



Relatório Final do Programa de Comparação Interlaboratorial – PCI - SO₂
Dióxido de enxofre – Suco de maracujá
Rodada 01 – março - 2014

ORGANIZAÇÃO

Instituto Adolfo Lutz
Centro de Alimentos
Núcleo de Química, Física e Sensorial
Centro de Materiais de Referência
Página na internet: www.ial.sp.gov.br

COORDENAÇÃO

Coordenador Técnico: Jussara Carvalho de Moura Della Torre
Coordenador Técnico Substituto: Maristela Satou Martins
Endereço: Avenida Doutor Arnaldo, nº 355 – Cerqueira César
São Paulo – SP – CEP: 01246-902
Tel: 11 3068-2936 / 2944
E-mail: provedor_alimentos@ial.sp.gov.br

APOIO



Ministério da
**Ciência, Tecnologia
e Inovação**



EQUIPE TÉCNICA

Jussara Carvalho de Moura Della Torre – Pesquisadora Científica – IAL (Centro de Alimentos)
Maristela Satou Martins – Pesquisadora Científica – IAL (Centro de Alimentos)
Regina S. Minazzi Rodrigues – Diretora Técnica I – IAL (Centro de Alimentos)
Deise Aparecida Pinatti Marsiglia – Diretora Técnica II – IAL (Centro de Alimentos)
Anita Akiko Takahashi – Bolsista PAP/FUNDAP (Centro de Alimentos)
Josefa Estela da Conceição Reis - Auxiliar de Serviços – IAL (Centro de Alimentos)
Alice M. Sakuma – Diretora Técnica II – IAL (Centro de Materiais de Referência)
Miriam Solange Fernandes Caruso – Pesquisadora Científica - IAL (Centro de Materiais de Referência)
Camila Cardoso de Oliveira – Pesquisadora Científica – IAL (Centro de Materiais de Referência)

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	3
2.	OBJETIVOS	4
3.	ESCOPO	4
4.	PARTICIPAÇÃO	4
5.	CONFIDENCIALIDADE	4
6.	ITEM DE ENSAIO	5
7.	TESTES DE HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE	5
	7.1 Homogeneidade	5
	7.2 Estabilidade	6
8.	ANÁLISE DOS RESULTADOS E AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS LABORATÓRIOS ...	6
9.	COMENTÁRIOS GERAIS E SUGESTÕES.....	10
10.	RECLAMAÇÕES E CONTESTAÇÕES – ATENDIMENTO AO PARTICIPANTE	12
11.	REFERÊNCIAS	13
	ANEXOS	14
	Anexo A - Relação dos laboratórios participantes	14
	Anexo B - Quadro 1. Informações dos laboratórios sobre métodos analíticos utilizados.....	15
	Anexo B -Quadro 2. Informações adicionais dos métodos, controle de qualidade e participações em programas	17

1. INTRODUÇÃO

O Instituto Adolfo Lutz (IAL), Laboratório Central de Saúde Pública e Instituto de Pesquisa da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo tem contribuído com a promoção da saúde da população com geração de conhecimento, além de produção de bens e serviços no âmbito de sua competência. O IAL busca a melhoria contínua deste serviço com rigor científico, estabelece como prioridade a qualidade e cumpre com os critérios descritos na ABNT NBR/ISO/IEC 17025:2005 (Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração) e 17043:2011 (Avaliação de conformidade – Requisitos gerais para ensaios de proficiência) conforme os requisitos aceitos internacionalmente para provedores de comparação interlaboratorial. Alguns aspectos desta atividade têm como base o IUPAC/ISO/AOAC Protocolo Internacional Harmonizado para Ensaio de Proficiência de Laboratórios Analíticos (Químicos) e ISO 13528:2005 (*Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*).

O Programa de Comparação Interlaboratorial para dióxido de enxofre (PCI - SO₂) em suco integral de maracujá tem o objetivo de oferecer uma ferramenta metrológica para a avaliação de desempenho de laboratórios e, quando necessário, indicar a tomada de ações corretivas para a melhoria da confiabilidade dos resultados.

Os sulfitos ou agentes sulfitantes são aditivos que liberam o dióxido de enxofre (SO₂) nas condições de uso, com as funções de conservador ou antioxidante; são efetivos agentes branqueadores, atuando no controle de reações de escurecimento enzimático e não enzimático e na modificação da estrutura e propriedade funcional das proteínas. Estes compostos são amplamente utilizados em virtude do baixo custo e eficácia. Apesar da elevada aplicabilidade do aditivo, a presença de sulfitos em alimentos tem sido relacionada a certas reações alérgicas em indivíduos sensíveis e asmáticos hipersensíveis. Seu uso como aditivo alimentar é limitado pela Resolução RDC nº 8/2013 da ANVISA/MS, estabelecida com base na segurança de uso e necessidade tecnológica.

Esta Resolução autoriza a adição de compostos de enxofre (dióxido de enxofre, anidrido sulfuroso, sulfito de sódio ou potássio, bissulfito de sódio ou cálcio ou potássio, sulfito ácido de sódio ou cálcio, metabissulfito de sódio ou potássio) em suco, néctar, polpa de fruta, suco tropical e água de coco na função antioxidante, sozinhos ou em combinação, no limite máximo de 0,005 g/100 g ou g/100 mL de SO₂ residual, exceto para a polpa de caju, suco de caju integral, suco de caju clarificado e suco de caju alto teor de polpa, cujo limite máximo é de 0,02 g/100 mL. O presente regulamento revogou a Resolução CNS/MS nº 4/1988, que estabelecia para sucos e néctares o limite máximo de SO₂ residual 0,02 (g/100 mL ou g/100 g) na classe conservador. Ficou também revogada a Resolução RDC nº 12/2002 (ANVISA/MS) que estabelecia o limite máximo de 0,0333 g/100 mL no suco de caju a ser consumido e 0,30 g/100 mL no suco de caju com alto teor de polpa (diluição 1:9). A Resolução RDC nº 8/2013 da ANVISA/MS, em seu artigo 4º estabelece prazo de 24 (vinte e quatro) meses para adequação das empresas ao cumprimento do disposto no regulamento técnico. Salienta-se que a redução nos limites máximos tolerados de SO₂ residual contribuirá para uma diminuição significativa da ingestão de sulfitos, uma vez que as bebidas são a principal fonte de exposição a estes aditivos.

O PCI para dióxido de enxofre em suco de maracujá do Instituto Adolfo Lutz, como ferramenta que possibilita a autoavaliação de desempenho dos laboratórios participantes, propõe as seguintes ações para a análise crítica do seu desempenho a cada rodada:

- comparação dos resultados com os demais laboratórios participantes;
- identificação de erros analíticos ou tendências;

- identificação das causas dos resultados insatisfatórios;
- identificação da necessidade de treinamentos contínuos dos analistas;
- implantação de alterações nos procedimentos analíticos, entre outras ações corretivas.

2. OBJETIVOS

- Contribuir para o aumento da confiança nos resultados das medições dos laboratórios que analisam dióxido de enxofre em suco de fruta;
- Permitir a avaliação do desempenho do laboratório participante na realização do ensaio proposto;
- Contribuir para a melhoria contínua dos procedimentos de medição de cada laboratório;
- Auxiliar no processo de avaliação para a acreditação de laboratórios junto a Coordenação Geral de Acreditação (CGCRE/INMETRO).

3. ESCOPO

Determinação do antioxidante dióxido de enxofre em matriz de suco integral de maracujá na faixa de concentração entre 10 e 300 mg/kg, abrangendo os níveis de concentrações dos ensaios dos laboratórios que atuam na área analítica de alimentos.

4. PARTICIPAÇÃO

Este programa foi destinado a laboratórios públicos e privados, legalmente constituídos, que realizam o ensaio de dióxido de enxofre na área de alimentos e bebidas. Os participantes utilizaram o método analítico de sua escolha, preferencialmente o método empregado em sua rotina. A participação no PCI – SO₂ foi gratuita.

5. CONFIDENCIALIDADE

Todas as informações fornecidas pelo laboratório participante foram tratadas de forma confidencial.

Cada laboratório foi identificado com um código numérico segundo a ordem de retorno dos formulários de registro de resultados ao provedor.

O IAL, provedor do PCI - SO₂, tem o compromisso de manter a confidencialidade de informações específicas dos laboratórios, incluindo identificação, resultados e desempenhos. O provedor poderá divulgar os resultados do programa em eventos e revistas científicas, respeitando-se a confidencialidade de cada laboratório participante. Em circunstâncias excepcionais, por solicitação de autoridades regulamentadoras ou de acreditação, o provedor poderá fornecer os resultados diretamente a estas autoridades. Nestes casos, esta ação será notificada por escrito aos laboratórios envolvidos. O laboratório enviará um acordo também por escrito.

6. ITEM DE ENSAIO

Foi adquirido no mercado nacional suco concentrado de maracujá, de 49,6 °Brix, congelado, isento de aditivos, o qual foi reconstituído a 12,5 °Brix, com água potável desaerada quente (63 °C) e adicionado de solução de metabissulfito de sódio. O suco foi homogeneizado, envasado a quente (48 °C) em garrafas de vidro, com exaustão de gases em túnel de vapor; as garrafas foram fechadas com tampa metálica de rosca, numeradas sequencialmente e pasteurizadas (Figura 1).

Os itens de ensaio foram preparados no Centro de Tecnologia de Frutas e Hortaliças (FRUTHOTEC) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) – Campinas (SP). Foi produzido um lote de 160 unidades, que foi armazenado em câmara fria com controle de temperatura (0 – 8 °C).



Figura 1. Item de ensaio do PCI SO₂ - detalhes do rótulo e divisão do lote em estratos

7. TESTES DE HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE

Com o objetivo de verificar se os itens de ensaio eram adequadamente homogêneos e estáveis para a característica a ser determinada, realizou-se nos laboratórios do Núcleo de Química, Física e Sensorial (NQSA) do Centro de Alimentos (CALI) do IAL, a avaliação da homogeneidade e estabilidade do produto armazenado sob refrigeração (0 – 8 °C).

As determinações de SO₂ total foram realizadas segundo o método Monier-Williams otimizado (AOAC, 2006; Nagato et al., 2013). Os resultados foram avaliados estatisticamente pelo Centro de Materiais de Referência do IAL utilizando a ferramenta análise de dados no Microsoft Excel 2010.

7.1 Homogeneidade

Para compor o estudo de homogeneidade entre frascos, seguiu-se amostragem aleatória estratificada, a partir da divisão do lote em 12 estratos com 13 unidades cada, sendo realizado sorteio de uma unidade em cada estrato, perfazendo um total de 12 unidades. Em cada frasco foi realizada análise em duplicata em ordem aleatória, sob condições de repetibilidade.

A avaliação estatística dos resultados de homogeneidade entre frascos seguiu os critérios estabelecidos no Protocolo Internacional Harmonizado para Ensaio de Proficiência de Laboratórios Analíticos (Químicos) da IUPAC/ISO/AOAC.

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro Wilk, com 95% de confiança e não foi verificada a presença de valores discrepantes ou *outliers*, tendências, descontinuidade ou algum outro efeito sistemático nos resultados das replicatas.

Os itens de ensaio de suco de maracujá se apresentaram suficientemente homogêneos com relação aos teores de dióxido de enxofre.

7.2 Estabilidade

Para avaliar a estabilidade do SO₂ dos itens de ensaio foi conduzido um estudo de estabilidade clássico de curta duração. Visando garantir a estabilidade até a conclusão da rodada, os itens de ensaio foram avaliados abrangendo o período de sua produção até o término da rodada. Semanalmente, foram selecionados aleatoriamente 2 frascos, sendo analisados em triplicata em condições de repetibilidade.

Na avaliação estatística, inicialmente, verificou-se a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk com 95% de confiança, não sendo verificada a presença de valores discrepantes por meio dos testes de Grubbs (para um único valor discrepante, para um par de valores discrepantes em extremidades opostas do conjunto de dados e para um par de valores discrepantes do mesmo lado do conjunto de dados), com 95% de confiança.

As variâncias dos resultados obtidos na data da produção e no término da rodada foram consideradas homogêneas segundo o teste F e as médias dos resultados foram consideradas estatisticamente equivalentes de acordo com o teste t-Student, ambos com 95% de confiança.

Os itens de ensaio foram considerados suficientemente estáveis para a finalidade deste programa.

8. ANÁLISE DOS RESULTADOS E AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS LABORATÓRIOS

A lista dos laboratórios que enviaram os resultados à coordenação do programa é apresentada no Anexo A (Relação dos laboratórios participantes). O Quadro 1 apresenta os resultados de dióxido de enxofre total (mg/kg) em suco de maracujá para as três replicatas, valor médio das análises, desvio padrão e coeficiente de variação (CV) dos laboratórios participantes do PCI – SO₂.

O valor designado foi obtido por consenso entre os resultados médios considerados estatisticamente válidos apresentados pelos participantes, ou seja, resultados médios que se situavam dentro da faixa de 50% da mediana.

O tratamento estatístico adotado para determinar o valor designado foi a média robusta calculada de acordo com o Algoritmo A, descrito na norma ISO 13528:2005 e a incerteza padrão do valor designado foi estimada por meio da Equação 1.

$$u_x = \frac{1,25 \cdot s^*}{\sqrt{p}}, \quad (\text{Equação 1})$$

Onde s^* = desvio padrão robusto calculado de acordo com o Algoritmo A e p = número de laboratórios participantes da rodada que apresentaram resultados estatisticamente válidos.

Quadro 1. Resultados individuais e estatísticas dos laboratórios participantes do PCI - SO₂.

Código do laboratório	Resultados individuais dos laboratórios SO ₂ total (mg/kg)			Valores médios dos resultados dos laboratórios SO ₂ total (mg/kg)	Desvio Padrão (mg/kg)	CV (%)
	Replicatas					
1	169	166	163	166	3	2
2	251	251	251	251	0	0
3	139	140	137	139	2	1
4	129	132	134	132	3	2
5	50	50	50	50	0	0
6	183,4	182,1	183,4	183	1	0
7	194	191	193	193	2	1
8	158,50	156,90	157,00	157	1	1
9	144	128	128	133	9	7
10	237	226	235	233	6	3
11	151	152	151	151	1	0
12	149	150	150	150	1	0
13	158	157	159	158	1	1
14	25	30	30	28	3	10
15	156	153	157	155	2	1
16	301	297	296	298	3	1
17	182	181	176	180	3	2

O desvio padrão para avaliação de proficiência ($\hat{\sigma}$) foi derivado de um modelo geral de reprodutibilidade para o método de medição (modelo de Horwitz), conforme item 6.4 da norma ISO 13528:2005 e calculado por meio da Equação 2.

$$\hat{\sigma} = \frac{0,02c^{0,8495}}{mr}, \text{ se } 1,2 \cdot 10^{-7} \leq c \leq 0,138 \text{ ,} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde $\hat{\sigma}$ = desvio padrão de Horwitz; c = valor designado expresso como razão adimensional da massa; mr = razão adimensional da massa.

A incerteza do valor designado foi 9 mg/kg, correspondendo a $0,75 \hat{\sigma}$; preferencialmente, esta incerteza deveria ser menor que $0,3 \hat{\sigma}$.

A Tabela 1 apresenta as estatísticas que caracterizam o item de ensaio.

Tabela 1. Resumo da avaliação estatística do item de ensaio

Valor designado* (X , mg/kg)	161
Incerteza do valor designado* (u_x , mg/kg)	9
Desvio padrão para avaliação de proficiência ($\hat{\sigma}$, mg/kg)	12
CV (%)	7
Valor mínimo (mg/kg)	28
Valor máximo (mg/kg)	298
Amplitude (mg/kg)	270
Número de laboratórios	17

*Valor obtido a partir de 13 resultados considerados estatisticamente válidos

O desempenho de cada laboratório foi avaliado segundo o índice z , calculado de acordo com a Equação 3.

$$z = \frac{x_i - X}{\hat{\sigma}}, \quad (\text{Equação 3})$$

Onde x_i = média dos valores relatados pelo participante i ; X = valor designado (média robusta calculada de acordo com o algoritmo A, como descrito na ISO13528); $\hat{\sigma}$ = desvio padrão para avaliação de proficiência (desvio padrão de Horwitz).

O desempenho dos laboratórios foi classificado de acordo com o índice z , como descrito a seguir:

$|z| \leq 2$ - desempenho satisfatório ou aceitável;

$2 < |z| < 3$ - desempenho questionável;

$|z| \geq 3$ - desempenho insatisfatório ou inaceitável.

O Quadro 2 apresenta as respectivas avaliações de desempenho expressas através do índice z , dos 17 laboratórios participantes e a Figura 2 apresenta gráfico com os resultados do índice z e posição do laboratório frente ao intervalo de aceitação.

Quadro 2. Valores do índice z obtidos pelos laboratórios participantes do PCI - SO₂.

Código do laboratório	Índice z	Desempenho dos laboratórios
1	0,4	Satisfatório
2*	7,5	Insatisfatório
3	-1,8	Satisfatório
4	-2,4	Questionável
5*	-9,3	Insatisfatório
6	1,8	Satisfatório
7	2,7	Questionável
8	-0,3	Satisfatório
9	-2,3	Questionável
10	6,0	Insatisfatório
11	-0,8	Satisfatório
12	-0,9	Satisfatório
13	-0,3	Satisfatório
14*	-11,1	Insatisfatório
15	-0,5	Satisfatório
16*	11,4	Insatisfatório
17	1,6	Satisfatório

*Laboratórios que apresentaram resultados considerados estatisticamente inválidos (fora da faixa de 50% da mediana)

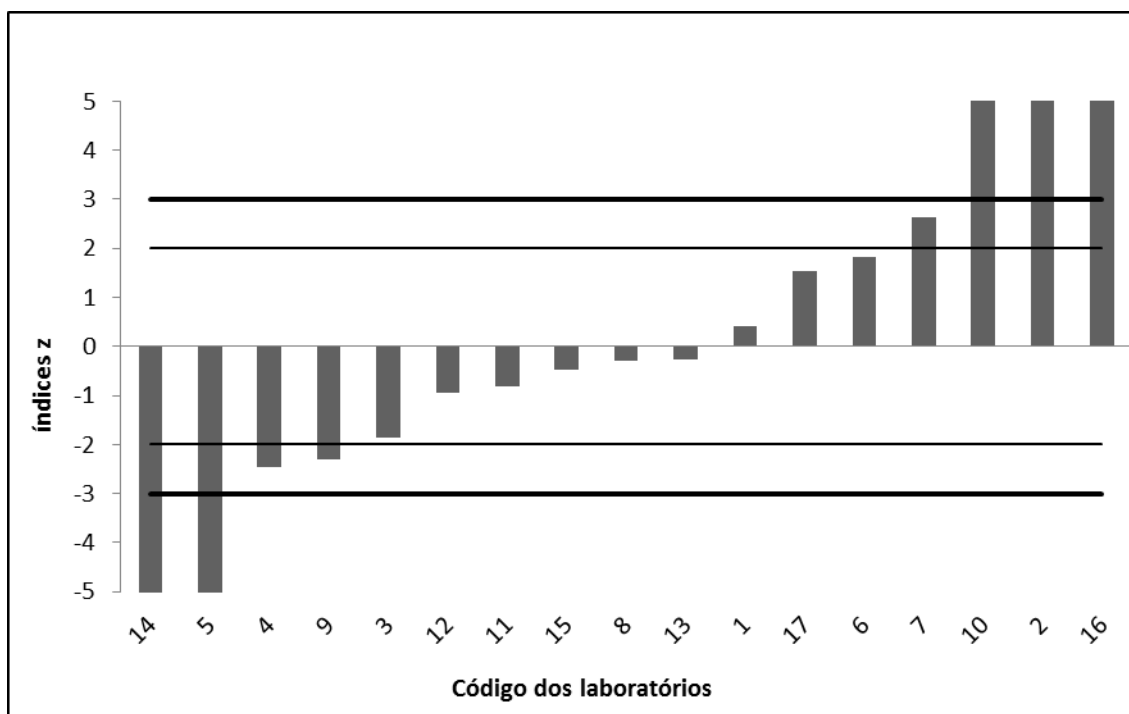


Figura 2. Histograma de desempenho dos laboratórios participantes do PCI para determinação de SO₂ em suco de maracujá, segundo índice z.

Nesta rodada, de um total de dezessete laboratórios que reportaram seus resultados, 9 apresentaram desempenho satisfatório (53%), 3, desempenho questionável (18%), e 5 apresentaram desempenho insatisfatório (29%). O percentual de laboratórios que obtiveram desempenho questionável ou insatisfatório evidencia a necessidade de investigação das causas e tomada de ações corretivas.

Sugere-se a estes laboratórios que verifiquem ao menos os seguintes itens: adequação do método/técnica à matriz, treinamento do analista, calibração de equipamentos e vidrarias, composição e concentração dos reagentes e soluções padrão, ou validação da metodologia analítica.

Após efetuar todas as verificações e ações corretivas, preventivas ou de melhoria pertinentes, recomenda-se a execução do ensaio em material de referência certificado, preferencialmente, de produtor acreditado segundo requisitos da ABNT ISO Guia 34, e a participação em outras rodadas de PCI com a mesma matriz ou matriz semelhante na mesma faixa de trabalho, organizadas, principalmente, por provedor que atenda aos requisitos da ABNT NBR ISO/IEC 17043.

9. COMENTÁRIOS GERAIS E SUGESTÕES

Além dos resultados, expressos em mg/kg, foi, também, solicitado aos laboratórios participantes informações adicionais sobre detalhes da metodologia analítica utilizada nos ensaios, a saber: Limite de Quantificação (LOQ), incerteza expandida (U), exatidão, método/técnica, referência, modificações, validação, acreditação, princípio do método, massa de amostra, etapa de acidificação, tempo de refluxo, branco de reagentes, uso de amostras de controle de qualidade e participações anteriores em outros PCIs ou EPs. As respostas estão apresentadas nos Quadros 1 e 2 do Anexo B.

Com base nas informações dos laboratórios (Anexo B), verifica-se que 59% (10) dos laboratórios utilizaram o método Monier-Williams, 29% (5) utilizaram titulométrico com iodo sendo 2 citações do Método Ripper, 6% (1) titulométrico do iodo residual com tiosulfato de sódio e 6% (1) cromatografia líquida com derivatização pós-coluna.

Os métodos utilizados se encontravam validados em 41% (7) dos casos, acreditados em 29% (5) e apresentavam cálculo da estimativa da incerteza (U) para 12% (2). A metodologia foi modificada em 24% (4) dos casos e é utilizada na rotina para 71% (12) dos laboratórios, no entanto, dois deles utilizam o método na rotina da análise de vinhos e vinagres, sendo testado experimentalmente para suco de maracujá. Outro laboratório testou pela primeira vez o método Monier-Williams para suco de maracujá.

O princípio do método foi titulométrico com uso de NaOH para 53% (9) dos laboratórios, titulométrico com iodo para 35% (6), titulométrico com tiosulfato para 6 % (1) e LC-UV (cromatografia líquida de alta eficiência) para 6% (1). A massa na tomada da amostra para a análise foi variada, sendo que 56% (8) dos laboratórios utilizaram entre 10 e 25 g. Na etapa de acidificação, 53% (9) dos laboratórios fizeram uso do ácido clorídrico, 18% (3) ácido fosfórico, 18% (3) ácido sulfúrico, 6% (1) solução manitol HCL e 6% (1) não realizou acidificação.

O tempo total de refluxo a partir da fervura foi variado entre os participantes, tendo-se 35% (6) dos laboratórios utilizado o tempo ≥ 100 minutos e 24 % (4) não utilizou refluxo. A maioria, ou 82% (14), dos laboratórios realizou branco de reagentes.

A utilização de amostra de controle de qualidade (material de referência, amostra fortificada, uso de fator de correção de recuperação, etc.) foi reportada por 47% (8) dos laboratórios. Participações prévias em outros PCIs ou ensaios de proficiência foram reportados por 35 % (6) dos laboratórios, contudo nesta estatística deve-se, também, considerar a possibilidade de participação com outras matrizes e outros analitos.

Relacionando as informações do Anexo B com o desempenho dos resultados dos laboratórios tem-se:

Dos 10 laboratórios que utilizaram o método Monier-Williams, 70% (7) apresentaram desempenho satisfatório, 20% (2) questionável ($z = -2,4$ e $z = 2,7$) e 10% (1) insatisfatório ($z = -11,1$), tendo este último utilizado o método pela primeira vez para suco de maracujá, devendo verificar com detalhes o seu procedimento para rastrear as possíveis causas da obtenção do resultado insatisfatório.

Dentre os outros métodos citados, 1 laboratório utilizou a técnica cromatográfica com resultado satisfatório ($z = -0,5$), 1 laboratório empregou a técnica titulométrica do iodo residual com tiosulfato de sódio, com resultado questionável ($z = -2,3$) e 5 laboratórios utilizaram a técnica titulométrica com iodo, tendo sido obtidos 4 resultados insatisfatórios (sendo 1 Método Ripper com titulador automático) e 1 resultado satisfatório ($z = 1,8$ - Método Ripper sem etapa de acidificação).

Vahl e Converse (1980), em estudo colaborativo com 23 laboratórios participantes para avaliar o procedimento Ripper (titulação iodométrica direta) na determinação de SO₂ (livre, total e substâncias redutoras de iodo que não SO₂) em vinho tinto e branco, reportam que o método, embora rápido, apresenta severa limitação pela baixa precisão com muitos erros sistemáticos. Ao final do estudo, conclui-se que o procedimento Ripper não poderia ser adotado como método oficial da AOAC e não é recomendado para determinação de SO₂ total para fins regulatórios.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), de acordo com a Instrução Normativa nº 24/2005, aprovou o Manual Operacional de Bebidas e Vinagres, onde os Métodos de Análise de Bebidas

Fermentadas, Destiladas, Não Alcoólicas e de Vinagre passaram a constituir padrões oficiais para análise físico-química. Neste manual constam para a determinação de dióxido de enxofre, os métodos 03, 10 e 16. O método 03, Monier Williams modificado por Shipton, aplica-se a bebidas não alcoólicas, como é o caso do item de ensaio deste PCI, e os métodos 10 (titulação iodométrica direta) e 16 (titulação do iodo residual com tiosulfato) devem ser aplicados a vinagre e fermentados alcoólicos, respectivamente. O método 10 ressalta que outras substâncias (interferentes) podem ser oxidadas pelo iodo em meio ácido, que seria o caso do ácido ascórbico presente no item de ensaio deste PCI, resultando valores de SO₂ presumidamente maiores que o verdadeiro.

Um laboratório afirmou utilizar como referência, a Portaria nº 76/1986, do MAPA, revogada pela IN nº 24/2005; recomenda-se ao mesmo se adequar a legislação em vigor.

Devido ao elevado percentual de resultados de desempenho insatisfatórios para o procedimento titulométrico com iodo, a coordenação deste PCI sugere aos laboratórios uma revisão do método utilizado para determinação de SO₂ em suco de fruta, de acordo com os métodos oficiais de análise preconizados segundo a Instrução Normativa nº 24/2005, MAPA (Método 3) e AOAC (Chapter 47 - Official Method 990.28).

As possíveis fontes de erro nas análises de dióxido de enxofre são, em geral, devido a: instabilidade do analito, interferentes da matriz, massa da amostra, tipo do ácido e pH da solução de extração, concentração da solução titulante, dificuldade na visualização do ponto de viragem para o indicador utilizado, temperaturas e tempo de aquecimento, velocidade do fluxo de gás inerte ou, não execução da análise do branco dos reagentes.

Alguns cuidados práticos podem contribuir para a minimização das perdas devido à instabilidade do SO₂ como: proceder todas as replicatas em condições de repetibilidade (no mesmo dia e menor tempo), e borbulhamento de gás inerte (nitrogênio) dentro do frasco de suco entre as replicatas, reduzindo a exposição da amostra ao oxigênio.

Neste PCI, o elevado percentual de resultados questionáveis ou insatisfatórios (47%) pode ser atribuído à perda do dióxido de enxofre no manuseio da amostra, presença de interferentes, ou uso de métodos não validados ou não adequados para esta matriz.

10. RECLAMAÇÕES E CONTESTAÇÕES – ATENDIMENTO AO PARTICIPANTE

O provedor do PCI - SO₂ tem disponibilidade para cooperar com os laboratórios participantes e outros clientes, no atendimento às solicitações, contestações, apelações, reclamações, dúvidas e sugestões encaminhadas **por escrito**. O provedor compromete-se a corrigir prontamente qualquer equívoco que tenha cometido.

O provedor também busca a avaliação dos participantes, tanto positiva quanto negativa, com o objetivo de aperfeiçoar o sistema de gestão do Programa e os serviços prestados aos clientes.

11. REFERÊNCIAS

- ABNT ISO Guia 34. Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência. 2012. 41p.
- ABNT NBR ISO/IEC 17025: Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005. 20p.
- ABNT NBR ISO/IEC 17043 – Avaliação de conformidade – Requisitos gerais para ensaios de proficiência. Rio de Janeiro, 2011. 46p.
- AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC Official Method 990.28. Sulfites in Foods. Optimized Monier-Williams Method. 18th ed. Gaithersburg (MD); 2006. Chapter 47. Section 47.3.43, p.29-31.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. Instrução Normativa nº 24, de 08 de setembro de 2005. Aprova o Manual Operacional de Bebidas e Vinagres. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta> Acesso em: 31 jan 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC nº 8, de 06 de março de 2013. Aprovam as listas positivas de aditivos alimentares com suas respectivas funções para a fabricação de produtos de frutas e de vegetais. Disponível em; <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 20 jan 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 10 de janeiro de 2002. Aprova a Extensão de uso do aditivo INS 220, dióxido de enxofre na função de conservador para suco de caju. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 14 jan. 2002. Seção 1, nº 9. p.51.
- BRASIL. Ministério da Saúde. CNS. Resolução nº 4, de 24 de novembro de 1988. Aprova a revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a aditivos intencionais, bem como os anexos I, II, III e VII, todos do Decreto nº 55.871, de 26/03/1965. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 19 dez 1988. p.24.716-24.723.
- ISO 13528:2005: Statistical methods for use in proficiency testing by Interlaboratorial comparisons. Geneva, Switzerland (2005).
- NAGATO, LAF; TAKEMOTO, E.; DELLA TORRE, JCM; LICHTIG, J. Verificação do método Monier-Williams otimizado na determinação de dióxido de enxofre em sucos de frutas, água de coco e cogumelo em conserva. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 72(1) 2013 (no prelo).
- THOMPSON, M., et al. IUPAC/ISO/AOAC. Protocolo internacional harmonizado para ensaios de proficiência de laboratórios analíticos (químicos), 2006. Pure Appl. Chem., v.78, n.1, p.105-196, 2006. Versão traduzida. Disponível em: www.inmetro.gov.br/credenciamento/CT/ProtocoloHarmonizado.pdf.
- VAHL, J.M.; CONVERSE, J.E. Ripper procedure for determining sulfur dioxide in wine: collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., v.63, n.2, p.194-199, 1980.

ANEXOS

Anexo A - Relação dos laboratórios participantes

CETAL S/C LTDA – Laboratório Físico-químico (Mogi das Cruzes – SP)

COVISA – Coordenação de Vigilância em Saúde – Prefeitura do Município de São Paulo – Secretaria Municipal da Saúde – Laboratório de Controle de Qualidade em Saúde – Seção Técnica de Aditivos e Micotoxinas (São Paulo – SP)

FOOD INTELLIGENCE LABORATÓRIO DE ANÁLISE DE ALIMENTOS LTDA – Laboratório Físico-Químico (São Paulo – SP)

IAL – Instituto Adolfo Lutz – Núcleo de Química, Física e Sensorial – Centro de Alimentos (São Paulo - SP)

IAL – Instituto Adolfo Lutz – Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto – Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas (Ribeirão Preto – SP)

ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos – CCQA – Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos (Campinas – SP)

LABORATÓRIO ALAC LTDA – Departamento de Alimentos – Laboratório de Bebidas (Garibaldi – RS)

LACEN/CE – Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Ceará – Laboratório Físico-Químico de Alimentos (Fortaleza – CE)

LACEN/GO – Laboratório de Saúde Pública Dr Giovanni Cysneiros – Seção de Físico Química de Alimentos – Divisão de produtos (Goiânia – GO)

LANAGRO/MG – Laboratório Nacional Agropecuário – Laboratório de Controle de Qualidade e Segurança Alimentar (Belo Horizonte – MG)

LANAGRO/RS – Laboratório Nacional Agropecuário no RS – Ministério da Agricultura – LABV – Laboratório de Análises de Bebidas e Vinagres (Porto Alegre – RS) – Lab 1

LANAGRO/RS – Laboratório Nacional Agropecuário no RS – Ministério da Agricultura – LABV – Laboratório de Análises de Bebidas e Vinagres (Porto Alegre – RS) – Lab 2

NESTLÉ QUALITY ASSURANCE CENTER – NQAC-SP – Laboratório Físico-Química (São Paulo – SP)

QUALISTATUS ANALÍTICA E CONSULTORIA S/S LTDA (Viamão – RS)

SFDK LABORATÓRIO DE ANÁLISES DE PRODUTOS LTDA (São Paulo – SP)

TECAM Tecnologia Ambiental – Laboratório FQ – Alimentos (São Paulo – SP)

TECPAR – Instituto de Tecnologia do Paraná – Centro de Ensaios Tecnológicos – LABAM – Laboratório de Alimentos e Medicamentos (Curitiba – PR)

Anexo B - Quadro 1. Informações dos laboratórios sobre métodos analíticos utilizados

Código laboratório	Método/Técnica	Referência	LOQ (mg/kg)	U (mg/kg)	Exatidão (%)	Método Monier-Williams	Método com modificação	Método validado	Ensaio acreditado	Método usado	Realizado branco de reagentes
01	-----	Pearson, D. The Chemical Analysis of Foods, 7 th ed, 1976, p. 31-33.	---	---	---	Sim	Não	Não	Não	Rotina	Sim
02	****	****	---	---	---	Não	----	-----	-----	Rotina	Sim
03	-----	Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos 4ed. Instituto Adolfo Lutz. 2005. Tec 50/IV.	0,01	---	90	Sim	Não	Sim	Não	Rotina	Sim
04	Deslocamento do dióxido de enxofre livre ou combinado, em presença de ácido, seguido de destilação por arraste de vapor em corrente de nitrogênio. O dióxido de enxofre é coletado em solução de peróxido de hidrogênio, onde é oxidado a ácido sulfúrico, o qual é titulado com uma base.	HORWITZ, W.; LATIMER JR., GEORGE W. (Ed.). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists . 18 th ed. 2005. Current Through Revision 3, 2010. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2010. Chapter 47, met. 990.28, p. 29	---	---	---	Sim	Não	Não	Não	Rotina	Sim
05	Titulação com iodo	INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. Capítulo Cinco: Aditivos, Método 5.3.1.2.1: Titulação com iodo . P.73. 2 ^a ed., São Paulo, 1976.	---	---	---	Não	Não	Não	Não	Rotina	Sim
06	Método de Ripper	Zoecklein, B.W.; Fugellsang, K. C.; et al, Wine analysis and production, New York, 1995.	---	---	---	Não	Não	Não	Não	Rotina	Não
07	-----	Normas Analíticas Instituto Adolfo Lutz – IV Ed. – 2005	---	---	---	Sim	Não	Não	Não	Rotina	Sim
08	Determinação de anidrido sulfuroso e sulfitos em alimentos	MAPA nº 24, 08/09/05	10	10	---	Sim	Não	Não	Sim	Rotina	Sim
09	Titulométrica	Ministério da Agricultura. Portaria nº 76 de 26 de novembro de 1986. Métodos analíticos de bebidas e vinagre.	---	---	---	Não	Não	Sim	Não	Esporádico	Sim
10	Dióxido de enxofre total	Rizzon, L. A. Metodologias para análise de mosto e suco de uva, Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnol., 2010.	---	8*	----	Não	Não	Sim**	Não	Esporádico	Não
11	Determinação de dióxido de enxofre IE – LABAM 239 REV.A	A.O.A.C. – Official Methods of analysis, 18 th ed., 2005, Official Methods 995.05.Sulfites in foods.	---	---	---	Sim	Sim: quantidade de amostra e suprimida a etapa da diluição	Não	Não	Esporádico	Sim
12	Monier Williams	AOAC MÉTODO 990.28, 19 th edição 2012	---	---	---	Sim	Não	Não	Sim	Esporadicamente	Sim

Código laboratório	Método/Técnica	Referência	LOQ (mg/kg)	U (mg/kg)	Exatidão (%)	Método Monier-Williams	Método com modificação	Método validado	Ensaio acreditado	Método usado	Realizado branco de reagentes
13	Monier-Williams modificado	MAPA IN 24 (2005) método 16 para VINHOS (com modificação)	---	---	---	Sim	Sim: adaptado para destilador por arraste a vapor; titulação com iodo	Sim: diretriz OIV (para vinhos)	Sim: auditado pela CGCRE	Rotina para vinhos; método foi testado experimentalmente para suco de maracujá	Sim
14	-----	EM 1990R2676 (2005); AOAC Official Method 990.28 (2005); IAL 050IV (2005)	---	---	---	Sim	Não	Não	Não	Testado pela primeira vez para suco de maracujá	Não
15	Cromatografia Líquida com derivatização Pós-Coluna e Detecção de UV	PERFETTI & DIACHENKO: J. AOAC International. Vol 86 n° 3, 2003 – Determination of sulfite in Dried Garlic by Reversed-Phase I-Pairing Liquid Chromatography with Post-Column Detection	6,0	---	94	Não	Sim: remoção etapa clean-up	Sim	Sim	Rotina	Sim
16	Método Ripper com titulador automático	OIV, 2013 (MA-AS323-04B)	---	---	---	Não	Não	Sim***	Sim (credenciado mapa)	Rotina para vinhos e vinagres mas não para sucos	Sim
17	Método quantitativo de Monier-Williams modificado	AOAC. 2006. Official Method 990.28. Sulfites in Foods. Optimized Monier-Williams Method.	7,0	----	81-115	Sim	Sim	Sim	Não	Rotina	Sim

*(k=1,96 com 95% de confiança)

**Diretriz manual de garantia de qualidade analítica (MAPA)

***Diretriz: Comparação com o método de destilação seguida de titulometria (MAPA IN 24 de 08/09/2005)

****Método/técnica e referência reportados pelo laboratório participante tratam-se de documentos internos da instituição que foram omitidos para preservar a confidencialidade.

Anexo B - Quadro 2. Informações adicionais dos métodos, controle de qualidade e participações em programas

Código laboratório	Princípio do método	Massa da amostra (g)	Acidificação da amostra / concentração	Tempo (min) total de refluxo – a partir da fervura	Utiliza amostras de controle de qualidade	Participação anterior de PCI ou EP
01	Titulométrico com NaOH 0,05 M	≥ 50	HCl concentrado 37%	≥30 - <40	Sim: amostra fortificada	Sim: EP/INCQS
02	Titulométrico com iodo	≥10 - <25	Ácido fosfórico	≥40 - <60	Sim: padrão de sulfito e fator de correção de recuperação	Sim: INTERLAB- Programa de ensaio de proficiência – determinações químicas em alimentos
03	Titulométrico com NaOH	≥50	HCl	≥100	Não	Não
04	Titulométrico com NaOH 0,01 N	≥25 - <50	HCl 4N	≥100	Não	Não
05	Titulométrico com iodo	≥10 - <25	Ácido fosfórico	≥80 - <100	Sim: solução padrão de sulfito 1,25%	Não
06	Titulométrico com iodo	≥10 - <25	Não realizado	Não realizado	Não	Sim: Interlaboratorial rede metrológica RS e PEP DIMCI
07	Titulométrico com NaOH 0,05 N	≥25 - <50	HCl concentrado	≥60 - <80	Não	Não
08	Titulométrico com NaOH 0,05 Mol/L	≥50	HCl 10 Mol/L	≥30 - <40	Não	Não
09	Titulométrico com tiosulfato de sódio 0,05	≥10 - <25	HCl	≥100	Não	Não
10	Titulométrico com solução de iodo 0,02 N	≥5 - <10	H ₂ SO ₄ a 30%	Não realizado	Não	Não
11	Titulométrico com NaOH 0,01 N	≥10 - <25	HCl 4N	≥100	Não	Não
12	Titulométrico com NaOH 0,01 N	≥10 - <25	HCL 1:2	≥100	Sim: material de referência metabissulfito de potássio	Não

Código laboratório	Princípio do método	Massa da amostra (g)	Acidificação da amostra / concentração	Tempo (min) total de refluxo – a partir da fervura	Utiliza amostras de controle de qualidade	Participação anterior de PCI ou EP
13	Titulométrico com iodo	≥10 - <25	Ácido sulfúrico 1:10	<10	Sim: solução de sulfito titulada a cada prova, para controle de recuperação	Sim: Rede metrológica (para vinhos)
14	Titulométrico com NaOH 0,01 N	≥10 - <25	Ácido fosfórico 85%; 5 mL	≥100	Sim: vinho	Não
15	LC-UV	<1	Solução de Manitol HCl	Não realizado	Sim: açúcar	Sim: FAPAS
16	Titulométrico com iodo	≥10 - <25	H ₂ SO ₄ 10%	Não realizado	Sim: solução de sulfito de sódio 350 mg/L	Sim: Rede Metrológica RS (SO ₂ para vinho)
17	Titulométrico com NaOH 0,05 M	≥50	HCl 4 M	≥60 - <80	Não	Não