

Desenvolvimento de material de referência para ensaio de proficiência físico químico de alimentos

Development of reference material for physical chemical proficiency testing of foods

Joseane Cristina Bassani^{1,2}, Daiane Chiarello¹, Deisy Maria Memlak¹, Marina Zuffo¹, Lilian Daiana Hauptenthal²

¹ Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI); ² Universidade Federal Tecnológica do Paraná (UTFPR).

E-mail: josibassani@sc.senai.br

Resumo: O MR foi produzido a partir de carne de frango sendo submetido ao teste de homogeneidade a fim de identificar possível heterogeneidade. A avaliação da estabilidade a curto prazo foi realizada simulando condições de transporte nas temperaturas -20, 25 e 60°C. A avaliação dos resultados de homogeneidade foi apresentada através da ANOVA, mediante níveis de significância de 5%, que possibilitou a verificação da homogeneidade do lote. Na avaliação do teste de estabilidade, verificou-se por meio de regressão que nas temperaturas avaliadas, as amostras se mantiveram estáveis no período de 30 dias, possibilitando a utilização do material em ensaios de proficiência.

Palavras-chave: homogeneidade; estabilidade; carne; frango.

Abstract: The MR was produced from chicken meat being subjected to the homogeneity test in order to identify possible heterogeneity. The short-term stability assessment was performed simulating transport conditions at temperatures of -20, 25 and 60 ° C. An analysis of the homogeneity results and proposed by ANOVA, by levels of significance of 5%, allowed a verification of the homogeneity of the lot. In the evaluation of the stability test, it was verified by means of regression that in the evaluated temperatures, as samples were kept stable in the period of 30 days, making possible a use of the material in Proficiency Testing Schemes.

Keywords: Homogeneity; stability; meat; chicken.

1. INTRODUÇÃO

A implantação de programas de garantia da qualidade nas práticas laboratoriais tem sido de grande importância para as empresas. Porém apenas o emprego de métodos oficiais de análise

e controle internos acaba não garantindo resultados fidedignos¹.

A norma NBR ISO/IEC 17025 (2005) descreve os requisitos que os laboratórios de ensaio e de

calibração devem atender para demonstrar sua competência técnica e capacidade de produzir resultados tecnicamente precisos, confiáveis e rastreáveis^{2,3}. Dentre os requisitos apontados nesta norma, está a participação periódica do laboratório em programas de ensaios de proficiência (EP) e/ou em comparações interlaboratoriais^{2,1}.

O ensaio de proficiência proporciona aos laboratórios avaliar seu desempenho, apresentar resultados confiáveis, identificar problemas possibilitar a tomada de ações, avaliar a eficiência dos controles internos, validar métodos, reconhecer os resultados de ensaios em nível nacional e internacional, e é uma ferramenta de controle de qualidade^{4,5}.

Os Materiais de Referência preparados para serem utilizados em Ensaios de Proficiência, devem ser homogêneos e estáveis, assegurando a distribuição de unidades com propriedades semelhantes, próximas de um valor padrão^{1,5,6}. MR segundo a ISO GUIA 34:2012, é um material suficientemente homogêneo e apresenta-se estável com relação a uma ou mais propriedades especificadas.

Apesar do aumento da procura da participação em EP, a disponibilidade destes ensaios no país é escassa. A grande maioria das ofertas é dada por provedores internacionais².

O presente trabalho tem por objetivo produzir um MR, utilizando carne de frango, sendo está economicamente acessível; avaliar a homogeneidade do lote produzido e a estabilidade do material em temperaturas de -20 °C, 25 °C e 60 °C no decorrer de 30 dias, simulando condições de temperatura extremas no qual podem ser submetidas durante o transporte até o cliente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Produção do material de referência

O preparo do MR foi realizado no laboratório de Produção de Matrizes do Provedor de Ensaios de Proficiência do SENAI – Chapecó. O lote de 115 latas do material foi preparado a partir de carne de frango. As etapas de produção estão descritas no fluxograma apresentado na figura 1.

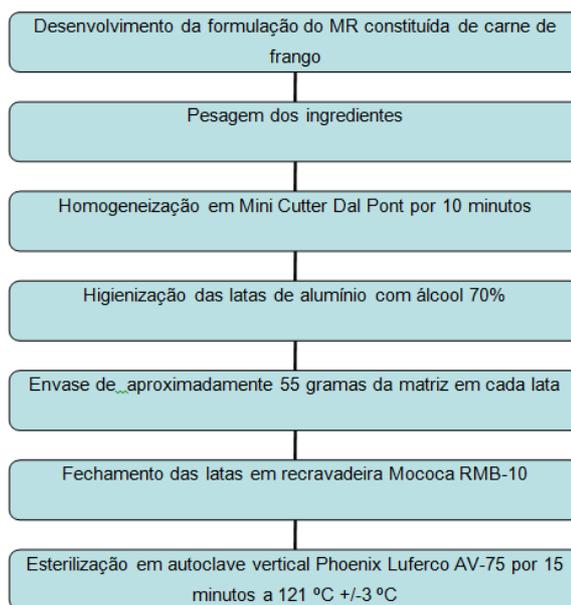


Figura 1 – Fluxograma de produção do MR.

2.1. Estudo da homogeneidade

Para a avaliação da homogeneidade foi realizada a seleção de 10 latas aleatórias. Em cada lata, procedeu-se os ensaios de Proteína, Umidade e Voláteis, Cinzas e Lipídios, seguindo as metodologias descritas na Instrução Normativa nº20 de 21 de julho de 1999 do Ministério da agricultura Pecuária e Abastecimento. Cada lata foi avaliada em duplicata e em condições de repetitividade. O teste de Cochran foi aplicado com o propósito de eliminar possíveis valores dispersos. O modelo estatístico da ANOVA foi utilizado como ferramenta estatística para avaliação das homogeneidades. Quando $F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$, ($\alpha=5\%$) se aceita que há homogeneidade entre as amostras⁷. Foi realizada também a avaliação da precisão do teste da homogeneidade, segundo Fearn e Thompson⁸,

que estabelecem a relação entre o desvio padrão analítico e desvio padrão atribuído deve ser menor que 0,5 ($\sigma_a/\sigma_p < 0,5$). Para este caso foi considerado o desvio padrão de Horwitz como o valor de σ_p . A avaliação da homogeneidade foi realizada comparando-se a razão entre o valor da variância entre as amostras (S_s) e o valor de σ_p com o critério estabelecido no Protocolo Harmonizado que 0,3, em que o MR é considerado homogêneo quando $S_s/\sigma_p < 0,3$.

2.2. Estudo da estabilidade

Para a avaliação da estabilidade em curto prazo foram utilizados três grupos de três latas. Para a simulação do transporte em diferentes temperaturas (-20 °C, 25 °C e 60 °C) foi aplicada a metodologia de “estudo clássico”⁹, com a análise sob condições de reprodutibilidade. A cada 10 dias, 3 latas eram retiradas do armazenamento para a realização dos ensaios em duplicata. O período de avaliação foi de 30 dias. Para a avaliação estatística da estabilidade foi aplicada a metodologia indicada pela ISO GUIA 35:2012, que estabelece a utilização da análise de regressão linear simples para a verificação da relação entre as duas variáveis (concentração x tempo). Na análise de regressão linear foi utilizado o programa Microsoft Excel, obtendo-se o valor do da inclinação e o p-valor. A partir de resultados de p-valor maior que 0,05 e o critério da equação (1) ser atendido, pode ser inferido que a inclinação e regressão são insignificantes e como consequência não há instabilidade do material.

$$|b_1| < t(0,05; n - 2) \times s(b_1) \quad (1)$$

Onde b_1 é a inclinação da reta, s é o desvio padrão dos valores de propriedade, n é o número de pontos estudados e t é o t de Student.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estudo da homogeneidade

Os resultados obtidos na avaliação da homogeneidade e na análise da variância (ANOVA) estão apresentados na tabela 1. O teste de Cochran, não identificou valores dispersos. Tabela 01. Resultados obtidos no teste de homogeneidade e valores de F através da ANOVA.

| Ensaio | Média ± desvio padrão* | Valor de F** | | S_s/σ_p |
|---------------------------|------------------------|------------------|----------------------|----------------|
| | | F _{cal} | F _{crítico} | |
| Umidade e Voláteis | 62,17 ± 0,40 | 1,00 | 4,41 | 0,22 |
| Proteína | 20,20 ± 0,59 | 3,57 | 4,49 | 0,28 |
| Cinzas | 1,61 ± 0,03 | 0,18 | 4,49 | 0,22 |
| Lipídios | 14,69 ± 0,78 | 0,72 | 4,49 | 0,29 |

*Média em g/100g ± desvio padrão dos resultados em duplicata. **F_{calculado} e F_{crítico}: resultado obtido através de análise de variância ANOVA. σ é valor alvo para o desvio padrão para os ensaios de proficiência na concentração do analito.

Ao serem analisados os valores de F_{calc} e F_{tabelado} e os limites sugeridos por Fearn e Thompson⁸ para a avaliação da precisão do teste da homogeneidade ($\sigma_a/\sigma_p < 0,5$), foi observado que o lote preparado obedeceu à relação citada. Também a relação S_s/σ obtida para todos os ensaios foi menor que o valor de 0,3 que é o critério do Protocolo Internacional Harmonizado. Portanto o lote foi considerado homogêneo.

3.1. Estudo da estabilidade

Os resultados da análise estatística de regressão aplicada aos dados indicou que o MR produzido se manteve estável durante o período do estudo de 30 dias às temperaturas de armazenamento (-20 °C, 25 °C e 60 °C). A temperatura de 25 °C foi considerada a temperatura de referência. Os resultados obtidos da regressão para cada ensaio nas diferentes temperaturas estão apresentados nas tabelas 2, 3 e 4. Através dos resultados é possível afirmar que o transporte do lote pode ser realizado nas temperaturas estudadas, não sofrendo influencia significativa das mesmas,

portanto é possível realizar o envio do material para qualquer região do Brasil.

Tabela 2 – Resultados da análise de regressão para temperatura de -20 °C.

| Ensaio | *Estabilidade a -20 °C | p-valor | Coefficiente (b ₁) | erro padrão (sb ₁) | t(0,05;n-2)*sb ₁ |
|--------------------|------------------------|---------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| Umidade e Voláteis | 62,22 | 0,9835 | 0,0001 | 0,0043 | 0,0184 |
| Proteína | 20,34 | 0,8451 | 0,0003 | 0,0014 | 0,0058 |
| Cinzas | 1,61 | 0,2652 | -0,0018 | 0,0012 | 0,0051 |
| Lipídios | 14,15 | 0,6068 | 0,0015 | 0,0025 | 0,0107 |

*Média em g/100g dos resultados das análises em duplicata.

Tabela 3 – Resultados da análise de regressão para temperatura de 25 °C.

| Ensaio | *Estabilidade a 25 °C | p-valor | Coefficiente b ₁ | erro padrão (sb ₁) | t(0,05;n-2)*sb ₁ |
|--------------------|-----------------------|---------|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| Umidade e Voláteis | 62,15 | 0,3176 | 0,0142 | 0,0108 | 0,0463 |
| Proteína | 20,79 | 0,9705 | -0,0011 | 0,0264 | 0,1134 |
| Cinzas | 1,58 | 0,5955 | -0,0009 | 0,0014 | 0,0062 |
| Lipídios | 14,53 | 0,1203 | 0,0131 | 0,0050 | 0,0215 |

*Média em g/100g dos resultados das análises em duplicata.

Tabela 3 – Resultados da análise de regressão para temperatura de 60 °C.

| Ensaio | *Estabilidade a 60 °C | p-valor | Coefficiente b ₁ | erro padrão (sb ₁) | t(0,05;n-2)*sb ₁ |
|--------------------|-----------------------|---------|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| Umidade e Voláteis | 62,32 | 0,0871 | 0,0090 | 0,0028 | 0,0122 |
| Proteína | 20,5 | 0,1085 | 0,0278 | 0,0100 | 0,0430 |
| Cinzas | 1,6 | 0,8024 | 0,0007 | 0,0025 | 0,0106 |
| Lipídios | 14,49 | 0,0015 | 0,0015 | 0,0216 | 0,0929 |

*Média em g/100g dos resultados das análises em duplicata.

A produção do material a partir de carne de frango apresentou bons resultados nos testes de avaliação de homogeneidade e estabilidade. Welch et al.¹⁰, obteve resultados satisfatórios e certificou um material de referencia produzido a partir de uma mistura de carnes de porco e de frango. Contudo, por meio dos resultados é possível perceber que a produção utilizando somente carne de frango apresentou bons resultados.

4. CONCLUSÃO

Considerando que o MR produzido deve ser homogêneo e estável, o lote produzido a partir de carne de frango apresenta os atributos necessários de um MR podendo ser utilizados em Ensaio de Proficiências. O MR apresentou estabilidade frente às temperaturas avaliadas no período de 30 dias para todos os parâmetros avaliados, considerando que o estudo foi realizado avaliando a temperatura máxima de 60 °C.

A partir do material desenvolvido neste estudo, pode ser produzido um novo lote para disponibilizar em um EP em nível nacional, de forma a contribuir para a garantia da qualidade analítica dos laboratórios e continuar os estudos de estabilidade a longo prazo e possível certificação do material.

5. REFERÊNCIAS

1. COSTA, J., et al., **Vigil. sanit. debate**; v. 3(3).p.11-18, 2015.
2. ROSAS, C., de O.. Fundação Oswaldo Cruz, Inst. Nac. de Cont de Qual. em Saúde, Prog. de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Rio de Janeiro, 2009.
3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Rio de Janeiro: ABNT, 2005. ISO/IEC 17025.
4. INCQS. *Fundação Oswaldo Cruz.*, 2013.
5. Brandão, M. L. L.; Costa, J. de C. B. da; Farias, F. M. de; Rosas, C. de O.; Bricio, S.M.L.; Nascimento, J. dos S.; Leite, P. C.. **Brazilian Journal of Food Technology, Campinas**, v. 16, n. 1, p. 73-79, jan./mar. 2013.
6. ULRICH, J., C.. **Inst. de Pesquisas Energéticas e Nucleares**. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2011.
7. Cardoso, M. H.; Wohlers M.; Nobrega, A. W. da; Vital, H. de C.; Arantes, S. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** vol.30, n.2, pp.429-438, 2010.
8. Fearn T, Thompson M. *Analyst*. 2001; 126: 1414-7.
9. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Rio de Janeiro: ABNT, 2012. Guia 35.

10. Welch, M. J.; Colbert, J. C.; Gill, L. M.;
Phinney, C. S.; Sharpless, K. E.; Sniegoski, L.
T.; Wood, L. J. **Fresenius J Anal Chem** . v.370.
p.:42–47, 2001.