)

Lucas Junqueira de Carvalho (Inmetro/Dquim/Labor)

Luiz Henrique da Conceição Leal (Inmetro/Dplan/Dgcor)

ÍNDICE

1. Introdução	3
2. Objetivos	3
3. Preparo do Item de Ensaio	4
3.1. Homogeneidade do Item de Ensaio	4
3.2. Avaliação da Estabilidade do Item de Ensaio	5
3.3. Envio do Item de Ensaio	5
4. Procedimentos e Métodos Estatísticos	6
4.1. Reporte dos Resultados	6
4.2. Estabelecimento do Valor Designado	6
4.3. Limite para a Incerteza do Valor Designado	6
4.4. Desvio-Padrão para Avaliação de Proficiência	7
4.5. Avaliação de Desempenho	7
4.5.1. Índice z'	7
4.5.2. Erro Normalizado	8
5. Atribuição do Valor Designado, do Desvio-Padrão do EP e Avaliação do Limite para a Incerteza do Valor Designado	9
6. Resultados da Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes	9
6.1. Índice z'	9
6.2. Erro Normalizado	11
6.3. Repetibilidade dos Resultados dos Laboratórios	13
6.4. Observações relativas aos métodos	13
7. Confidencialidade	15
8. Conclusões	15
9. Laboratórios participantes	16
10. Referências Bibliográficas	17

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. Conforme estabelecido pela ANVISA na RDC Nº 8, de 06 de março de 2013, o ácido benzóico e seus sais tem concentração máxima permitida de 0,1 g/100 mL. 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 (Neves et al, 2014). 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.

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:

- Determinar o desempenho dos laboratórios de análise de alimentos e bebidas, na determinação de ácido benzóico em suco de laranja;
- Contribuir para aumentar a confiança nos resultados das medições dos laboratórios que analisam ácido benzóico em suco de fruta;
- Contribuir para a melhoria contínua das técnicas de medição de cada laboratório.

3. Preparo do Item de Ensaio

O item de ensaio era constituído de suco de laranja comercial fortificado com uma massa conhecida de ácido benzóico. A concentração de ácido benzóico no item de ensaio encontrava-se na faixa de 100 a 1000 mg/L.

Os itens de ensaio foram preparados a partir de 4 L de suco de laranja que foram transferidos para um recipiente de 10 L, sendo então a este adicionada uma quantidade conhecida de ácido benzóico. A amostra foi agitada a 60 °C durante 20 horas. Esta mistura foi dispensada em frascos de vidro âmbar de 100 mL, de forma que cada frasco passou a conter 30 mL da mistura. Os frascos foram selados e armazenados a (-20 ± 3) °C.

3.1. Homogeneidade do Item de Ensaio

Após o envase, a homogeneidade das amostras foi avaliada em 14 frascos selecionados aleatoriamente. De cada amostra (frasco) foi retirada uma sub-amostra de aproximadamente 1 mL, que foi analisada, em três injeções por cada sub-amostra, pela técnica de AF-EMDI (análise de fluxo por espectrometria de massas de diluição isotópica). Nenhuma diferença entre as variâncias “dentro” e “entre” os frascos foi detectada pelo teste de ANOVA com 95 % de confiança. Com base nos valores de MQ_{entre} e MQ_{dentro} (variâncias entre as amostra e dentro das amostras) obtidos por ANOVA, foi calculado o desvio padrão amostral (S_s) que representa o grau de heterogeneidade do lote. Conforme apresentado na Tabela 1, as amostras foram consideradas suficientemente homogêneas, tendo em vista que o valor de S_s é menor do que o limite $0,3 \hat{\sigma}$ (ISO 13528:2005).

Tabela 1 - Resultados da avaliação da homogeneidade das amostras utilizadas neste EP.

$\hat{\sigma}$ (mg/L)	43,112
$0,3 \cdot \hat{\sigma}$ (mg/L)	12,9
$S_s (u_{hom})$ (mg/L)	4,6

Obs: O valor de S_s foi calculado de forma a considerar a repetibilidade do método de medição (ABNT ISO Guia 35).

3.2. Avaliação da Estabilidade do Item de Ensaio

A estabilidade para o transporte do material (estudo de estabilidade de curta duração) foi avaliada por 8 semanas a 4, 20 e 50 °C. A temperatura definida como a máxima permitida durante o transporte foi de 50 °C por cinco semanas. As inclinações das curvas obtidas pela regressão linear mostraram 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 para as temperaturas de (4 ± 2) °C, (20 ± 3) °C e (50 ± 2) °C por 8, 6 e 5 semanas respectivamente.

O estudo de estabilidade para avaliar as condições e o comportamento do material sob armazenamento (estudo de estabilidade de longa duração) foi realizado na temperatura de (-26 ± 3) °C pelo período de 7 meses, sendo finalizado em outubro de 2014, após o término do EP.

Através da inclinação da curva obtida pela regressão linear, observou-se 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 durante todo o período e condições estudados.

Na Tabela 2 demonstra-se parte da análise de regressão, e verifica-se que, para um nível de confiança de 95 %, o *valor-P* está acima de 0,05, indicando a validade deste teste estatístico, já que os valores encontram-se dentro do nível de confiança.

Tabela 2 - Resultados da avaliação da estabilidade das amostras utilizadas neste EP.

	<i>Coeficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	682,7039016	9,444551228	72,28547816	1,54E-46
Tempo em dias	0,115039769	0,066439462	1,731497601	0,090533

A incerteza devido à instabilidade do material (u_{estab}) é correspondente a 14,22 mg/L, tendo sido calculada multiplicando-se o valor do erro padrão, $s(b_1)$, pelo tempo total de estudo (214 dias, aproximadamente 7 meses) (Equação 1).

$$u_{estab} = s(b_1) \cdot t \quad (1)$$

3.3. Envio do Item de Ensaio

Para cada participante deste EP foi enviado 1 (um) frasco de vidro âmbar contendo 30 mL de suco de laranja congelado. Estes foram enviados em uma caixa de isopor com gelo seco, devidamente lacrada.

No ato do recebimento do item de ensaio, o participante deveria realizar uma inspeção para verificar se houve algum dano que pudesse invalidar as medições e registrar o resultado da inspeção através

do formulário de recebimento de item de ensaio, que deveria ser preenchido e enviado diretamente pelo *site* do Inmetro.

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

Os laboratórios receberam um item de ensaio contendo amostra de suco de laranja e foram orientados a analisar as amostras em triplicatas verdadeiras (três alíquotas independentes), respeitando-se a quantidade mínima de amostra de 1 mL. Desta forma, cada laboratório informou, no máximo, três resultados analíticos expressos em mg/L, 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, faixa de recuperação (%), limite de detecção (mg/L) e limite de quantificação (mg/L).

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. Estabelecimento do Valor Designado

O valor designado (X) foi o valor médio dos resultados obtidos no estudo de homogeneidade do material, o qual foi realizado por espectrometria de massas com diluição isotópica. A incerteza do valor designado, u_x , foi calculada a partir do conjunto de dados do teste de homogeneidade, considerando também as fontes provenientes do método de análise utilizado. Os resultados são apresentados no item 5 deste relatório.

4.3. 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).

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

4.4. 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.

4.5. Avaliação de Desempenho

Conforme descrito no protocolo do EP, a avaliação de desempenho para todos os participantes seria estabelecida de acordo com o índice z ou pelo índice z' e para os laboratórios que reportassem a incerteza de medição também seria calculado o erro normalizado.

Como a incerteza do valor designado não satisfaz a condição estabelecida na Equação 2, a avaliação do desempenho dos participantes não pode ser realizada através do índice z . No protocolo desta rodada foi apresentado o índice z' como um método alternativo para a avaliação do desempenho de todos os participantes.

4.5.1. Índice z'

O índice z' representa uma medida da distância do resultado apresentado por um laboratório específico em relação ao valor de referência do ensaio de proficiência e, portanto, serve para

verificar se o resultado da medição de cada participante está em conformidade com o valor designado.

$$z' = \frac{x - X}{\sqrt{\hat{\sigma}^2 + u_x^2}} \quad (7)$$

Onde:

x : é o valor médio das três alíquotas reportadas pelo i -ésimo participante;

X : é o valor designado do EP;

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

u_x : é a incerteza do valor designado.

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

$|z| \leq 2,0$ - indica desempenho “satisfatório” e não gera sinal;

$2,0 < |z| < 3,0$ - indica desempenho “questionável” e gera um sinal de alerta;

$|z| \geq 3,0$ - indica desempenho “insatisfatório” e gera um sinal de ação.

4.5.2. Erro Normalizado

Este parâmetro avalia se o resultado da medição de cada participante está em conformidade com o valor designado, levando em consideração não apenas os resultados das medições, mas também suas respectivas incertezas. O erro normalizado é calculado conforme a Equação 8.

$$E_{ni} = \frac{y_i - y_{ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{ref}^2}} \quad (8)$$

Onde:

y_i : é o valor médio das três alíquotas reportadas pelo participante;

y_{ref} : é o valor designado deste EP;

U_{ref} : é o valor da incerteza expandida de y_{ref} obtida pelo Inmetro;

U_i : é o valor da incerteza expandida de y_i obtida pelo i -ésimo participante.

A interpretação do valor do (E_n) para avaliação do desempenho de cada participante está descrita abaixo:

$|E_n| \leq 1,0$ indica desempenho “satisfatório” e não gera sinal;

$|E_n| > 1,0$ indica desempenho “insatisfatório” e gera um sinal de ação.

5. Atribuição do Valor Designado, do Desvio-Padrão do EP e Avaliação do Limite para a Incerteza do Valor Designado

O valor designado (\bar{X}) e sua incerteza, assim como o desvio-padrão do EP ($\hat{\sigma}$), foram obtidos conforme detalhamento descrito anteriormente nos itens 4.2 e 4.4, respectivamente, e os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valor designado e incertezas-padrão e expandida.

Valor designado:	721 mg/L
Incerteza expandida:	74 mg/L
k (fator de abrangência):	4,3
Incerteza-padrão:	17 mg/L

O desvio-padrão para avaliação de proficiência (σ_H) foi calculado a partir da Equação 5, e o valor obtido foi de **43,1 mg/L**.

O limite para a incerteza do valor designado foi avaliado através da Equação 2. Uma vez que a condição estabelecida nesta equação não foi encontrada ($17 > 12,9$), a avaliação de desempenho dos laboratórios foi calculada através do índice z' .

6. Resultados da Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

6.1. Índice z'

Os dados reportados pelos laboratórios participantes do ensaio de proficiência foram tratados de acordo com os procedimentos descritos na ISO 13528:2005. A Tabela 4 apresenta os resultados dos laboratórios para as três alíquotas independentes, 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.

Tabela 4: Resultados por análise (mg/L), resultados médios dos laboratórios (mg/L), coeficientes de variação (%) e Índices z' .

Código do lab.	Alíquota	Resultados	Valor Médio	(CV%)	Índice z'
04	1	125,7	125,7	0	-12,8
	2	125,7			
	3	125,7			
27	1	722,8	721,8	0,13	0,0
	2	721,1			
	3	721,4			

Continuação da Tabela 4.

Código do lab.	Alíquota	Resultados	Valor Médio	(CV%)	Índice z'
39	1	830	806,0	2,98	1,8
	2	806			
	3	782			
41	1	529,7	529,1	0,21	-4,1
	2	527,8			
	3	529,8			
44	1	605	602,2	0,50	-2,6
	2	599			
	3	602,6			
59	1	593	593,1	0,07	-2,8
	2	593,5			
	3	592,7			
61	1	802,5	800,5	0,23	1,7
	2	798,9			
	3	800,1			
63	1	676,3	677,3	0,37	-0,9
	2	675,5			
	3	680,2			
69	1	733,2	718,7	1,75	-0,1
	2	711,4			
	3	711,5			
77	1	632,1	644,1	1,75	-1,7
	2	645,7			
	3	654,4			
83	1	723,2	720,9	0,44	0,0
	2	722,2			
	3	717,3			
88	1	715,9	742,9	3,21	0,5
	2	751,8			
	3	761,1			
98	1	711,8	713,1	0,20	-0,2
	2	714,6			
	3	712,9			

A Figura 1 apresenta os resultados do índice z' obtidos pelos laboratórios participantes para a determinação do ácido benzóico.

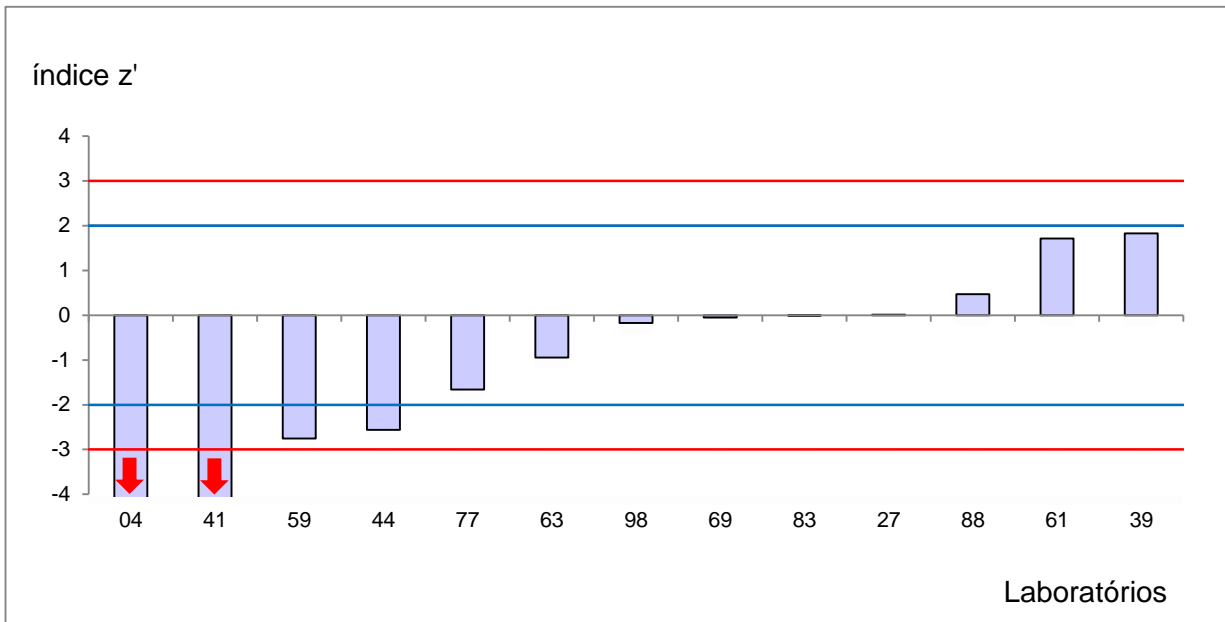


Figura 1 - Gráfico de índice z' dos laboratórios participantes

De um total de treze resultados reportados, aproximadamente 15,4% foram considerados insatisfatórios (dois resultados), 15,4% foram considerados questionáveis (dois resultados), e 69,2% satisfatórios (nove resultados). Quatro dos treze laboratórios participantes obtiveram resultados insatisfatórios ou questionáveis (laboratórios 4, 41, 44, e 59) o que representa um total de aproximadamente 30,8%.

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.

6.2. Erro Normalizado

A Tabela 5 apresenta os resultados dos laboratórios para as três alíquotas, bem como o valor médio entre as análises, a incerteza expandida, o fator de abrangência e o erro normalizado. Todos os resultados encontrados para o erro normalizado estão em vermelho por serem considerados insatisfatórios, ou seja, $|E_n| > 1,0$.

Tabela 5: Resultados por análise (mg/L), resultados médios dos laboratórios (mg/L), incertezas expandidas (U) e valores de erro normalizado (E_n).

Código do lab.	Alíquota	Resultados	Valor Médio	Incerteza Expandida (U)	Fator de Abrangência (k)	E_n
39	1	830	806,0	16,6	2	1,1
	2	806				
	3	782				
44	1	605	602,2	0,17	2	-1,6
	2	599				
	3	602,6				
59	1	593	593,1	6,38	2,09	-1,7
	2	593,5				
	3	592,7				
61	1	802,5	800,5	12	2	1,1
	2	798,9				
	3	800,1				

A Figura 2 apresenta os resultados do erro normalizado obtidos pelos laboratórios participantes para a determinação do ácido benzóico.

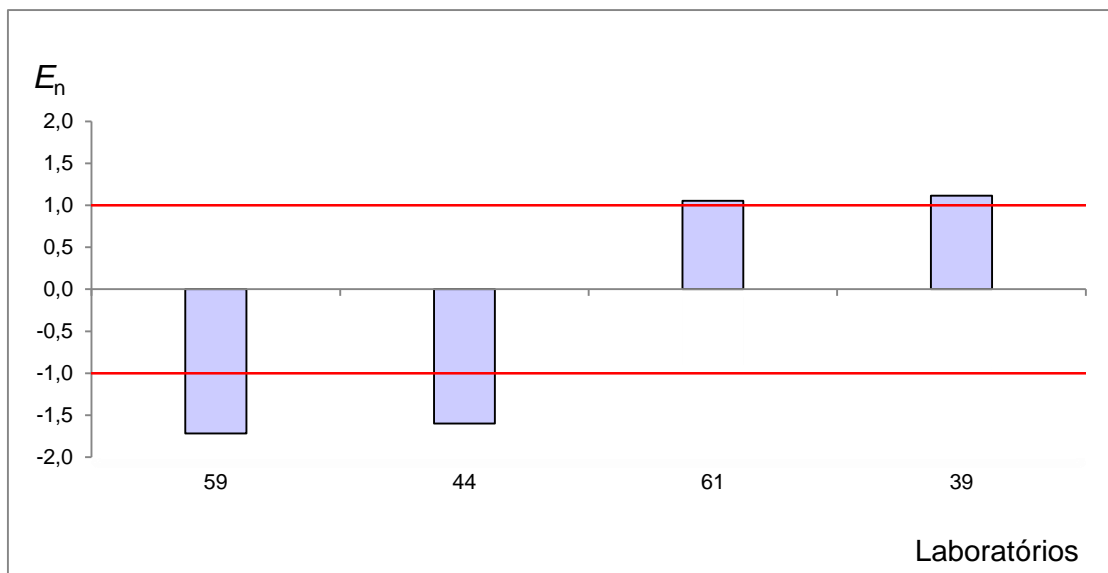


Figura 2 - Gráfico de erro normalizado dos laboratórios participantes.

Dos quatro participantes que reportaram incerteza de medição e o fator de abrangência, no qual também foram avaliados através do erro normalizado, todos apresentaram resultados insatisfatórios.

Cabe salientar que o erro normalizado é apenas um indicativo do desempenho do laboratório, cabendo a cada laboratório participante fazer a sua interpretação e implementar as ações corretivas, caso necessário. Uma estimativa satisfatória da incerteza de medição pode auxiliar o laboratório a identificar as principais fontes de erros sistemáticos e aleatórios e, a partir daí, aprimorar sua metodologia de forma a obter uma melhor exatidão.

6.3. Repetibilidade dos Resultados dos Laboratórios

A Figura 3 apresenta a dispersão dos resultados dos participantes.

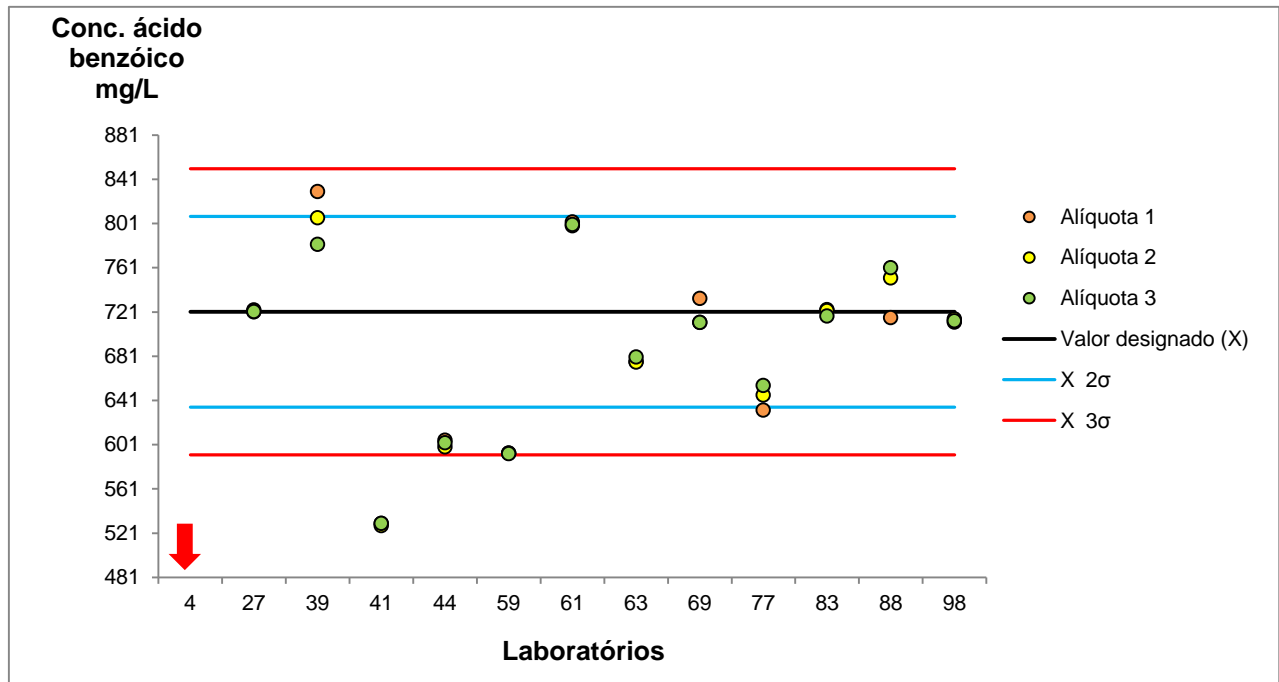


Figura 3 - Dispersão dos resultados dos laboratórios participantes

A partir de uma análise visual do gráfico pode-se observar a incompatibilidade dos laboratórios 4 e 41 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 6.1. Alguns laboratórios obtiveram valores de CV (%) de repetibilidade relativamente próximos e variando entre 0 % e 3 %, o que representa uma variação dentro da normalidade para este nível de concentração. Cabe salientar que esta observação não é válida para os laboratórios que analisaram apenas 3 leituras de uma mesma alíquota, ou repetiram 3 vezes o valor de uma única análise.

É importante que cada laboratório avalie a sua repetibilidade, que pode estar refletida na dispersão encontrada entre suas replicatas, comparando-a com a dos demais laboratórios participantes. Cabe salientar que, quanto menor a repetibilidade 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.

6.4. Observações relativas aos métodos

Na Tabela 6 encontram-se resumidamente informações que foram solicitadas no formulário de registro de resultados, tais como, a técnica empregada, o tipo de calibração, a faixa de recuperação, o volume de amostra e a validação do método, juntamente com os valores encontrados para o

índice z' e para o Erro Normalizado (E_n). 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 6 - Técnica empregada, tipo de calibração, faixa de recuperação, volume de amostra e validação do método.

Lab.	Técnica	Tipo de calibração	Faixa de recuperação (%)	Volume de amostra (mL)	Método validado?	Índice z'	E_n
04	Espectrofotometria	Padronização externa	95	10 mL	Sim	-12,8	-
27	CLAE-UV	Padronização externa	-	5 mL	Sim	0,0	-
39	CLAE-UV	Padronização externa	80-120	0,4 mL	Sim	1,8	1,1
41	CLAE-UV	Padronização externa	94	1 mL	Não	-4,1	-
44	CLAE-UV	Padronização externa	75-125	1 mL	Sim	-2,6	-1,6
59	CLAE-UV	Padronização externa	80-110	2,5 mL	Sim	-2,8	-1,7
61	CLAE-UV	Padronização externa	97,9	1 mL	Sim	1,7	1,1
63	CLAE	Adição de padrão	95	3 mL	Sim	-0,9	-
69	CLAE-UV	Padronização externa	-	2,5 mL	Não	-0,1	-
77	CLAE-UV	Padronização externa	-	1 mL	Não	-1,7	-
83	CLAE-UV	Padronização externa	-	1 mL	Não	0,0	-
88	CLAE-UV	Padronização externa	95-105	2 mL	Não	0,5	-
98	CLAE-UV	Padronização externa	90-107	1 mL	Sim	-0,2	-

Analisando a Tabela 6, 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. O laboratório 4 usou técnica de espectrofotometria e obteve um resultado bem distante do valor designado e dos demais laboratórios. Contudo, devido à complexidade destes procedimentos de análise, não é possível associá-los a qualquer resultado insatisfatório ou questionável. Somente o próprio laboratório poderá fazer essa avaliação e testar outros procedimentos. Cabe observar a importância de se concluir todas as etapas de validação de um método analítico, incluindo a estimativa da incerteza de medição, para que o laboratório possa ter total controle metrológico sobre os seus resultados. Quatro dos oito laboratórios que validaram o método não reportaram a incerteza de medição. Os laboratórios que reportaram a incerteza de medição declararam ter seus métodos validados, contudo, não obtiveram resultados satisfatórios para o Erro Normalizado.

7. Confidencialidade

Cada laboratório foi identificado por código individual que é conhecido somente pelo próprio participante e pela coordenação do EP. O participante recebeu, via e-mail, o seu código de identificação correspondente à sua participação no EP. Este código foi utilizado como identificação do participante no preenchimento do formulário de registro de resultados. Os resultados poderão ser utilizados em trabalhos e publicações pelo Inmetro respeitando-se a confidencialidade de cada participante.

Conforme estabelecido no item 4.10.4 da ABNT ISO/IEC 17043:2011, em circunstâncias excepcionais, uma autoridade reguladora pode requerer os resultados e a identificação dos participantes do EP ao provedor. Se isto ocorrer, o provedor do EP notificará esta ação aos participantes.

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 (69,2%) atingiu o valor de índice z' satisfatório. Contudo, cabe destacar que 30,8% dos laboratórios obtiveram resultado insatisfatório ou questionável. Observando-se a Figura 4, onde são plotados os índices de desempenho dos laboratórios obtidos nesta rodada, juntamente com os índices de desempenho obtidos na 1ª rodada de EP para determinação de ácido benzóico em suco de laranja coordenada pelo Inmetro, podemos concluir que nenhuma mudança significativa ocorreu no desempenho dos participantes, de uma forma geral.

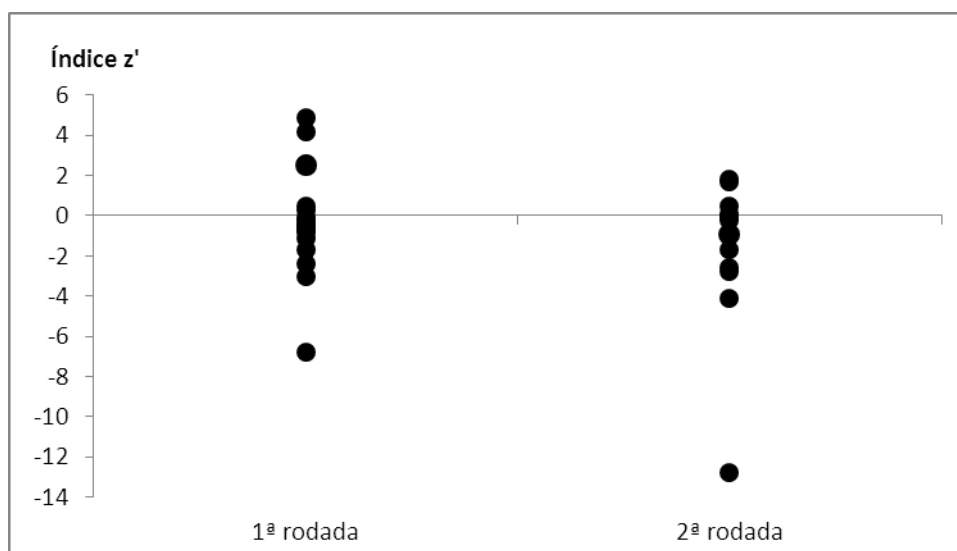


Figura 4 - Índices z' obtidos na 1ª e na 2ª rodada de EP para determinação de ácido benzóico em suco de laranja.

Apenas os participantes de códigos 39, 44, 59, 61 reportaram a incerteza de suas medições e o fator de abrangência, porém todos apresentaram resultados insatisfatórios através do cálculo do erro normalizado. Recomenda-se que estes participantes analisem criticamente o seu método de medição e revejam o seu cálculo para a estimativa da incerteza de medição. É importante realizar o cálculo de estimativa da incerteza de medição de forma correta, contemplando todas as fontes de incerteza que influenciam o resultado da medição.

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.

Cabe aos participantes deste EP avaliarem seus resultados e realizarem uma análise crítica de seu desempenho. A participação dos laboratórios em exercícios de EP é uma forma de aperfeiçoamento e proporciona uma ferramenta para monitorar seus procedimentos de análises rotineiros, visando demonstrar controle sobre suas medições, o que contribui para garantir a melhoria da qualidade de seus resultados e a confiabilidade metrológica de suas medições.

9. Laboratórios participantes

Quinze laboratórios se inscreveram neste EP e apenas treze enviaram seus resultados, conforme lista apresentada na Tabela 7. A numeração que consta na Tabela 6 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 7 - Laboratórios participantes do EP em Sucos – 2ª rodada.

Instituição	
1.	Centro de Qualidade Analítica Ltda CQA Laboratórios
2.	Food Intelligence Laboratório de Análise de Alimentos Ltda
3.	Fundação Ezequiel Dias Laboratório de Análises de Microcomponentes
4.	GTA Gestão e Tecnologia de Alimentos
5.	Instituto de Tecnologia do Paraná Laboratório TECPAR
6.	Laboratório ALAC Ltda Laboratório Alimentos e Bebidas
7.	Lasa Pesquisas Laboratoriais Ltda
8.	MCassab Ind. e Com.

9.	Ministério da Agricultura – Lanagro - GO Laboratório Nacional Agropecuário em Goiás
10.	Ministério da Agricultura – LANAGRO - MG Laboratório Nacional Agropecuário
11.	Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio Laboratório de Referência Enológica
12.	Secretaria Estadual de Saúde Pública do Pará Laboratório Central do Estado do Pará
13.	SFDK Laboratório de Análise de Produtos Ltda

- Total de participantes: 13 laboratórios

10. Referências Bibliográficas

- ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011: Avaliação de Conformidade – Requisitos Gerais para ensaios de proficiência.
- ABNT ISO Guia 35:2012: Materiais de Referência – Princípios Gerais e Estatísticos para Certificação. Primeira edição 06.02.2012.
- Avaliação de dados de medição - Guia para a expressão de incerteza de medição – GUM 2008. Tradução da 1ª edição de 2008 da publicação *Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement – GUM 2008*, do BIPM. Duque de Caxias - RJ, 2012. Publicado pelo Inmetro.
- BRASIL: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria - Anvisa. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1cac3e004edacb17a9e8ab8a610f4177/RDC+N+08++2013+Aditivos+frutas+e+vegetais.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em 24 de novembro de 2014.
- Especial Citricultura. Suco de laranja brasileiro: liderança e tecnologia. Agroanalysis. Setembro de 2009. Disponível em : <http://www.agroanalysis.com.br/especiais_detalle.php?idEspecial=49>. Acesso em 24 de novembro de 2014.
- HORWITZ, W. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Analytical Chemistry*, v. 54, n. 1, p. 67A-76A, Jan. 1982.
- ISO 13528:2005: “*Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*”.
- Neves, Marcos F., Vinícius G. Trombin, P. Milan, Frederico F. Lopes, Francisco Cressoni, e Rafael Kalaki. "O Retrato Da Citricultura Brasileira." Disponível em: <http://www.citrusbr.com.br/download/biblioteca/o_retrato_da_citricultura_brasileira_baixa.pdf>. Acesso em: 19/10/2014.
- *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 2012). 1ª Edição Luso - Brasileira. _____



Programa de Ensaio da Proficiência do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia - PEP-Inmetro
Av. Nossa Senhora das Graças, 50 - Xerém - Duque de Caxias - RJ - Brasil CEP: 25250-020
Tel/Fax: +55 21 2679-9745 - www.inmetro.gov.br - E-mail: pep-inmetro@inmetro.gov.br