



## RELATÓRIO FINAL DO PROGRAMA DE COMPARAÇÃO INTERLABORATORIAL

PCI Nitritos e Nitratos em Salsichão tipo Lionês

Rodada 01 – novembro 2014 - fevereiro de 2015

### ORGANIZAÇÃO

Instituto Adolfo Lutz

Centro de Alimentos

Núcleo de Química, Física e Sensorial

Centro de Materiais de Referência

### COORDENAÇÃO

Coordenadora Técnica: Jussara Carvalho de Moura Della Torre

Coordenadora Técnica substituta: Maristela Satou Martins

Endereço: Avenida Doutor Arnaldo, nº 355 – Cerqueira César

São Paulo – SP – CEP: 01246-902

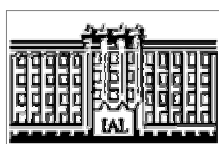
Tel: (11) 3068-2936 / 2944

E-mail: [provedor\\_alimentos@ial.sp.gov.br](mailto:provedor_alimentos@ial.sp.gov.br)

### AUTORIZAÇÃO DA EMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL

Autorizada a emissão: 20/02/2015

Jussara C. de Moura Della Torre  
(Coordenadora Técnica)



Ministério da  
Ciência, Tecnologia  
e Inovação



**APOIO:** Rede Nacional de Análise de Alimentos (RENALI) / Sistema Brasileiro de Tecnologia (SIBRATEC) / FINEP / 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)

Miriam Solange F. Caruso – Pesquisadora Científica – IAL (Centro de Materiais de Referência)

Camila Cardoso de Oliveira – Pesquisadora Científica – IAL (Centro de Materiais de Referência)

Regina Sorrentino Minazzi Rodrigues – Diretora Técnica I – IAL (Centro de Alimentos)

Deise Aparecida Pinatti Marsiglia – Diretora Técnica II – IAL (Centro de Alimentos)

Alice Momoyo Sakuma – Diretora Técnica II – IAL (Centro de Materiais de Referência)

Luciana de Oliveira – Bolsista FUNDAP (Centro de Alimentos)

Jéssica Veridiana Gonçalves Santiago – Bolsista FUNDAP (Centro de Alimentos)

Lídia Berenice Chasin - Bolsista CNPQ (Centro de Alimentos)

Silvia Rousane F. da Silva - Bolsista CNPQ (Centro de Alimentos)

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	4
2.	OBJETIVOS .....	5
3.	ESCOPO .....	6
4.	SERVIÇOS SUBCONTRATADOS .....	6
5.	PARTICIPAÇÃO .....	6
6.	CONFIDENCIALIDADE .....	6
7.	ITEM DE ENSAIO .....	7
8.	TESTES DE HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE .....	8
	8.1 Homogeneidade .....	8
	8.2 Estabilidade .....	9
9.	ANÁLISE DOS RESULTADOS, DECLARAÇÃO DA INCERTEZA DO VALOR DESIGNADO E AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS PARTICIPANTES .....	9
10	COMENTÁRIOS E RECOMENDAÇÕES .....	16
11.	ATENDIMENTO AO PARTICIPANTE, RECLAMAÇÕES E CONTESTAÇÕES .....	20
12.	USO DOS RESULTADOS PELAS PARTES INTERESSADAS .....	21
13.	REFERÊNCIAS .....	21
ANEXOS		
	Anexo A - Relação dos laboratórios participantes .....	23
	Anexo B - Quadro 1. Informações dos laboratórios sobre os métodos utilizados e controle de qualidade analítica .....	25
	Anexo B - Quadro 2. Informações adicionais dos laboratórios sobre os métodos e participações em programas .....	30

## 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 para a promoção da saúde da população com geração de conhecimento, além de produção de bens e serviços no âmbito de sua competência. Busca a melhoria contínua do serviço com rigor científico, estabelece como prioridade a qualidade e cumpre com critérios descritos nas normas ABNT NBR/ISO/IEC 17025:2005 (Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração) e ABNT NBR/ISO/IEC 17043:2011 (Avaliação de conformidade – Requisitos gerais para ensaios de proficiência). Alguns aspectos da atividade têm como base o IUPAC/ISO/AOAC Protocolo Internacional Harmonizado para Ensaios de Proficiência de Laboratórios Analíticos (Químicos), ISO 13528:2005 (*Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*) e ABNT ISO Guia 35 (Materiais de Referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação).

O Provedor do Programa de comparação interlaboratorial para nitritos e nitratos em produtos cárneos tem por objetivo oferecer uma ferramenta metrológica para avaliação do desempenho de laboratórios. A participação em programas como este, possibilita a tomada de ações corretivas e/ou preventivas, se pertinentes; propicia uma avaliação da eficiência de controles internos do laboratório, auxilia na validação ou verificação do método de análise e reconhecimento de competência na realização de ensaios, em nível nacional e internacional.

Os nitratos e nitritos podem estar presentes na água, solos e vegetais; em produtos cárneos, podem ser utilizados na forma de sais de sódio e potássio como aditivos alimentares (INS 229, 250, 251 e 252).

Os sais de nitritos são amplamente empregados no processo de cura de produtos cárneos e estão relacionados com o desenvolvimento da cor rosada, aroma e sabor característicos de carne curada. Estes compostos retardam o desenvolvimento do odor e sabor de ranço, além de inibirem o crescimento de micro-organismos, a germinação de esporos e formação de toxinas, especialmente do *Clostridium botulinum*, responsável pela transmissão de botulismo (intoxicação alimentar causada pela ingestão de neurotoxinas pré-formadas nos alimentos).

Os nitratos estão autorizados no processamento de produtos cárneos por serem uma fonte para produção *in-situ* de nitritos, promovida pela ação de bactérias redutoras. A adição de nitratos é indicada para produtos crus em processos de cura, com secagem e fermentação por tempo prolongado. Para os produtos cárneos crus e cozidos de cura rápida (como linguças frescas e cozidas, salsichas, presuntos cozidos, entre outros produtos) faz-se o uso de nitritos, uma vez que o mesmo produz o efeito desejado mais rapidamente, mesmo na ausência de nitratos.

No Brasil, a Portaria nº 1004/98, da ANVISA/MS e Instrução Normativa nº 51/2006, do MAPA estabelecem os limites residuais máximos para os conservadores nitritos e nitratos de sódio/potássio, que são respectivamente, 0,015 g/100g e 0,03 g/100g, expressos em nitrito de sódio e na combinação

de ambos, 0,015 g/100g, para os produtos cárneos, exceto para charque brasileiro, estando proibidos em carnes frescas e carnes congeladas.

No entanto, nitritos e nitratos podem causar efeitos tóxicos ao organismo exposto, dependendo da quantidade ingerida e da suscetibilidade. Os nitritos podem reagir com a hemoglobina, oxidando o ferro do estado ferroso ao férrico, formando metahemoglobina, impedindo a função normal de transporte do oxigênio, e levando a morte por asfixia, condição conhecida como metahemoglobinemia ou cianose (ou doença do bebê azul), em crianças de tenra idade. Os compostos N-nitrosos, principalmente as nitrosaminas, são conhecidos como potentes agentes cancerígenos, além de apresentarem ação teratogênica e mutagênica em animais de laboratórios; são produzidos pela reação química entre nitrito com aminas (principalmente aminas secundárias). O nitrato é considerado um composto de, relativamente, baixa toxicidade, mas este pode ser reduzido a nitrito, o qual pode induzir à formação de compostos N-nitrosos (nitrosaminas) e a ocorrência de metahemoglobinemia.

O JECFA (*Joint Expert Committee on Food Additives*), Comitê de Especialistas da FAO/OMS em Aditivos Alimentares, estabeleceu uma IDA (Ingestão Diária Aceitável) para nitrito de 0 – 0,07 mg kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo, expresso como íon nitrito (WHO, 2003) e para nitrato de 0 – 3,7 mg kg<sup>-1</sup> de peso corpóreo, expresso como íon nitrato (WHO, 1996), ou seja, a quantidade do aditivo que pode ser ingerida por toda a vida sem provocar danos à saúde humana. A avaliação da concentração de nitritos e nitratos presente em alimentos processados, água potável e hortaliças deve ser frequentemente monitorada, a fim de que a IDA destes íons não seja ultrapassada, não colocando em risco a saúde da população.

Esse cenário demonstra a importância de um controle analítico cada vez mais eficiente e com resultados confiáveis dos teores residuais de nitritos e nitratos em produtos cárneos comercializados em todo o país.

## 2. OBJETIVOS

- Oferecer um Programa de Comparação Interlaboratorial (PCI) nacional para a determinação do teor de nitritos e nitratos em produto cárneo, utilizando metodologia de rotina;
- Contribuir para o aumento da confiança nos resultados das medições dos laboratórios;
- Avaliar o desempenho de laboratórios para o ensaio proposto;
- Propiciar subsídios aos laboratórios para a identificação e solução de problemas;
- Contribuir para a melhoria contínua das técnicas de medição de cada laboratório;
- Auxiliar no processo de avaliação para a acreditação dos laboratórios participantes junto a Coordenação Geral de Acreditação (CGCRE/INMETRO).

### **3. ESCOPO**

Oferecer um Programa de Comparação Interlaboratorial para a determinação quantitativa de nitritos e nitratos em produto cárneo (Salsichão tipo Lionês), cujos teores expressos em nitrito de sódio situam-se entre 0 e 150 mg/kg para nitritos e 0 e 300 mg/kg para nitratos, abrangendo os níveis de concentrações dos ensaios dos laboratórios que atuam na área de análise físico-química de produtos cárneos e que realizam análises de aditivos conservadores, a fim de verificar o atendimento à legislação vigente.

### **4. SERVIÇOS SUBCONTRATADOS**

O lote de 150 unidades de salsichão tipo Lionês foi produzido pela empresa Kienast & Kratschmer Ltda (Santo André - SP), em planta piloto, sob supervisão de seus técnicos. A empresa forneceu todos os insumos necessários à preparação dos itens de ensaio, com isenção de custos ao Provedor do PCI.

### **5. PARTICIPAÇÃO**

O PCI nitritos e nitratos foi divulgado através de correio eletrônico. Participaram deste programa, laboratórios públicos e privados do Brasil, legalmente constituídos, que realizam os ensaios de nitritos e nitratos em produtos cárneos. Os participantes utilizaram o método analítico de sua escolha, tendo sido recomendado que o método selecionado fosse o mesmo utilizado na rotina. A participação no PCI nitritos e nitratos foi gratuita.

### **6. CONFIDENCIALIDADE**

Todas as informações fornecidas pelo laboratório participante ao provedor foram tratadas de forma confidencial. Os laboratórios foram identificados com um código numérico segundo a ordem de retorno dos Formulários de registro de resultados, ao provedor. O código de identificação do laboratório foi enviado por e-mail para o responsável e seu substituto, e a divulgação é de responsabilidade dos mesmos.

O IAL, provedor do PCI, 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 e o laboratório, também, enviará um acordo por escrito.

## 7. ITEM DE ENSAIO

Um lote de 150 unidades de salsichão foi processado pela empresa Kienast & Kratschmer Ltda (Santo André - SP) em sua planta piloto. Constou da lista de ingredientes: carne bovina, carne suína, carne mecanicamente separada de frango, toucinho, cloreto de sódio, proteína texturizada de soja, fécula de mandioca, mistura de condimentos, eritorbato de sódio, tripolifosfato de sódio, lactato de sódio, glutamato monossódico, nitrito de sódio e nitrato de sódio. As carnes das diferentes espécies, moídas em disco de 5 mm (moedor: Mado Primus – MEW603) e congeladas em blocos, foram quebradas em pequenos cubos. Na preparação da massa “emulsionada” no equipamento cutter (Kilia – EX 3000RS), todos os ingredientes citados e o gelo foram adicionados em ordem pré-determinada, tendo-se nesta etapa, a adição dos conservadores nitrito de sódio e nitrato de sódio, previamente misturados com o cloreto de sódio. O enchimento da tripa plástica (Walsroder k plus) calibre 50 mm com a massa foi realizado em embutideira a vácuo com porcionamento automático (Handtmann – VF50) e o produto cárneo, denominado salsichão tipo Lionês, foi cozido em estufa (Bastra – MC500) a uma temperatura interna final de pasteurização de 74 °C (Figura 1A) e resfriado em chuveiro. Cada unidade foi identificada com etiqueta numerada aleatoriamente. O lote foi transportado refrigerado para os laboratórios do IAL, sendo imediatamente armazenado em freezer com controle de temperatura (inferior a -15 °C).

O item de ensaio constituiu-se de uma unidade de Salsichão tipo Lionês de, aproximadamente, 150 g, devidamente identificado com rótulo, contendo as seguintes informações: nome do PCI, rodada/ano e identificação numérica aleatória de 4 dígitos, conforme apresentado na Figura 1B.



Figura 1. Item de ensaio do PCI: (A) Cozimento em estufa. (B) Detalhes do rótulo

Na data estipulada no cronograma, a coordenação do PCI foi responsável pelo envio de uma caixa de isopor, preenchida com gelo seco, devidamente lacrada e identificada, contendo 1 (um) item de ensaio envolto em plástico bolha, acompanhada de carta de instruções. Nas instruções constava que o item de ensaio deveria ser retirado do isopor e imediatamente armazenado em temperatura de congelamento (inferior a  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) até a data de realização da análise.

O item de ensaio foi enviado para 32 laboratórios inscritos. No ato do recebimento do material, o laboratório realizou inspeção para verificar se houve algum dano no transporte que pudesse invalidar a análise. O resultado desta inspeção foi registrado no Formulário de Recebimento de Item de Ensaio e o mesmo prontamente enviado à coordenação do programa por e-mail. Não foram registradas perdas da integridade, anormalidades ou descongelamento dos itens de ensaio recebidos pelos participantes.

## **8. TESTE DE HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE**

Com o objetivo de verificar se os itens de ensaio eram adequadamente homogêneos e estáveis foi feita a avaliação da homogeneidade e estabilidade do produto armazenado sob congelamento (temperatura inferior a  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). As análises foram realizadas nos laboratórios do Núcleo de Química, Física e Sensorial, do Centro de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz.

As determinações de nitritos e nitratos foram realizadas segundo os Métodos 283/IV (Determinação espectrofotométrica de nitritos) e 284/IV (Determinação espectrofotométrica de nitratos), descritos em Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4<sup>a</sup> edição (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Os resultados dos ensaios foram analisados pelo Centro de Materiais de Referência do IAL, de acordo com os procedimentos descritos no Protocolo Internacional Harmonizado para Ensaio de Proficiência de Laboratórios Analíticos (Químicos) - IUPAC/ISO/AOAC e ABNT ISO Guia 35, para avaliação dos dados de homogeneidade e estabilidade, respectivamente.

### **8.1 Homogeneidade**

Para compor o estudo de homogeneidade, 10 unidades congeladas de salsichão foram selecionadas aleatoriamente de um lote de 150 unidades. Em cada unidade foi realizada análise em duplicata, sob condições de repetibilidade.

A avaliação estatística dos resultados de homogeneidade entre unidades amostrais ou itens de ensaio (frascos) seguiu os critérios estabelecidos no Protocolo Internacional Harmonizado para Ensaio de Proficiência de Laboratórios Analíticos (Químicos) da IUPAC/ISO/AOAC, sendo que o desvio padrão de Horwitz modificado por Thompson foi considerado como desvio padrão para avaliação da proficiência.

De acordo com o teste de Shapiro-Wilk, com 95% de confiança, verificou-se a normalidade dos resultados de concentração de nitritos ( $p = 0,488$ ) e nitratos ( $p = 0,299$ ). Segundo o critério do teste de Cochran ( $C_{\text{cal}} \leq C_{\text{crítico}}$ ), a um nível de confiança de 99%, a variabilidade entre as replicatas de cada



unidade (frasco) foi considerada homogênea em todas as unidades (frascos) para os teores de nitritos ( $C_{cal} = 0,273 < 0,602$ ) e nitratos ( $C_{cal} = 0,362 < 0,602$ ). Valores dispersos ou outliers, tendências ou algum outro efeito sistemático não foram observados por meio do gráfico de dispersão das unidades (frascos) x resultados das duplicatas.

Os itens de ensaio de salsichão tipo Lionês se apresentaram suficientemente homogêneos, segundo o critério de aceitação ( $s_{sam}^2 \leq C_{crítico}$ ) do Protocolo Internacional Harmonizado para Ensaio de Proficiência de Laboratórios Analíticos (Químicos) - IUPAC/ISO/AOAC para os teores de nitritos ( $s_{sam}^2 = 2,62 < 21,50$ ) e nitratos ( $s_{sam}^2 = 9,29 < 14,61$ ).

## 8.2 Estabilidade

Após o preparo da amostra e constatação da homogeneidade dos itens de ensaio, foi conduzido um estudo de estabilidade clássico de curta duração. A estabilidade foi avaliada no período compreendido entre o envio dos itens de ensaio aos laboratórios participantes e prazo final de recebimento dos resultados, ou seja, durante a rodada do PCI. A avaliação estatística revelou normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk, com 95% de confiança, para nitritos ( $p = 0,085$ ) e nitratos ( $p = 0,816$ ). Foi verificada a presença de valores discrepantes por meio dos testes de Grubbs, com 95% de confiança. No entanto, não houve justificativa técnica/analítica para removê-los do conjunto de dados.

A análise de regressão linear foi empregada para avaliar a estabilidade dos itens de ensaio do PCI, em relação aos valores de concentração de nitritos e nitratos. Assim, tendo-se que as inclinações das retas eram não significativas, os analitos nitritos ( $p=0,132$ ) e nitratos ( $p=0,947$ ) foram considerados suficientemente estáveis na temperatura de congelamento ( $<-15^{\circ}\text{C}$ ) para a finalidade do PCI.

Portanto, o material apresentou-se homogêneo e estável durante o período de envio do material até o final da rodada.

## 9. ANÁLISE DOS RESULTADOS, DECLARAÇÃO DA INCERTEZA DO VALOR DESIGNADO E AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS PARTICIPANTES

De um total de 32 laboratórios inscritos para o PCI nitritos e nitratos retornaram ao provedor 30 (94%) resultados para nitritos e 27 (84%) para nitratos, dentro do prazo limite. A relação dos laboratórios participantes está apresentada no Anexo A.

O Quadro 1 apresenta os resultados das 3 replicatas realizadas pelos laboratórios participantes do PCI, para os teores de nitritos e nitratos, ambos expressos em nitrito de sódio - mg/kg, incluindo o cálculo do valor médio, desvio padrão e coeficiente de variação (CV%). Os resultados das replicatas foram apresentados com o mesmo número de casas decimais daqueles reportados pelos laboratórios nos formulários de resultados, embora estivesse fixado no Protocolo do PCI, aproximação para uma casa

decimal. Os laboratórios participantes receberam numeração sequencial, de acordo com a ordem de retorno dos Formulários de resultados.

Os resultados enviados pelos participantes foram avaliados conforme técnicas estatísticas descritas na norma ISO 13528:2005 (*Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*) de modo a prover um valor designado para cada analito.

Os valores designados e as incertezas associadas para as concentrações de nitritos e nitratos no item de ensaio foram obtidos por consenso, entre os resultados médios considerados estatisticamente válidos apresentados pelos laboratórios participantes da rodada.

Foram considerados inválidos os resultados fora do intervalo:  $Q_1 - 1,5IQ$  e  $Q_3 + 1,5IQ$

Sendo que:  $Q_1 = 1^\circ$  quartil, ou seja, o valor que separa um quarto (ou 25%) dos dados ordenados;

$Q_3 = 3^\circ$  quartil, ou seja, o valor que separa três quartos (ou 75%) dos dados ordenados;

$IQ =$  intervalo interquartil ( $Q_3 - Q_1$ )

O tratamento estatístico adotado para determinar o valor designado ( $X$ ) foi a média robusta calculada de acordo com o Algoritmo A, descrito na norma ISO 13528:2005, no seu Anexo C e a incerteza padrão do valor designado ( $u_x$ ) foi estimada, segundo o item 5.6.2 da ISO 13528, por meio da Equação 1.

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

Onde:  $s^*$  = desvio padrão robusto obtido na avaliação de proficiência, calculado de acordo com o Algoritmo A;  $p$  = número de laboratórios participantes da rodada que apresentaram resultados estatisticamente válidos.

O desvio padrão para avaliação de proficiência ( $\hat{\sigma}$ ) define o grau de variação aceitável para o valor de concentração reportado pelos laboratórios em cada ensaio. Nesta rodada, o cálculo do valor de  $\hat{\sigma}$  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.

$$\hat{\sigma} = \frac{0,02 c^{0,8495}}{mr}, \quad \text{se } 1,2 \cdot 10^{-7} \leq c \leq 0,138 \quad (120 \text{ ppb} \leq c \leq 13,8\%) \quad \text{(Equação 2)}$$

Onde:  $\hat{\sigma}$  = desvio padrão de Horwitz;  $c$  = concentração do valor designado expresso como razão adimensional da massa (Ex:  $15 \text{ mg/kg} = 15 \cdot 10^{-6}$  ou  $15\% = 15 \cdot 10^{-2}$ );  $mr$  = razão adimensional da massa (Ex:  $\text{mg/kg} = 10^{-6}$ ).

O resultado médio  $x_i$  de cada participante foi convertido no índice z, de acordo com a Equação 3.

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

Onde:  $x_i$  = média dos valores reportados pelo participante  $i$ ;  $X$  = valor designado (média robusta calculada de acordo com o algoritmo A, como descrito na ISO 13528:2005);  $\hat{\sigma}$  = desvio padrão para avaliação de proficiência (desvio padrão de Horwitz)

O desempenho dos laboratórios foi avaliado de acordo com a seguinte classificação:

Se  $|z| \leq 2$ , o laboratório tem um desempenho satisfatório ou aceitável;

Se  $2 < |z| < 3$ , o laboratório tem um desempenho questionável;

Se  $|z| \geq 3$ , o laboratório tem um desempenho insatisfatório ou inaceitável.

Os dados estatísticos do PCI estão apresentados na Tabela 1. Foram considerados inválidos os resultados fora do intervalo  $Q1-1,5IQ$  e  $Q3+1,5IQ$ , ou seja, 57,3 – 155,7 mg/kg para nitritos e 13,5 – 130,3 mg/kg para nitratos. Os resultados dos teores de nitritos dos laboratórios 9, 20 e 23, e de nitratos, dos laboratórios 9, 11, 20, 23 e 27 foram previamente excluídos do cálculo do valor designado, da incerteza do valor designado e do desvio padrão de proficiência, por serem considerados *outliers* suspeitos ou extremos, mas foram considerados para fins de avaliação de desempenho.

A Tabela 2 apresenta as avaliações estatísticas de desempenho que caracterizam o item de ensaio. Para nitritos obteve-se o valor designado ( $X$ ) de 110,5; incerteza padrão associada ( $u_x$ ) de 4,1 e desvio padrão de proficiência ( $\hat{\sigma}$ ) de 8,7, expressos em nitrito de sódio – mg/kg. Para nitratos, o valor designado ( $X$ ) foi de 75,4, a incerteza padrão associada ( $u_x$ ) foi de 3,8 e desvio padrão de proficiência ( $\hat{\sigma}$ ), 6,3, expressos em nitrito de sódio – mg/kg.

As incertezas dos valores designados ( $u_x$ ), correspondendo a  $0,5 \hat{\sigma}$  para nitritos e  $0,6 \hat{\sigma}$  para nitratos, deveriam, preferencialmente, ser  $\leq 0,3 \hat{\sigma}$ , segundo o item 4.2 da ISO 13528:2005. Entretanto, de acordo com o Protocolo Internacional Harmonizado da IUPAC, o provedor pode aceitar valores de  $u_x$  que estejam no intervalo:  $0,3 \hat{\sigma} < u_x \leq 0,7 \hat{\sigma}$ .

O Quadro 1 apresenta ainda, os resultados de desempenho dos laboratórios para os analitos nitritos e nitratos, expressos através do índice z; as Figuras 2 e 3 representam os gráficos de barras com os resultados dos índices z ordenados e a posição do laboratório frente ao intervalo de aceitação para nitritos e nitratos, respectivamente. É possível que os valores de z apresentados neste relatório difiram ligeiramente daqueles que possam ser calculados utilizando a Equação 3, devido ao arredondamento necessário dos valores designados e desvios padrão.

O número de índices z no intervalo satisfatório ( $-2 \leq |z| \leq 2$ ) está apresentado na Tabela 2. Verifica-se que nesta rodada, de um total de trinta laboratórios que reportaram seus resultados para nitritos, 19

(63,3%) apresentaram desempenhos satisfatórios, 4 (13,3%) desempenhos questionáveis, e 7 (23,3%) desempenhos insatisfatórios. Para nitratos, 27 laboratórios reportaram resultados, sendo que 14 (51,9%) apresentaram desempenhos satisfatórios, 4 (14,8%), desempenhos questionáveis e 9 (33,3%) desempenhos insatisfatórios. O percentual de laboratórios que obtiveram desempenhos questionáveis ou insatisfatórios para nitritos (37%) e nitratos (48%) evidencia a necessidade de investigação das causas e tomada de ações corretivas.

**Tabela 1.** Dados estatísticos do PCI nitritos e nitratos – 1ª rodada

Parâmetros	Valores	
	Nitritos (expressos em NaNO <sub>2</sub> )	Nitratos (expressos em NaNO <sub>2</sub> )
Nº de resultados	30	27
Nº de resultados excluídos	3 (10%)	5 (19%)
Nº de resultados válidos	27 (90%)	22 (81%)
Média*, mg/kg	110,1	75,9
Mediana*, mg/kg	108,5	75,8
Desvio padrão*, mg/kg	17,2	14,6
Intervalo de resultados*, mg/kg	74,6 a 145,8	48,8 a 105,9
Amplitude*, mg/kg	71,2	57,1

\*Valores obtidos a partir dos resultados estatisticamente válidos

**Tabela 2.** Estatística de desempenho do PCI nitritos e nitratos – 1ª rodada

Parâmetros	Valores	
	Nitritos (expresso em NaNO <sub>2</sub> )	Nitratos (expresso em NaNO <sub>2</sub> )
Valor designado* ( $\bar{X}$ ), mg/kg	110,5	75,4
Incerteza do valor designado* ( $u_x$ ), mg/kg	4,1	3,8
Desvio padrão de proficiência* ( $\hat{\sigma}$ ), mg/kg	8,7	6,3
$u_x / \hat{\sigma}$	0,5	0,6
CV (%)	8	8
Intervalo de resultados satisfatórios, mg/kg	93,1 a 127,9	62,8 a 88,0
Nº de laboratórios com $ z  \leq 2$	19	14
Nº de laboratórios com $2 <  z  < 3$	4	4
Nº de laboratórios com $ z  \geq 3$	7	9

\*Valores obtidos a partir dos resultados estatisticamente válidos

**Quadro 1.** Resultados dos laboratórios participantes do PCI nitritos e nitratos – Rodada 01

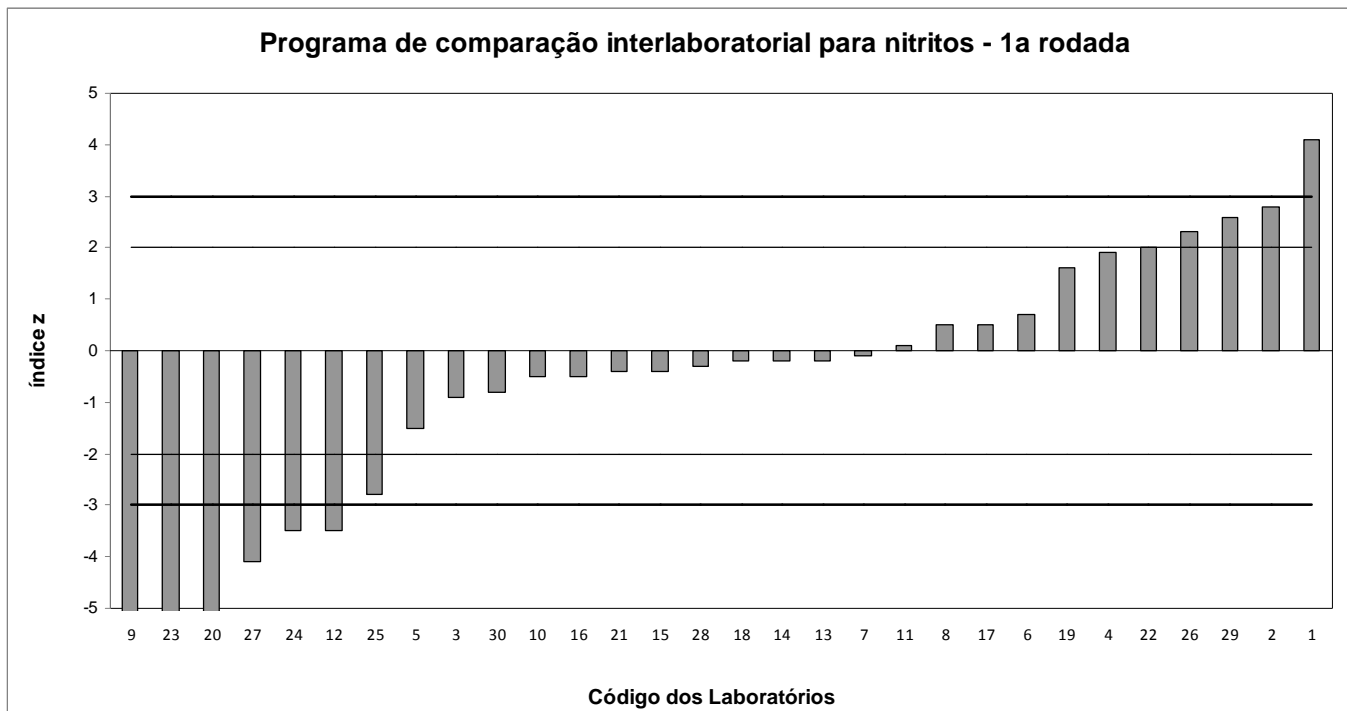
Código Laboratório	Técnica analítica	Nitritos								Nitratos								
		Nitritos, expresso em NaNO <sub>2</sub> (mg/kg)						CV (%)	Índice z	Interpretação do índice z (desempenho)	Nitratos, expresso em NaNO <sub>2</sub> (mg/kg)					CV (%)	Índice z	Interpretação do índice z (desempenho)
		Replicatas			Média	DP	Replicatas				Média	DP						
		1	2	3			1						2	3				
1	Eletroforese capilar	144,4	148,2	144,8	145,8	2,1	1%	4,1	Insatisfatório	88,9	84,7	85,8	86,5	2,2	3%	1,8	Satisfatório	
2	Espectrofotometria	133,7	132,7	137,6	134,7	2,6	2%	2,8	Questionável	---	---	---	---	---	---	---	---	
3	Espectrofotometria	99,2	104,2	104,1	102,5	2,9	3%	-0,9	Satisfatório	68,8	76,8	69,9	71,8	4,3	6%	-0,6	Satisfatório	
4	Eletroforese capilar	125,1	123,7	131,2	126,7	4,0	3%	1,9	Satisfatório	90,8	84,7	94,2	89,9	4,8	5%	2,3	Questionável	
5	Espectrofotometria	97,5	97,4	96,1	97,0	0,8	1%	-1,5	Satisfatório	---	---	---	---	---	---	---	---	
6	Espectrofotometria	116,53	117,25	117,11	117,0	0,4	0%	0,7	Satisfatório	88,89	89,80	83,28	87,3	3,5	4%	1,9	Satisfatório	
7	Espectrofotometria	108,8	109,5	110,0	109,4	0,6	1%	-0,1	Satisfatório	53,4	48,3	57,3	53,0	4,5	9%	-3,6	Insatisfatório	
8	Espectrofotometria	114,5	115,5	113,9	114,6	0,8	1%	0,5	Satisfatório	76,0	70,1	76,2	74,1	3,5	5%	-0,2	Satisfatório	
9	Espectrofotometria	0,012	0,012	0,012	0,012*	0,0	0%	-12,7	Insatisfatório	0,006	0,006	0,005	0,006*	0,0	10%	-12,0	Insatisfatório	
10	Espectrofotometria	107,3	104,3	107,4	106,3	1,8	2%	-0,5	Satisfatório	---	---	---	---	---	---	---	---	
11	Espectrofotometria	114,5	111,2	107,5	111,1	3,5	3%	0,1	Satisfatório	91,0	181,4	177,5	150,0*	51,1	34%	11,8	Insatisfatório	
12	Espectrofotometria	78,7	78,1	83,2	80,0	2,8	3%	-3,5	Insatisfatório	116,1	106,9	94,6	105,9	10,8	10%	4,8	Insatisfatório	
13	Espectrofotometria	109,5235	104,5035	111,4808	108,5	3,6	3%	-0,2	Satisfatório	69,7215	86,7875	77,2114	77,9	8,6	11%	0,4	Satisfatório	
14	Espectrofotometria	111,1	103,7	110,7	108,5	4,2	4%	-0,2	Satisfatório	75,0	83,0	78,0	78,7	4,0	5%	0,5	Satisfatório	
15	Espectrofotometria	105,3	106,9	107,6	106,6	1,2	1%	-0,4	Satisfatório	78,2	73,3	75,7	75,7	2,5	3%	0,1	Satisfatório	

\*Resultado médio considerado estatisticamente inválido (Laboratórios 9, 20 e 23 para nitritos e Laboratórios 9, 11, 20, 23 e 27 para nitratos)

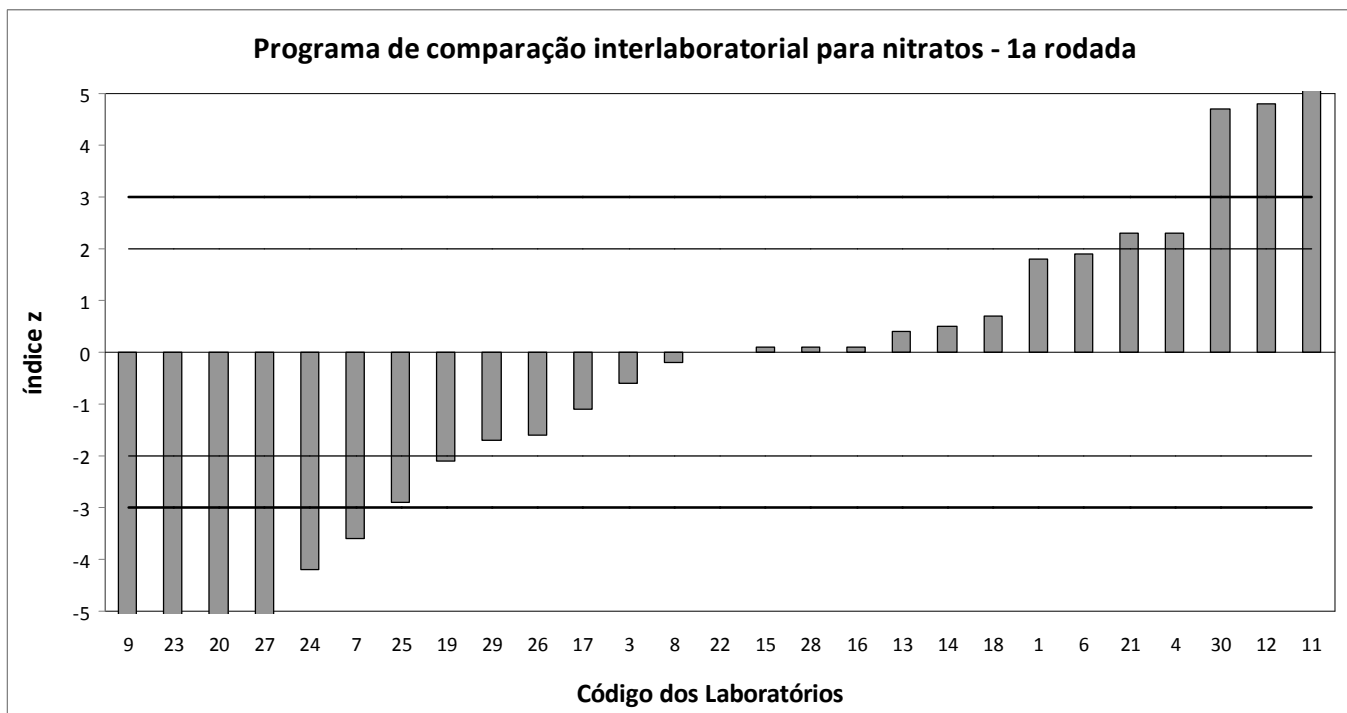
**Continuação:**

Código Laboratório	Técnica analítica	Nitritos								Nitratos							
		Nitritos, expresso em NaNO <sub>2</sub> (mg/kg)						CV (%)	Índice z	Interpretação índice z (desempenho)	Nitratos, expresso em NaNO <sub>2</sub> (mg/kg)						
		Replicatas			Média	DP	Replicatas				Média	DP	CV (%)	Índice z	Interpretação índice z (desempenho)		
		1	2	3			1									2	3
16	Espectrofotometria	106,3	106,4	106,3	<b>106,3</b>	0,1	0%	<b>-0,5</b>	Satisfatório	75,3	75,4	77,9				<b>76,2</b>	2%
17	CLAE	115,06	112,83	116,67	<b>114,9</b>	1,9	2%	<b>0,5</b>	Satisfatório	67,48	67,65	70,74	<b>68,6</b>	1,8	3%	<b>-1,1</b>	Satisfatório
18	Espectrofotometria	108,35	107,73	109,05	<b>108,4</b>	0,7	1%	<b>-0,2</b>	Satisfatório	81,93	77,25	80,46	<b>79,9</b>	2,4	3%	<b>0,7</b>	Satisfatório
19	Espectrofotometria	124,9	124,2	123,9	<b>124,3</b>	0,5	0%	<b>1,6</b>	Satisfatório	62,4	60,4	63,5	<b>62,1</b>	1,6	3%	<b>-2,1</b>	Questionável
20	Espectrofotometria	26,9	30,1	28,1	<b>28,4*</b>	1,6	6%	<b>-9,4</b>	Insatisfatório	5,5	6,5	8,6	<b>6,9*</b>	1,6	23%	<b>-10,9</b>	Insatisfatório
21	Espectrofotometria	105	107,7	107	<b>106,6</b>	1,4	1%	<b>-0,4</b>	Satisfatório	99,7	91,2	78,3	<b>89,7</b>	10,8	12%	<b>2,3</b>	Questionável
22	Espectrofotometria	127,8	127,7	127,2	<b>127,6</b>	0,3	0%	<b>2,0</b>	Satisfatório	74,7	76,1	75,3	<b>75,4</b>	0,7	1%	<b>0,0</b>	Satisfatório
23	Espectrofotometria	9,88	10,75	10,25	<b>10,3*</b>	0,4	4%	<b>-11,5</b>	Insatisfatório	0,37	0,47	0,42	<b>0,4*</b>	0,1	12%	<b>-11,9</b>	Insatisfatório
24	Espectrofotometria	81,40	79,51	78,80	<b>79,9</b>	1,3	2%	<b>-3,5</b>	Insatisfatório	54,13	48,77	43,63	<b>48,8</b>	5,3	11%	<b>-4,2</b>	Insatisfatório
25	Espectrofotometria	86,0	85,2	86,4	<b>85,9</b>	0,6	1%	<b>-2,8</b>	Questionável	57,1	55,5	59,2	<b>57,3</b>	1,9	3%	<b>-2,9</b>	Questionável
26	Espectrofotometria	130,7	130,3	131,0	<b>130,7</b>	0,4	0%	<b>2,3</b>	Questionável	65,5	65,8	65,6	<b>65,6</b>	0,2	0%	<b>-1,6</b>	Satisfatório
27	Espectrofotometria	74,56	74,56	74,56	<b>74,6</b>	0,0	0%	<b>-4,1</b>	Insatisfatório	7,78	7,78	7,78	<b>7,8*</b>	0,0	0%	<b>-10,7</b>	Insatisfatório
28	Espectrofotometria	108,1	108,3	108,5	<b>108,3</b>	0,2	0%	<b>-0,3</b>	Satisfatório	76,1	75,8	75,7	<b>75,9</b>	0,2	0%	<b>0,1</b>	Satisfatório
29	Espectrofotometria	133,17	133,24	133,03	<b>133,1</b>	0,1	0%	<b>2,6</b>	Questionável	65,43	63,61	65,36	<b>64,8</b>	1,0	2%	<b>-1,7</b>	Satisfatório
30	Espectrofotometria	105,4	102,0	103,9	<b>103,8</b>	1,7	2%	<b>-0,8</b>	Satisfatório	108,6	107,8	98,9	<b>105,1</b>	5,4	5%	<b>4,7</b>	Insatisfatório

\*Resultado médio considerado estatisticamente inválido (Laboratórios 9, 20 e 23 para nitritos e Laboratórios 9, 11, 20, 23 e 27 para nitratos)



**Figura 2.** Gráfico de barras do desempenho dos laboratórios participantes no PCI nitritos em salsichão tipo Lionês, segundo índice z.



**Figura 3.** Gráfico de barras do desempenho dos laboratórios participantes no PCI nitratos em salsichão tipo Lionês, segundo índice z.

Conforme apresentado no Quadro 1, o desvio padrão relativo (CV) entre as replicatas variou de 0 a 6% para nitritos e de 0 a 34% para nitratos. Do ponto de vista prático e considerando principalmente as técnicas espectrofotométricas, espera-se um desvio padrão relativo de repetibilidade maior para a análise de nitratos, por incluir a etapa de redução, contudo, as normas ISO (3091:1975 e 2918:1975) estabelecem o valor máximo de 10% para este parâmetro, tanto para nitritos quanto para nitratos. Cabe ao laboratório fazer a análise crítica quanto a sua repetibilidade ou precisão intermediária.

Em relação a não realização da análise de nitratos por 3 laboratórios, destaca-se que a implantação do método de determinação é muito importante, tendo em vista que a legislação brasileira vigente estabelece para produtos cárneos limites máximos para nitritos, nitratos e somatória de ambos.

Em relação a alguns valores discrepantes (dispersos ou *outliers*) excluídos neste PCI, sugere-se a ocorrência de erros grosseiros como o de transcrição, forma de expressão e unidades de concentração dos resultados. A Norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005 (item 5.4.7 Controle de dados) estabelece que os cálculos e as transferências de dados devem ser submetidos a verificações apropriadas de uma maneira sistemática.

Um índice z questionável ou insatisfatório indica um problema, mas não oferece um diagnóstico, de forma que o participante precisa investigar as causas dessa ocorrência.

## 10. COMENTÁRIOS E RECOMENDAÇÕES

Os Quadros 1 e 2 do Anexo B apresentam o sumário das informações adicionais constantes no Formulário de registro de resultados, referente aos métodos e controle de qualidade analítica utilizados pelos laboratórios participantes, tais como: limite de quantificação (LOQ), incerteza expandida (U), validação, acreditação, massa de amostra, participações em PEPs ou PCIs, entre outros.

Os participantes têm a liberdade de escolher o método de análise e geralmente usam uma multiplicidade de métodos, ou variantes de um método individual. Para a análise de nitritos, dos 30 laboratórios que retornaram resultados, 2 (7%) referenciaram a técnica eletroforese capilar (EC), 1 (3%) a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a grande maioria, 27 (90%) a espectrofotometria. Para nitratos, dos 27 laboratórios que enviaram seus resultados ao provedor, 2 (7%) referenciaram a técnica EC, 1 (4%) a CLAE e 24 (89%) a espectrofotometria (Quadro 1 - Anexo B).

Muitas são as técnicas existentes na literatura para a determinação quantitativa de nitritos e nitratos, todavia, a espectrofotométrica é amplamente utilizada e aceita devido a sua simplicidade, baixo custo e elevada precisão. Os métodos espectrofotométricos apresentam basicamente o mesmo princípio analítico, contudo, podem variar, principalmente, na etapa de redução dos nitratos a nitritos, nas concentrações e tipos dos reagentes utilizados na reação colorimétrica. A determinação de nitritos é mais simples que a de nitratos, pois não requer procedimento de redução, entretanto, pode ainda ser passível de erros nas etapas de extração, desproteinização/clarificação e reação de cor. Para a



determinação de nitratos, além destas etapas, estes devem ser reduzidos a nitritos pelo cádmio esponjoso, que pode estar acondicionado em uma coluna de vidro conforme norma ISO 3091 e Método 284/IV do livro de Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005), ou misturado diretamente ao extrato da amostra em um erlenmeyer, como estabelecido na Instrução Normativa nº 20, do MAPA (BRASIL, 1999).

Dos 27 laboratórios que citaram os métodos espectrofotométricos, 15 (56%) referenciaram os métodos estabelecidos pelo MAPA (IN nº 20/99 e LANARA, 1981); 8 (30%) segundo o IAL (Métodos 283/IV, 284/IV e citação de LARA et al., 1978); 1 (4%) métodos de referência das normas ISO (3091:1975 e 2918:1975); 2 (7%) procedimentos internos e 1 (4%) reportou duas referências (IN nº 20/99 e IAL).

Dentre os 27 laboratórios que utilizaram as técnicas espectrofotométricas, 3 realizaram apenas a determinação de nitritos, tendo-se 2 resultados satisfatórios ( $z = -1,5$  e  $z = -0,5$ ) e 1 questionável ( $z = 2,8$ ). Dos 24 laboratórios que apresentaram resultados para nitritos e nitratos, 10 (42%) revelaram desempenhos satisfatórios para os dois analitos, 6 (25%) desempenhos insatisfatórios para nitritos e nitratos e 8 (33%) laboratórios apresentaram resultados questionáveis ou insatisfatórios para um dos analitos.

Do total de 27 laboratórios que utilizaram as técnicas espectrofotométricas para nitritos, obteve-se 17 (63%) resultados satisfatórios; 4 (15%) questionáveis e 6 (22%) insatisfatórios. Para o método do IAL foi atribuído somente 1 (12%) resultado questionável ( $z = -2,8$ ), de um total de 8 valores. Para os métodos preconizados pelo MAPA, obteve-se 3 (20%) desempenhos questionáveis e 6 (40%) resultados insatisfatórios, de um total de 15. Os resultados de nitritos foram satisfatórios para os laboratórios que citaram: método da norma ISO e duas referências (IAL e MAPA). Os dois laboratórios que citaram procedimentos internos como referências de métodos, apresentaram resultados insatisfatórios ( $z = -12,7$ ;  $z = -11,5$ ).

Para as técnicas espectrofotométricas para determinação de nitratos, de um total de 24 resultados, 12 (50%) foram satisfatórios, 3 (12%) questionáveis e 9 (38%) insatisfatórios. De um total de 8 resultados obtidos segundo os Métodos 284/IV, ISO e citação Lara *et al.* (1978), 2 (25%) foram insatisfatórios e 1 (12%) questionável. Das citações do MAPA (IN nº 20 e LANARA, 1981), de um total de 13 resultados, 5 (39%) apresentaram desempenho insatisfatório e 2 (15%) questionáveis.

A técnica EC referenciada por 2 participantes, revelou para um dos laboratórios, resultado insatisfatório para nitritos ( $z = 4,1$ ) e satisfatório para nitratos ( $z = 1,8$ ); e para o outro laboratório, resultado satisfatório para nitritos ( $z = 1,9$ ) e questionável para nitratos ( $z = 2,3$ ). Uma das vantagens desta técnica é a determinação simultânea de nitritos e nitratos, além do menor consumo de reagentes e tempo de análise. Apenas um laboratório realizou a análise por CLAE com resultados satisfatórios para nitritos ( $z = 0,5$ ) e nitratos ( $z = -1,1$ ). Esta técnica também determina simultaneamente os analitos. As técnicas EC e CLAE apresentam, ainda, a vantagem de não utilizar cádmio, um metal pesado tóxico.

Pelas informações obtidas (Quadro 1 - Anexo B), de 30 laboratórios participantes do PCI nitritos, 11 (37%) laboratórios descrevem ter metodologia validada e alguns deles apresentaram valores para os parâmetros de validação (LOQ e U). Dois (7%) laboratórios reportaram não ter metodologia validada, contudo utilizam método normalizado e informaram o LOQ. Entre os 13 laboratórios que citaram empregar método validado/normalizado, 2 (15%) apresentaram desempenho insatisfatório para nitritos e 2 (15%) questionáveis. Entre os 17 laboratórios restantes, que não apresentam métodos validados para nitritos, 5 (29%) apresentaram resultados insatisfatórios e 2 (12 %) questionáveis. Para nitratos, dos 27 laboratórios participantes, 11 (41%) relataram utilizar método validado/normalizado, sendo que 2 (18%) apresentaram desempenho insatisfatório para nitratos e 3 (27%) questionáveis. Entre os 16 laboratórios restantes que não apresentam métodos validados/normalizados para nitratos, 7 (44%) apresentaram resultados insatisfatórios e 1 (6%) questionável. Neste PCI, pode-se evidenciar, portanto uma maior porcentagem de resultados insatisfatórios para os laboratórios que não utilizam métodos validados/normalizados para nitritos (29% contra 15%) e nitratos (44% contra 18%).

Dos 30 participantes do PCI nitritos, a grande maioria, ou 26 (87%) laboratórios, utiliza o método na rotina de trabalho e 4 (13%) esporadicamente. Para os 26 laboratórios que utilizam a metodologia na rotina de trabalho, 7 (27%) apresentaram desempenhos insatisfatórios e 3 (12%) questionáveis. Entre os 4 laboratórios que utilizam o método esporadicamente, 1 apresentou resultado questionável. Dos 27 laboratórios participantes do PCI nitratos, a grande maioria, ou 24 (89%), utiliza a metodologia na rotina de trabalho e 3 (11%) esporadicamente. Entre os laboratórios que utilizam os métodos esporadicamente, 2 apresentaram resultados questionáveis para nitratos. Para os 24 laboratórios que utilizam a metodologia na rotina de trabalho, 9 (38%) apresentaram desempenhos insatisfatórios e 2 (8%) questionáveis.

Foi reportado por 16 (53%) laboratórios participantes, o uso de controles internos de qualidade (material de referência, amostra fortificada, etc) ou fator de correção de recuperação.

A maioria dos laboratórios, ou seja 24 (80%), utilizou uma tomada de massa de amostra no intervalo de  $\geq 10$  a  $< 11$  g; três (10%) laboratórios, na faixa de  $\geq 5$  a  $< 10$  g; um (3%)  $\geq 11$  a  $< 25$  g e dois (7%) laboratórios o intervalo de massa  $\geq 2$  a  $< 5$  g (nas técnicas EC).

A etapa de extração dos analitos nitritos e nitratos na amostra tem sido frequentemente realizada em meio aquoso, devido ao fato que a maioria dos sais de nitritos e nitratos são solúveis em água. Segundo metodologias específicas, a extração deve ser realizada em pH neutro ou levemente alcalino, uma vez que o nitrito é instável em meio ácido ou pH inferior a 5 (LARA et al., 1978). Segundo o Quadro 2 do Anexo B, dos 30 laboratórios participantes, 25 (83%) utilizaram solução de bórax (tetraborato de sódio) a quente para a extração dos analitos, 4 (13%) utilizaram água quente e 1 (3%) água fria.

O processo de clarificação do extrato contendo nitritos e nitratos é fundamental, uma vez que para a maioria dos métodos analíticos são necessários extratos límpidos. Para a etapa de desproteinização da amostra, 26 (87%) laboratórios utilizaram as soluções de Carrez I e II (soluções de ferrocianeto de

potássio e acetato de zinco), 1 (3%) utilizou soluções de ferrocianeto de potássio e sulfato de zinco, 1 (3%) acetonitrila e 2 (7%) não realizaram esta etapa.

Do total de 24 laboratórios que referenciaram a técnica espectrofotométrica para a análise de nitratos, 13 (54%) utilizaram coluna de cádmio, 10 (42%) realizaram adição de cádmio esponjoso à solução extrato da amostra e 1 (4%) não utilizou cádmio para a redução de nitratos (Laboratório 20), eliminando os nitritos pela reação com azida sódica em meio ácido, formando  $N_2$  e NO (LANARA, 1981).

Cuidados na manipulação do cádmio devem ser tomados devido à sua toxicidade. O cádmio pode provocar danos renais e alteração no metabolismo do cálcio dos ossos. O cádmio e seus compostos são classificados pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) como carcinogênicos para o ser humano (Grupo 1). Sua ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) é muito baixa, no valor de 7  $\mu\text{g}/\text{kg pc}$ . Embora a mistura e agitação do cádmio esponjoso à amostra seja uma técnica mais rápida, consideramos que, a passagem do extrato da amostra na coluna de cádmio minimiza a exposição humana aos efeitos tóxicos do cádmio e contribui para redução da contaminação ambiental.

Do total de 23 laboratórios, 18 (78%) reportaram resultados de eficiência da etapa de redução dos nitratos a nitritos, cujos valores variaram de 80 a 102%, sendo que apenas 1 laboratório, com eficiência de 98%, realizou a correção do resultado. Houve 5 resultados de eficiência inferiores a 90%, que seria o limite de aceitação apresentado pelos métodos ISO (1975) e IAL (2005). Para os laboratórios que apresentaram valores inferiores a 90%, recomenda-se promover um aumento da eficiência da coluna antes da análise da amostra, através da regeneração do cádmio esponjoso (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005) ou como preconizado pela ISO (1975), rejeitar a coluna.

Dos 27 laboratórios que utilizaram a espectrofotometria, 20 (74%) utilizaram sulfalinamida e dicloridrato de alfa-naftiletilenodiamina (NED), 3 (11%), ácido sulfanílico e cloridrato de alfa-naftilamina (destes 1 laboratório utilizou difenilamina para o ensaio de nitrato) e 4 (15%), solução de alfa-naftol. Na maioria dos casos (74%), os nitratos reduzidos a nitritos pelo cádmio em pH básico foram determinados segundo a reação de Griess, na qual o nitrito forma um sal de diazônio com a sulfanilamida em meio ácido, que é então conjugado com o NED, formando um azo composto, que é subsequente quantificado no comprimento de onda próximo a 540 nm. Segundo a literatura específica, o NED apresenta vantagens sobre outros reagentes, em relação à reprodutibilidade, rapidez de reação, sensibilidade, solubilidade do azo composto formado (em meio ácido) e estabilidade da cor em função do intervalo de pH. Estudos internos do IAL de validação de métodos colorimétricos com os reagentes alfa-naftol e NED apontaram que o alfa-naftol oferece dificuldades de manuseio devido ao desagradável odor fenólico e que o NED revela maior sensibilidade e precisão do método, além de não apresentar volatilidade de seus componentes.

Para as técnicas espectrofotométricas, os comprimentos de onda utilizados foram: 540 nm (20 laboratórios – 74%), 538 nm (1 laboratório - 4%), 474 nm (1 laboratório – 4%), 480 nm (3 laboratórios – 11%), 543 nm (1 laboratório – 4%) e 1 (4%) laboratório realizou a leitura em dois comprimentos de onda 520 nm para nitrito e 600 nm para nitrato.

Com relação à gestão da qualidade, dos 30 laboratórios participantes (Quadro 1 - Anexo B), 8 (27%) apresentam acreditação Cgcre Inmetro com base na ABNT NBR ISO/IEC 17025 para os ensaios desta rodada, contudo 2 (25%) laboratórios apresentaram desempenhos insatisfatórios para nitritos e 3 (37,5%) para nitratos .

Somente 11 (37%) laboratórios assinalaram participações prévias em PCI ou PEP para nitritos e nitratos em produtos cárneos, o que reforça a necessidade da oferta de Programas, com maior frequência, a fim de garantir a confiabilidade dos resultados que subsidiam os Programas Nacionais de Monitoramento.

O uso de métodos validados, controles de qualidade internos, participação em ensaios de proficiência (EP) e programas de comparação interlaboratorial (PCI) são elementos essenciais para assegurar a qualidade laboratorial.

Deve-se lembrar que o índice z é apenas um indicativo de desempenho do laboratório, cabendo a cada participante fazer a sua interpretação e implementar as ações corretivas, caso necessário.

O propósito de um programa de comparação interlaboratorial de ensaios é testar a exatidão dos laboratórios participantes. Segundo o relatório técnico da IUPAC (2006), participar de um programa de ensaios se torna inútil se o participante não tiver proveito integral dos resultados de cada rodada, embora tomando cuidado ao interpretá-los. Representam, principalmente, uma ferramenta educativa que permite aos participantes detectar fontes inesperadas de erros em seus resultados. Os ensaios, porém, não foram concebidos para serem ferramentas de diagnóstico. Consequentemente, eles apenas são úteis para o participante que já utiliza método validado e tem um sistema de controle de qualidade (CQ) interno sob operação rotineira. Em tais condições, um resultado inesperadamente insatisfatório num ensaio indica uma inadequação no método de validação ou no CQ interno ou, ainda mais comumente, em ambos. Os programas são tão eficazes na detecção de problemas inesperados no trabalho, que a participação (onde disponível) é geralmente considerada um pré-requisito para acreditação do ensaio. Convém que os participantes implementem um procedimento documentado para investigar e tratar índices z (z-scores) insatisfatórios.

## 11. ATENDIMENTO AO PARTICIPANTE, RECLAMAÇÕES E CONTESTAÇÕES

O provedor do PCI nitritos e nitratos compromete-se a corrigir prontamente qualquer equívoco que tenha cometido. O laboratório participante que tiver dúvidas ou contestações quanto ao tratamento estatístico ou avaliação de seu desempenho, bem como considerações e sugestões para o aprimoramento do trabalho desenvolvido poderá preencher o Formulário de sugestões, esclarecimentos e apelações (que acompanha este relatório) e enviar à coordenação do programa, para o email: **provedor\_alimentos@ial.sp.gov.br**. As apelações serão avaliadas no período estabelecido no cronograma constante no Protocolo do PCI, e, quando pertinentes, incluídas no relatório final.

O provedor 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.

## 12. USO DOS RESULTADOS PELAS PARTES INTERESSADAS

É responsabilidade dos participantes assegurarem-se de que sejam fornecidas todas as informações apropriadas aos organismos de acreditação, organismos reguladores e outras partes interessadas que tenham o objetivo de avaliar os participantes de acordo com a sua competência.

## 13. REFERÊNCIAS

ABNT ISO Guia 34. Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência. 2012. 41p.

ABNT ISO Guia 35. Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação. 2012. 73p.

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.

BRASIL. Instrução Normativa n.20, de 21 de julho de 1999. A Secretaria de Defesa Agropecuária, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento oficializa os métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura. **Diário Oficial da União**, Brasília, n.173, 9 set. 1999. Seção 1, p.30-31.

BRASIL. Instrução Normativa n. 51, de 29 de dezembro de 2006. O Ministro de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento adota o regulamento técnico de atribuição de aditivos, e seus limites da categoria de alimentos 8. Carne e produtos cárneos. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 3, 4 jan. 2007. Seção 1, p.14-18.

BRASIL. Portaria n.1004, de 11 de dezembro de 1998. A Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde aprova o regulamento técnico de atribuição de função de aditivos, e seus limites máximos de uso para a categoria 8 - carnes e produtos cárneos. **Diário Oficial da União**, Brasília, n.239, 14 dez. 1998. Seção 1, p.28-32.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4 ed. Brasília: ANVISA/MS, 2005, p. 515-522.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 13528: Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. First edition. Geneva, Switzerland (2005).

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 3091: Meat and meat products – Determination of nitrate content (Reference method). First edition. Geneva, Switzerland (1975).

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 2918: Meat and meat products – Determination of nitrite content (Reference method). First edition. Geneva, Switzerland (1975).

LANARA. Laboratório Nacional de Referência Animal. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físicos e químicos. Brasília, 1981. p. II-17 - II-19.

THOMPSON, M. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. Analyst, 125, 385-386, 2000.

THOMPSON, M., ELLISON, S.L.R., WOOD, R. IUPAC/ISO/AOAC: Protocolo internacional harmonizado para ensaios de proficiência de laboratórios analíticos (químicos). Pure Appl. Chem., v.78, n.1, p.145-196, 2006. Versão traduzida (Revisão 2). Disponível em: [www.inmetro.gov.br/credenciamento/ct/protocolo.pdf](http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/ct/protocolo.pdf).

WHO. World Health Organization. Food Additives Series Nº 35. Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. Forty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, 1996.

WHO. World Health Organization. Food Additives Series Nº 50. Safety Evaluation of Certain Food Additives. Fifty-ninth meeting of the Joint FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, 2003.

## **ANEXOS**

### **Anexo A - Relação dos laboratórios participantes**

Bioagri Análise de Alimentos Ltda – Laboratório Físico-químico (São Paulo – SP)

BRF SA – Laboratório Central (Jundiaí-SP)

Cerelab Laboratório de Análise de Alimentos – Laboratório de Físico-química (São Paulo – SP)

Cetal S/C Ltda – Laboratório Físico-Químico (Mogi das Cruzes – SP)

Frimesa Cooperativa Central – Laboratório (Medianeira – PR)

Fundação Ezequiel Dias - FUNED – Diretoria do Instituto Octávio Magalhães – Divisão de Vigilância Sanitária – Serviço de Química – Laboratório de Química Bromatológica – DIOM/DIVISA/SQ/LQB (Belo Horizonte- MG)

Frigorífico Marba – Laboratório da Qualidade (São Bernardo do Campo – SP)

Fundação Ciência e Tecnologia do RS - CIENTEC – Departamento de Química – Laboratório de Química de Alimentos (Porto alegre – RS)

Fuvates - Unianálises (Lajeado – RS)

Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL – Centro de Tecnologia de Carnes - CTC (Campinas – SP)

Instituto de Tecnologia do Paraná - TECPAR – Laboratório de Alimentos e Medicamentos (Curitiba – PR)

Instituto Mineiro de Agropecuária - IMA - Gerência da Rede Laboratorial/GRL - Laboratório de Química Agropecuária/LQA – Laboratório de Físico-Química de Alimentos - LAFQ (Contagem – MG)

Kienast & Kratschmer Ltda – Laboratório Físico-químico – Controle de Qualidade (Santo André – SP)

Labor Três Laboratórios e Consultoria Técnica Ltda - Laboratório de Físico Química (São Paulo – SP)

Laboratório Alac Ltda – Laboratório de Alimentos (Garibaldi – RS)

Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN/CE – Divisão de Produtos/Físico-químico de Alimentos (Fortaleza – CE)

Laboratório Central de Saúde Pública Estadual - LACEN/MS – Gerência de Bromatologia e Química – Setor de Físico-Química de Alimentos (Campo Grande – MS)

Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina - LACEN/SC – Área de Produtos e Meio Ambiente - Laboratório de Físico Química de Alimentos (Florianópolis – SC)

Laboratório Central do Estado do Pará - LACEN/PA – Setor de Análises Físico-químicas de Alimentos (Belém-PA)

Laboratório de Controle de Produtos do Município do Rio de Janeiro - SUBVISA – Laboratório de físico-química de alimentos (Rio de Janeiro – RJ)

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

Laboratório Nacional Agropecuário em Goiás - LANAGRO/GO – Laboratório de Físico-Química de Produtos de Origem Animal e Água – POA (Goiânia – GO)

Laboratório São Camilo de Análise de Alimentos e Água Ltda – Laboratório de físico-química - Bioagri (Maringá-PR)

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/RS - Laboratório de Produtos de Origem Animal - Serviço Laboratorial Avançado de Santa Catarina - POA/SLAV/SC (São José – SC)

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – LANAGRO/MG – Laboratório de Físico-Química de Produtos de Origem Animal - Serviço Laboratorial Avançado no Estado do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro - RJ)

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

SFDK Laboratório de análise de Produtos Ltda (São Paulo – SP)

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

Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (Piracicaba – SP)

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Laboratório de Química de Alimentos (Florianópolis – SC).



## Anexo B

## Quadro 1. Informações dos laboratórios sobre os métodos utilizados e controle de qualidade analítica

Código do laboratório	Técnicas	Referências bibliográficas dos métodos	Métodos validados	Nitritos (mg/kg) em NaNO <sub>2</sub>		Nitratos (mg/kg) em NaNO <sub>3</sub>		Laboratório acreditado pelo Inmetro para os ensaios	Métodos utilizados	Controles internos de qualidade ou fator de correção de recuperação	Massa da amostra (g)
				LOQ	U	LOQ	U				
01	Eletroforese capilar	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos) BETTA, F.B.; VITALLI, L.; FETT, R.; COSTA, A.C.O. Development and validation of a sub-minute capillary zone electrophoresis method for determination of nitrate and nitrite in baby foods. Talanta, v. 122, p. 23–29, 2014.	Sim - Diretriz: 2002/CE/657 e Manual da Garantia da qualidade Analítica (MAPA)	5,0	6,9 (k=2)	5,0	7,8 (k=2)	Não	Rotina	Sim - Amostra fortificada e controle de recuperação	≥ 2 a <5
02	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Sim - Diretriz: EURACHEM; INMETRO DOC-CGCRE-008	3,0	23,0 (k=2,16)	-	-	Não	Rotina	Sim - Carta controle	≥ 10 a <11
03	Espectrofotometria	ISO 3091 (1975)-Meat and meat products-Determination of nitrate content (Reference method) ISO 2918 (1975)-Meat and meat products-Determination of nitrite content (Reference Method)	Sim - Diretriz: DOC-CGCRE-08 rev.04	20	7,8 (k=4,53)	20	9,7 (k=4,53)	Não	Rotina	Sim - Participação no mínimo anual em ensaio de proficiência	≥ 10 a <11
04	Eletroforese capilar	Método adaptado de: DELLA BETTA, F.; VITALI, L.; FETT, R.; COSTA, A.C.O. Development and validation of a sub-minute capillary zone electrophoresis method for determination of nitrate and nitrite in baby foods. Talanta, Florianópolis, v. 122, p. 23–29, 2014.	Sim - Diretriz: EURACHEM (1998) - The fitness for purpose of analytical methods, a laboratory guide to method validation and related topics, (1 <sup>st</sup> ed.). Teddington, UK.	19,6	Não avaliado	12 (em NaNO <sub>3</sub> )	Não avaliado	Não	Esporadicamente	Sim - Amostra fortificada	≥ 2 a <5

Código do laboratório	Técnicas	Referências bibliográficas dos métodos	Métodos validados	Nitritos (mg/kg) em NaNO <sub>2</sub>		Nitratos (mg/kg) em NaNO <sub>2</sub>		Laboratório acreditado pelo Inmetro para os ensaios	Métodos utilizados	Controles internos de qualidade ou fator de correção de recuperação	Massa da amostra (g)
				LOQ	U	LOQ	U				
05	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	É um método normalizado	1,5	--	-	-	Não	Rotina	Não	≥ 10 a <11
06	Espectrofotometria	Instituto Adolfo Lutz - Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4º ed. Brasília: ANVISA, 2005. Cap. XIII – 283/IV (nitritos) e 284/IV (nitratos).	Não	-	-	-	-	Não	Rotina	-	≥ 10 a <11
07	Espectrofotometria	Lara W. L. et al – Determinação de nitratos e nitritos em conservas de carne. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 38 (2): 161-166, 1978.	Não	2,0	-	-	-	Não	Rotina	Não	≥ 10 a <11
08	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Não	-	-	-	-	Não	Rotina	Não	≥ 10 a <11
09	Espectrofotometria	*POP - Procedimento Operacional Padrão	Não	-	-	-	-	Não	Rotina	Não	≥ 10 a <11
10	Espectrofotometria	Instituto Adolfo Lutz - Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4º ed. Brasília: ANVISA, 2005. Cap. XIII – 283/IV (nitritos) e 284/IV (nitratos).	Não	-	-	-	-	Não	Esporadicamente	Não	≥ 10 a < 11
11	Espectrofotometria	Instituto Adolfo Lutz - Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4º ed. Brasília: ANVISA, 2005. Cap. XIII – 283/IV (nitritos) e 284/IV (nitratos).	Não	-	-	-	-	Não	Rotina	Não	≥ 10 a < 11
12	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Sim - Diretriz: DOQ-CGCRE-008	0,1	0,032 (k=2)	0,1	0,032 (k=2)	Sim	Rotina	Sim - Material de referência	≥ 10 a < 11
13	Espectrofotometria	Instituto Adolfo Lutz - Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4º ed. Brasília: ANVISA, 2005. Cap. XIII – 283/IV (nitritos) e 284/IV (nitratos).	Não	0,0408	-	0,0495	-	Não	Rotina	Sim - Uso de padrão e controle da eficiência da coluna de cádmio	≥ 10 a < 11

Código do laboratório	Técnicas	Referências bibliográficas dos métodos	Métodos validados	Nitritos (mg/kg) em NaNO <sub>2</sub>		Nitratos (mg/kg) em NaNO <sub>2</sub>		Laboratório acreditado pelo Inmetro para os ensaios	Métodos utilizados	Controles internos de qualidade ou fator de correção de recuperação	Massa da amostra (g)
				LOQ	U	LOQ	U				
14	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Não	5,0	-	5,0	-	Não	Rotina	Sim **	≥ 10 a < 11
15	Espectrofotometria	Instituto Adolfo Lutz - Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4º ed. Brasília: ANVISA, 2005. Cap. XIII – 283/IV (nitritos) e 284/IV (nitratos).	Não	-	5,2 (k=2)	-	1,1 (k=2)	Não	Rotina	Sim - Participação em programa de ensaio de proficiência, ensaios em triplicata, cálculo de recuperação da coluna de cádmio com solução padrão	≥ 5 a < 10
16	Espectrofotometria	Instituto Adolfo Lutz - Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4º ed. Brasília: ANVISA, 2005. Cap. XIII – 283/IV (nitritos) e 284/IV (nitratos).	Não	1	-	5	-	Não	Rotina	Não	≥ 11 a < 25
17	CLAE	Merino et al. Journal of AOAC International vol. 83, nº2, 2000.	Não	0,5	3,78 (k=2)	0,5	3,84 (K=2)	Não	Esporadicamente	Sim - Amostra fortificada	≥ 5 a < 10
18	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos) Instituto Adolfo Lutz - Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4º ed. Brasília: ANVISA, 2005. Cap. XIII – 283/IV (nitritos) e 284/IV (nitratos).	Sim	5	4,1 (k=2)	5	4,1 (k=2)	Sim	Rotina	Sim - Carta controle com carne	≥ 10 a < 11
19	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Não (Método normalizado)	3	13 (k=2)	10	13 (k=2)	Sim***	Rotina	Não	≥ 5 a < 10
20	Espectrofotometria	LANARA - Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes - MAPA, 1981.Cap.II pg.19	Não	-	-	-	-	Não	Rotina	Sim - Nitrato e nitrito de sódio PA para realização das curvas, conforme metodologia	≥ 10 a < 11

Código do laboratório	Técnicas	Referências bibliográficas dos métodos	Métodos validados	Nitritos (mg/kg) em NaNO <sub>2</sub>		Nitratos (mg/kg) em NaNO <sub>2</sub>		Laboratório acreditado pelo Inmetro para os ensaios	Métodos utilizados	Controles internos de qualidade ou fator de correção de recuperação	Massa da amostra (g)
				LOQ	U	LOQ	U				
21	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Sim	5	34,5% (k=2)	5	36,4% (k=2)	Sim***	Rotina	Sim – Padrão de nitrito 0,10 mg/L	≥ 10 a < 11
22	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Sim - Diretriz: INMETRO	≥ 3	1,3 (k=2,65)	≥10	2,4 (k=2,65)	Sim ***	Rotina	Não	≥ 10 a < 11
23	Espectrofotometria	*Núcleo de Documentação. Determinação de Nitrato e Nitrito	Não	-	-	-	-	Não	Rotina	Não	≥ 10 a < 11
24	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Não	10	10 (k=2,07)	15	15 (k=2,11)	Não	Rotina	Sim - Carta controle, padrão interno	≥ 10 a < 11
25	Espectrofotometria	Instituto Adolfo Lutz - Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4º ed. Brasília: ANVISA, 2005. Cap. XIII – 283/IV (nitritos) e 284/IV (nitratos).	Não	-	-	-	-	Não	Esporadicamente	Não	≥ 10 a < 11
26	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Não	1,2	-	1,5	-	Não	Rotina	Sim - Material de referência	≥ 10 a < 11
27	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Não	<18,68	1,85	<5,75	6,13	Sim ***	Rotina	Sim - Utilização de padrões ISO GUIDE/ testes de recuperação/ verificação de curva	≥ 10 a < 11
28	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Sim	5,0	± 0,42 (k=2)	25,0	±1,92 (k=2)	Sim***	Rotina	Sim	≥ 10 a < 11

Código do laboratório	Técnicas	Referências bibliográficas dos métodos	Métodos validados	Nitritos (mg/kg) em NaNO <sub>2</sub>		Nitratos (mg/kg) em NaNO <sub>2</sub>		Laboratório acreditado pelo Inmetro para os ensaios	Métodos utilizados	Controles internos de qualidade ou fator de correção de recuperação	Massa da amostra (g)
				LOQ	U	LOQ	U				
29	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Sim	0,85	-	0,80	-	-	Rotina	-	≥ 10 a < 11
30	Espectrofotometria	Instrução Normativa nº 20/1999, SDA/MAPA – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura (Nitratos e Nitritos)	Sim	0,1	-	0,1	-	Sim***	Rotina	Não	≥ 11 a < 25

\*Referências bibliográficas dos métodos reportados pelos laboratórios participantes tratam-se de documentos internos da instituição que foram parcialmente omitidos para preservar a confidencialidade.

\*\* Sim: ensaios de recuperação com soluções padrão de nitrato de sódio, que é submetido ao tratamento de redução a cada batelada analítica e avaliado o percentual de recuperação deste processo. Também é verificada a reprodutibilidade da curva de calibração a cada batelada, com a leitura de pelo menos dois pontos aleatórios (não é realizada uma nova curva de calibração a cada bateria de análise, devido ao elevado número de ensaios que seriam necessários). Para ambos os controles internos há limites de tolerância especificados em procedimentos internos.

\*\*\* Nº de acreditação omitido para preservar a confidencialidade do laboratório.

**Quadro 2.** Informações adicionais dos laboratórios sobre os métodos e participações em programas

Código do laboratório	Reagentes utilizados na extração	Reagentes utilizados na desproteção da amostra	Redução do nitrato a nitrito	Correção do resultado	Reagentes de cor	Comprimento de onda (nm)	Participações prévias em outros PEPs para nitritos e nitratos em produtos cárneos	Comentários (como submetidos pelos participantes)
01	Água quente Outros: Solução de 5% Tetraborato de sódio	Acetonitrila	Não se aplica	----	Não se aplica	210	Não	Extração realizada em banho-maria a 65°C sob agitação constante
02	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Não se aplica	---	Sulfanilamida e NED	540	Sim - Fapas Proficiency Test, Programa Interlaboratorial Físico-químico de alimentos – PEP SENAI/SC-LANAL	---
03	Solução de bórax a quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 97,8%	Não	Sulfanilamida e NED	538	Sim - PEP-LANAL (SENAI/SC – participação no mínimo anual)	---
04	Solução de bórax a quente	Não se aplica	Não se aplica	---	Não se aplica	210	Não	---
05	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Não se aplica	---	Soluções de ácido sulfanílico e cloridrato de alfa-naftilamina	540	Sim - Em 2010 FAPAS	---
06	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 97	Não	Sulfanilamida e NED	540	Sim - PEP SENAI	****
07	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 100,8%	Não	Solução de alfa-naftol	474	Não	---
08	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra	----	Sulfanilamida e NED	540	Não	---
09	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra - Eficiência da redução (%): 83,8%	Não	Solução de alfa-naftol	480	Não	---
10	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Não se aplica	---	Sulfanilamida e NED	540	Não	---
11	Solução de bórax a quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio	---	Sulfanilamida e NED	540	Não	---
12	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 97	Não	Sulfanilamida e NED	540	Sim - LGC (round 205)	---

Código do laboratório	Reagentes utilizados na extração	Reagentes utilizados na desproteção da amostra	Redução do nitrato a nitrito	Correção do resultado	Reagentes de cor	Comprimento de onda (nm)	Participações prévias em outros PEPs para nitritos e nitratos em produtos cárneos	Comentários (como submetidos pelos participantes)
13	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 100,959	Não	Sulfanilamida e NED	540	Não	---
14	Solução de bórax a quente Água quente	Carrez I e II	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra - Eficiência da redução (%): 101,7%	---	Outros: Ácido sulfanílico, alfa-naftol, ácido acético 15%	480	Não	*****
15	Solução de bórax a quente Água quente	Carez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 84,7	Não	Sulfanilamida e NED	540	Sim - PEP-SENAI/SC (rodada 11/13)	---
16	Solução de bórax a quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 98,2	Não	Sulfanilamida e NED	540	Não	---
17	Água fria	Não se aplica	Não se aplica	---	Não se aplica	214	Não	---
18	Água quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 95	Não	Sulfanilamida e NED	543	Sim - LGC Standards QMAS	---
19	Solução de bórax a quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 0,98	Sim	Sulfanilamida e NED	540	Sim - SENAI Rodadas 3 e 7/2013	---
20	Água quente	Carrez I e II	Não se aplica	---	Soluções de ácido sulfanílico e cloridrato de alfa-naftilamina - Outros: difenilamina para o ensaio de nitrato	520 para nitrito 600 para nitrato	Não	---
21	Água quente	Carrez I e II	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra	---	Soluções de ácido sulfanílico e cloridrato de alfa-naftilamina	540	Não	---
22	Solução de bórax a quente	Carrez I e II	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra - Eficiência da redução (%): 101,45	Não	Sulfanilamida e NED	540	Sim - PEP 6/08-1 (2008) - PEP 11/13-1 (2013)	---
23	Solução de bórax a quente	Carrez I e II	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra - Eficiência da redução (%): 80,05	Não	Solução de alfa-naftol	480	Não	---

Código do laboratório	Reagentes utilizados na extração	Reagentes utilizados na desproteinização da amostra	Redução do nitrato a nitrito	Correção do resultado	Reagentes de cor	Comprimento de onda (nm)	Participações prévias em outros PEPs para nitritos e nitratos em produtos cárneos	Comentários (como submetidos pelos participantes)
24	Água quente	Carrez I e II	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra - Eficiência da redução (%): 83,77%	---	Sulfanilamida e NED	540	Sim - PEP SENAI 007/13-1 Nitritos e Nitratos	---
25	Solução de bórax a quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio - Eficiência da coluna (%): 86%	Não	Sulfanilamida e NED	540	Não	---
26	Solução de bórax a quente	Ferrocianeto de potássio 15% (m/v) - Sulfato de zinco 30% (m/v)	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra - Eficiência da redução (%): 98,81	Não	Sulfanilamida e NED	540	Não	---
27	Solução de bórax a quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio	---	Sulfanilamida e NED	540	Não	---
28	Solução de bórax a quente Água a quente	Carrez I e II	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra - Eficiência da redução (%): 100%	Não	Sulfanilamida e NED	540	Não	---
29	Solução de bórax a quente	Carrez I e II	Adição de cádmio esponjoso à solução da amostra	Não	Sulfanilamida e NED	540	Sim - PEP SENAI e LGC	---
30	Solução de bórax a quente Água a quente	Carrez I e II	Coluna de cádmio Eficiência da coluna (%): 100,09	Não	Sulfanilamida e NED	540	Não	---

\*\*\*\* Comentários adicionais: Determinação do limite de quantificação, incerteza expandida e fator de abrangência estão sendo implantados, por isso não há dados para descrever.

\*\*\*\*\* Comentários adicionais: 1) Utiliza-se o método da IN 20/1999 com adaptações. Ex.: utiliza-se os reagentes alfa-naftol e ácido sulfanílico em substituição à sulfanilamida e alfa-naftiletildenodiamina. Para dissolução destes sais utiliza-se ácido acético ao invés de ácido clorídrico, como especificado no item 11; 2) Apesar do método ainda não ter sido submetido a uma validação completa, é realizado o estudo dos parâmetros de linearidade toda vez que uma nova curva de calibração é elaborada (tratamento de outliers, teste de linearidade, teste de auto-correlação, teste de homogeneidade da variância e desvio da linearidade).