

**Relatório Final do Ensaio de
Proficiência para Determinação
de Agrotóxicos em Alimentos
5ª rodada – Matriz Tomate**

ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS – 5ª RODADA – MATRIZ TOMATE

RELATÓRIO FINAL - Nº 001/2009

ORGANIZAÇÕES PROMOTORAS DO ENSAIO DE PROFICIÊNCIA



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



Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS
Avenida Brasil, 4365 - Manguinhos
Rio de Janeiro - RJ - Brasil - Cx. Postal 926 - CEP: 21040-900

COMITÊ DE ORGANIZAÇÃO

Armi Wanderley da Nóbrega (INCQS/Fiocruz)
Damares da Silva Santos (Inmetro/Dimci/Dicep)
Heloisa Cronemberger de Araújo Góes (INCQS/Fiocruz)
Paulo Roberto da Fonseca Santos (Inmetro/Dimci/Dicep)
Valnei Smarçaro da Cunha (Inmetro/Dimci/Dquim)

COMITÊ TÉCNICO

Adherlene Vieira Gouvêa (INCQS/Fiocruz)
Fernando Gustavo Marques Violante (Inmetro/Dimci/Dquim/Labor)
Janaína M. Rodrigues Caixeiro (Inmetro/Dimci/Dquim/Labor)
Joyce Costa Andrade (Inmetro/Dimci/Dicep)
Lucia Helena Pinto Bastos (INCQS/Fiocruz)
Marcus Henrique Campino de La Cruz (INCQS/Fiocruz)
Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso (INCQS/Fiocruz)

ÍNDICE

1. Introdução	2
2. Objetivos	3
3. Preparo e Envio dos Itens de Ensaio	3
3.1. Preparo da Polpa de Tomate	3
3.2. Preparo das Soluções de Agrotóxicos	3
3.3. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio	4
3.4. Envio dos Itens de Ensaio	4
3.5. Instruções de Uso do Material para o Ensaio de Proficiência	4
4. Análise dos Resultados	4
4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios	4
4.2. Estabelecimento dos Valores Designados	5
4.3. Análise Estatística	5
4.3.1. Análise de Resíduos	5
4.3.2. Avaliação da Homogeneidade dos Itens de Ensaio	5
4.3.3. Repetitividade	7
4.3.4. Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência	7
4.3.5. Índice z	8
4.3.6. Análise Robusta	8
5. Resultados das Avaliações da Homogeneidade e da Estabilidade	10
5.1. Avaliação da Homogeneidade	10
5.2. Avaliação da Estabilidade	11
6. Atribuição dos Valores Designados	13
7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes	13
7.1. Resultados dos Laboratórios Participantes	13
7.2. Repetitividade dos Resultados dos Laboratórios	18
7.3. Cálculo do Índice z	19
7.4. Capacidade Analítica e Viabilidade Analítica	22
7.5. Agrotóxicos não Fortificados na Amostra, porém Encontrados pelos Laboratórios	24
7.6. Observações Relativas às Características de Desempenho do Método	24
8. Conclusões	27
9. Laboratórios Participantes	29
10. Referências Bibliográficas	31

1. Introdução

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

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

Uma avaliação dos níveis residuais de agrotóxicos em produtos hortifrutigranjeiros é extremamente importante para referenciar os produtores quanto às boas práticas agrícolas e, caso estas não estejam sendo seguidas, permitir a tomada de medidas preventivas e de controle antes que resíduos destes contaminantes químicos afetem o meio ambiente e a saúde da população ou causem graves perdas econômicas. Por ser muito elevado o número de agrotóxicos utilizados nos alimentos, por se encontrarem em concentrações muito baixas (da ordem de mg/kg), e também por estarem presentes em uma grande variedade de matrizes, cada uma com suas particularidades, a identificação e a quantificação destas substâncias nos alimentos torna-se extremamente complexa. Não obstante, é crescente a exigência no mercado internacional quanto a níveis de resíduos de contaminantes em alimentos, cada vez mais reduzidos.

Este relatório apresenta os resultados da avaliação de desempenho dos laboratórios participantes da quinta rodada do Ensaio de Proficiência para a Determinação de Agrotóxicos em Alimentos promovido em parceria pela Diretoria de Metrologia Científica e Industrial (Dimci) do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro) e pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

2. Objetivos

O objetivo deste Ensaio de proficiência é fornecer aos laboratórios participantes uma ferramenta efetiva para verificar sua competência nos ensaios de identificação de agrotóxicos em polpa de tomate, utilizando suas metodologias de rotina. Este EP também contribui para:

- monitorar o desempenho contínuo dos laboratórios de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos;
- aumentar a confiança nos resultados das medições dos laboratórios participantes;
- apoiar os laboratórios na solicitação da acreditação ou sua manutenção segundo a NBR ISO/IEC 17025.

3. Preparo e Envio dos Itens de Ensaio

Os procedimentos de amostragem, preparo dos itens de ensaio e análise foram realizados no Laboratório de Resíduos de Agrotóxicos do INCQS/FIOCRUZ.

3.1. Preparo da Polpa de Tomate

As amostras de tomate foram adquiridas em mercado da cidade do Rio de Janeiro e, através de determinação analítica, foi verificada a ausência de resíduos dos agrotóxicos a serem determinados, sendo então esta polpa considerada adequada à fortificação com os agrotóxicos.

Os tomates, descascados e sem as sementes, foram triturados em liquidificador e parte da polpa resultante, isenta de agrotóxicos, foi separada e congelada para servir como branco de matriz. O restante da polpa foi fortificado com os agrotóxicos desejados, homogeneizado, e posteriormente dividido em alíquotas de $40 \text{ g} \pm 5 \text{ g}$, que foram transferidas para frascos de vidro com tampa de rosca, previamente rotulados, formando cada frasco com amostra um item de ensaio. Estes foram armazenados em freezer ($-15 \text{ }^\circ\text{C}$), até o momento de serem enviados aos laboratórios participantes.

3.2. Preparo das Soluções de Agrotóxicos

As soluções de agrotóxicos foram preparadas, segundo as Boas Práticas de Laboratório, a partir dos padrões de agrotóxicos listados na Tabela 1.

Tabela 1: Padrões de agrotóxicos utilizados no preparo das soluções

Padrão	Pureza (certificado)
Clorpirifós	98,5 %
Fenitrotiona	97,7 %
Oxifluorfem	97,5 %
Permetrina	94,5 %
Trifluralina	99,5 %

Foi preparada solução utilizando os padrões listados acima, em acetona. As concentrações teóricas finais dos agrotóxicos adicionados à polpa de tomate estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Concentrações finais dos agrotóxicos adicionados à polpa de tomate (concentração teórica)

Agrotóxico	Concentração (mg/kg)
Clorpirifós	0,036
Fenitrotiona	0,054
Oxifluorfem	0,056
Permetrina	0,108
Trifluralina	0,057

3.3. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

Foram separados aleatoriamente dez itens de ensaio representativos do conjunto preparado para o teste de homogeneidade. A amostra de polpa de tomate de cada item de ensaio foi dividida em duas partes, que foram analisadas de forma independente.

Para o estudo de estabilidade, os itens de ensaio contendo a polpa de tomate, reservados para este estudo, foram avaliados em cinco períodos diferentes, compreendidos entre o recebimento do item de ensaio pelos laboratórios e o período final de entrega dos resultados.

Os testes estatísticos foram feitos segundo a ISO GUIDE 35:2006 e a norma ISO 13528:2005, e os resultados obtidos nos testes estão apresentados nos itens 5.1 e 5.2 deste relatório.

3.4. Envio dos Itens de Ensaio

Para cada laboratório inscrito na 5ª Rodada do Ensaio de Proficiência para Determinação de Agrotóxicos em Alimentos foram enviados dois itens de ensaio contendo, cada um, cerca de 40 g da polpa de tomate congelada, sendo que um deles continha a polpa fortificada com os agrotóxicos e o outro constituía-se na polpa isenta de agrotóxicos (branco de matriz). Estes foram enviados por via aérea em uma caixa de isopor devidamente lacrada, com gelo seco.

3.5. Instruções de Uso do Material para o Ensaio de Proficiência

As instruções de uso do material relativo ao ensaio de proficiência foram enviadas junto com os itens de ensaio, aos laboratórios inscritos na Rodada.

4. Análise dos Resultados

4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios

Os laboratórios receberam dois itens de ensaio contendo amostra de polpa de tomate e foram orientados a retirar duas porções do item de ensaio com a amostra fortificada com os agrotóxicos, realizando em duplicata a determinação e a quantificação de cada porção. Desta forma, cada

laboratório informou, no máximo, quatro resultados analíticos por amostra para cada agrotóxicos detectado no Formulário de Registro de Resultados.

Além dos resultados analíticos, expressos em mg/kg, os laboratórios participantes informaram também a recuperação (%), o limite de detecção e o limite de quantificação, inerentes ao método empregado.

Com o intuito de identificar problemas relacionados às técnicas analíticas empregadas e fomentar a tomada de ações corretivas, os laboratórios foram orientados também a prestarem algumas informações relevantes, através do Formulário de Registro de Resultados, sobre as técnicas e os equipamentos utilizados nos ensaios.

4.2. Estabelecimento dos Valores Designados

As técnicas de estatística robusta são utilizadas para minimizar a influência que resultados extremos podem ter sobre estimativas de média e desvio-padrão. Sendo assim, a Organização deste Ensaio de Proficiência adotou como valores designados para cada agrotóxico, aqueles oriundos do cálculo da estatística robusta apresentado no item 5.6 da Norma ISO 13528:2005, que é uma norma específica de métodos estatísticos para uso em EP por comparações interlaboratoriais. Seguindo os critérios desta norma, os valores designados foram obtidos pela média robusta dos resultados emitidos por todos os laboratórios participantes e pelo INCQS, conforme os procedimentos estatísticos descritos no item 4.3.6 deste relatório.

4.3. Análise Estatística

Neste tópico estão descritas as análises estatísticas utilizadas para a obtenção dos valores designados, para a avaliação da homogeneidade e da estabilidade das amostras, assim como para a avaliação do desempenho dos laboratórios participantes.

4.3.1. Análise de Resíduos

A análise de resíduos foi empregada para avaliar a estabilidade das amostras de polpa de tomate em relação aos valores de referência das concentrações dos agrotóxicos utilizados neste EP. A análise de resíduos consiste em estimar a variância dos valores utilizados na regressão linear e observar se os valores de concentração apresentam alguma tendência, através da ferramenta estatística de análise de variância (ANOVA). Caso a inclinação da reta ou a não-linearidade não forem significativas, os parâmetros avaliados são considerados estáveis.

4.3.2. Avaliação da Homogeneidade dos Itens de Ensaio

A Norma ISO 13528:2005 no item 4.4, anexo B, fornece procedimentos para avaliar se as amostras do EP estão adequadamente homogêneas e estáveis para o propósito do ensaio. Esta norma oferece ainda a possibilidade de incluir o desvio padrão devido à

heterogeneidade das amostras, no desvio padrão de avaliação de proficiência. O procedimento abordado pela norma ISO 13528 para avaliação da homogeneidade dos itens de ensaio encontra-se resumidamente descrito a seguir:

Primeiramente, deve-se selecionar aleatoriamente um número g de amostras do lote de itens de ensaio preparado, onde $g \geq 10$, retirar duas porções de teste de cada item de ensaio e realizar a análise de todas as porções ($2g$) de forma aleatória, completando todas as séries de medição sob condições de repetitividade.

Calcular a média, $x_{t,..}$, entre as duas porções de teste ($x_{t,1}$ e $x_{t,2}$), para cada amostra, e em seguida, calcular a média geral, \bar{x} , definida como a média das médias de cada amostra. A partir destes valores, calcular o desvio padrão das médias das amostras, s_x , conforme a Equação 1. Definir as diferenças entre as porções de teste, w_t , também para cada amostra, a partir da Equação 2.

$$s_x = \sqrt{\sum (x_{t,..} - \bar{x})^2 / (g - 1)} \quad (1)$$

$$w_t = |x_{t,1} - x_{t,2}| \quad (2)$$

A partir dos valores definidos acima, calcular o desvio padrão dentro das amostras s_w e o desvio padrão entre as amostras s_s , conforme as Equações 3 e 4, a seguir:

$$s_w = \sqrt{\sum w_t^2 / (2g)} \quad (3)$$

$$s_s = \sqrt{s_x^2 - (s_w^2 / 2)} \quad (4)$$

As amostras podem ser consideradas adequadamente homogêneas para este ensaio de proficiência, se o critério definido na Equação 5 for atendido:

$$s_s \leq 0,3s^* \quad (5)$$

Onde, s^* é o desvio padrão para avaliação de proficiência, que neste EP foi obtido através da equação de Horwitz (4.3.4), para cada agrotóxico estudado.

Caso este critério não seja alcançado, a norma ISO 13528 permite ainda a inclusão da variação existente entre as amostras, no desvio padrão para avaliação de proficiência, conforme a Equação 6:

$$\sigma = \sqrt{\sigma_1^2 + s_s^2} \quad (6)$$

Esta inclusão permite que possíveis variações na homogeneidade entre os itens de ensaio com relação aos valores de concentração, não influenciem diretamente na avaliação de desempenho do laboratório participante do EP. Contudo, inicialmente deve ser verificada a possibilidade de melhorias no processo de preparo das amostras.

4.3.3. Repetitividade

A repetitividade dos dados enviados pelos laboratórios participantes foi avaliada a partir do cálculo do coeficiente de variação (CV) segundo a Equação 7:

$$CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100 \quad (7)$$

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

Para o cálculo de \bar{X} e s foi considerada a média dos valores de concentração reportados por cada laboratório para as análises 1 e 2 da amostra fortificada.

Segundo o Codex Alimentarius (Alinorm 03/24A), o CV deve ser $\leq 15\%$ para análises de resíduos de agrotóxicos em alimentos fortificados antes da extração e em níveis de concentração $> 0,1 \text{ mg/kg}$ e $\leq 1 \text{ mg/kg}$.

4.3.4. Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência

Nesta rodada de ensaio de proficiência o desvio padrão para avaliação de proficiência dos laboratórios participantes foi calculado por um modelo geral, conforme item 6.4 da norma ISO 13528:2005. O modelo adotado nesta avaliação para o cálculo do desvio padrão está fundamentado no modelo de Horwitz, 1980 (Equação 8), que expressa a precisão interlaboratorial em termos de um desvio padrão de reprodutibilidade.

$$\sigma_H = 0,02c^{0,8495} \quad (8)$$

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

Estudos colaborativos conduzidos recentemente mostraram que em rodadas em que a concentração do analito está abaixo de 100 ppb, o desvio padrão de reprodutibilidade encontra-se sistematicamente abaixo do previsto pela equação de Horwitz. Com base nestes estudos, Thompson, 2000, sugeriu uma modificação da equação de Horwitz levando em

consideração os níveis de concentração do analito expressos em fração mássica, conforme as Equações 9, 10 e 11:

$$\sigma = 0,22c \quad , \quad \text{se } c < 1,2 \times 10^{-7} \quad (9)$$

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

$$\sigma = 0,01c^{0,5} \quad , \quad \text{se } c > 0,138 \quad (11)$$

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

4.3.5. Índice z

Para a qualificação dos resultados dos laboratórios, o índice z (z-score) foi calculado representando uma medida da distância relativa do resultado da medição do laboratório em relação ao valor designado do ensaio de proficiência. O índice z foi calculado conforme apresenta a Equação 12.

$$z = \frac{y_i - y_{ref}}{\sigma} \quad (12)$$

Onde: y_i representa o valor do laboratório participante, y_{ref} representa o valor designado e σ , o desvio padrão de Horwitz modificado.

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

$|z| \leq 2$ - Resultado satisfatório

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

$|z| \geq 3$ - Resultado insatisfatório

4.3.6. Análise Robusta

A Norma ISO 13528:2005 é um documento complementar à ISO GUIA 43:1999 e fornece os métodos estatísticos a serem empregados nos ensaios de proficiência. Este documento descreve a análise robusta envolvendo o emprego da estimativa do algoritmo A para o cálculo do valor designado e do desvio padrão. Neste EP, somente o valor designado foi calculado através da análise robusta, sendo o desvio padrão estimado através das equações derivadas do modelo geral de Horwitz (item 4.3.4).

Inicialmente, todos os valores objetos da análise (valores enviados pelos laboratórios participantes e pelo INCQS) foram colocados em ordem crescente. A seguir, foram calculados os valores da mediana de x_i (x^*) e do desvio padrão (s^*), conforme as Equações 13 e 14.

$$x^* = \text{mediana de } x_i \quad (13)$$

$$s^* = 1,483 \times \text{med} |x_i - x^*| \quad (14)$$

Onde: *med* é a mediana; x_i valor de concentração reportado pelo laboratório.

Em seguida, foi calculado o valor de F_i , segundo a Equação 15, e a partir da estimativa de F_i , calculou-se o novo valor inferior (concentração inferior), e o novo valor superior (concentração superior), através das Equações 16 e 17.

$$F_i = 1,5s^* \quad (15)$$

$$\text{Novo Valor Superior} = x^* + F_i \quad (16)$$

$$\text{Novo Valor Inferior} = x^* - F_i \quad (17)$$

Os novos valores, superior e inferior, foram comparados a cada um dos resultados individuais dos laboratórios participantes, e os que estavam acima do valor superior ou abaixo do valor inferior foram descartados, ou seja, foram considerados valores dispersos ou discrepantes e substituídos pelos novos valores superiores e inferiores. Este procedimento compreende a um ciclo ou **Ciclo 0**.

Iniciou-se um novo ciclo, a partir do cálculo da média robusta (x^*)¹ e do desvio padrão (s) dos novos valores encontrados, e a seguir calculou-se o novo desvio padrão robusto (s^*)². O novo valor de s^* foi calculado pela Equação 18:

$$s^* = 1,134s \quad (18)$$

¹ Na ISO 13528 quando se inicia o **Ciclo 1**, x^* passa a ser denominado como média robusta, uma vez que advém de um algoritmo robusto.

² Na ISO 13528 quando se inicia o **Ciclo 1**, s^* passa a ser denominado como desvio padrão robusto, uma vez que advém de um algoritmo robusto.

Em seguida, calculou-se novamente o valor de F_i , os novos valores superiores e inferiores, conforme descrito, respectivamente, nas Equações 15, 16 e 17, sendo os valores discrepantes substituídos pelos novos limites. Este procedimento corresponde a outro ciclo ou **Ciclo 1**.

O ciclo é reiniciado até o momento em que os valores da nova média robusta (x^*) e do novo desvio padrão robusto (s^*) convergirem, ou seja, até que não haja nos ciclos, diferença entre eles. Neste momento o ciclo é finalizado e os novos valores de x^* e s^* , que são os valores da média robusta (valor designado do EP) e do desvio padrão robusto.

5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade

5.1. Avaliação da Homogeneidade

Apesar dos esforços para assegurar a homogeneidade do item de ensaio preparado para um ensaio de proficiência e outros estudos interlaboratoriais, estes materiais possuem geralmente um determinado grau de heterogeneidade. Quando este material é dividido em amostras e distribuído aos laboratórios, estas apresentam uma pequena variação na composição entre elas. Este estudo tem como objetivo determinar, através do procedimento descrito no item 4.3.2 deste relatório, se a variação na composição entre as amostras distribuídas é suficientemente pequena para o objetivo do Ensaio de Proficiência.

Para o teste de homogeneidade foram separados, aleatoriamente, 10 itens de ensaio contendo cada um aproximadamente 40g de amostra, representativas da polpa de tomate preparada. Para cada item de ensaio foram realizadas duas análises completas produzindo, para cada analito, dois resultados (A e B), conforme dispostos na Tabela 3.

Tabela 3: Dados gerados no teste de homogeneidade

Identificação da Amostra	Agrotóxico									
	Clorpirifós		Fenitrotiona		Oxifluorfem		Permetrina		Trifluralina	
	mg/Kg		mg/Kg		mg/Kg		mg/Kg		mg/Kg	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	0,030	0,033	0,045	0,054	0,066	0,068	0,103	0,106	0,047	0,052
2	0,034	0,031	0,050	0,048	0,068	0,069	0,100	0,093	0,045	0,045
3	0,029	0,032	0,046	0,047	0,064	0,068	0,099	0,093	0,037	0,043
4	0,030	0,031	0,047	0,048	0,068	0,068	0,099	0,117	0,039	0,047
5	0,029	0,031	0,046	0,047	0,065	0,067	0,095	0,110	0,039	0,044
6	0,033	0,031	0,047	0,046	0,067	0,067	0,097	0,111	0,045	0,042
7	0,031	0,032	0,046	0,047	0,064	0,068	0,093	0,109	0,042	0,049
8	0,033	0,031	0,047	0,048	0,069	0,066	0,118	0,088	0,048	0,048
9	0,030	0,030	0,046	0,044	0,067	0,065	0,118	0,087	0,043	0,040
10	0,031	0,031	0,048	0,046	0,066	0,066	0,090	0,103	0,046	0,040

Conforme os resultados obtidos para o agrotóxico Trifluralina, o valor de desvio padrão entre as amostras (s_s), para este agrotóxico foi de 0,002 mg/kg. Este valor é menor do que o limite $0,3*s^*$,

equivalente a aproximadamente um terço do desvio padrão para avaliação de proficiência, onde foi obtido um valor de 0,03 mg/kg. De acordo com este resultado, os itens de ensaio foram considerados homogêneos com relação aos valores de concentração do agrotóxico **Trifluralina**.

Para os agrotóxicos Clorpirifós, Fenitrotiona, Oxifluorfem e Permetrina, não foi possível calcular o valor do desvio padrão entre as amostras através da Equação 4, do item 4.3.2 deste relatório, pois a diferença entre os termos apresentados no interior da raiz quadrada, nesta equação, fornece um valor negativo, impossibilitando a realização do cálculo através deste procedimento. A ISO 13528:2005 não oferece nenhuma alternativa nestes casos, o que impossibilita a avaliação da homogeneidade dos itens de ensaio através desta norma, para estes agrotóxicos. No entanto, o método para avaliação de homogeneidade abordada pelo Protocolo Harmonizado para Ensaio de Proficiência da IUPAC possui o mesmo princípio do método abordado na norma ISO 13528, adotado neste EP. O Protocolo Harmonizado considera, caso a diferença entre os termos que representam as variâncias entre as unidades e dentro das unidades, similares aos apresentados na Equação 4 deste relatório, seja negativa, então que o desvio padrão entre as amostras seja considerado igual a zero.

Desta forma, consideramos os itens de ensaio suficientemente homogêneos para a finalidade deste Ensaio de Proficiência, com relação aos valores de concentração dos agrotóxicos Clorpirifós, Fenitrotiona, Oxifluorfem e Permetrina.

5.2. Avaliação da Estabilidade

Para assegurar que as amostras utilizadas no ensaio de proficiência estavam estáveis no período do ensaio, foi realizado um estudo de estabilidade. Este estudo visa identificar se há uma reprodutibilidade nas determinações dos agrotóxicos ao longo do tempo. A avaliação foi realizada utilizando-se a análise de resíduos da regressão linear.

Os dados obtidos pelo INCQS/Fiocruz para o estudo de estabilidade da amostra encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4: Dados obtidos para o estudo de estabilidade

Data da análise	Agrotóxicos									
	Clorpirifós		Fenitrotiona		Oxifluorfem		Permetrina		Trifluralina	
	mg/kg	Média	mg/kg	Média	mg/kg	Média	mg/kg	Média	mg/kg	Média
20/05/2009	0,037	0,038	0,052	0,056	0,067	0,067	0,105	0,109	0,038	0,041
	0,038		0,059		0,068		0,113		0,044	
27/05/2009	0,032	0,031	0,044	0,044	0,056	0,056	0,135	0,130	0,038	0,034
	0,030		0,044		0,056		0,126		0,031	
03/06/2009	0,031	0,032	0,045	0,045	0,056	0,058	0,135	0,128	0,029	0,032
	0,033		0,045		0,059		0,121		0,035	
09/06/2009	0,032	0,031	0,045	0,046	0,058	0,058	0,137	0,134	0,033	0,033
	0,031		0,046		0,059		0,131		0,033	
17/06/2009	0,029	0,029	0,043	0,043	0,055	0,055	0,130	0,127	0,037	0,036
	0,030		0,044		0,055		0,125		0,035	

As Tabelas 5 a 9 apresentam os resultados obtidos na estimativa da variância dos valores utilizados na regressão linear segundo a ISO GUIDE 35.

Tabela 5: Análise de regressão para o agrotóxico Clorpirifós

ANOVA – CLORPIRIFÓS				
	GI	SQ	MQ	F
Regressão	1	2,71E-05	2,71E-05	5,37523
Resíduo	3	1,51E-05	5,03E-06	
Total	4	4,22E-05		
	Coeficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P
Interseção	3,72E-02	2,35E-03	1,58E+01	5,52E-04
Variável X 1	-0,001645	7,10E-04	-2,32E+00	1,03E-01

Tabela 6: Análise de regressão para o agrotóxico Fenitrotiona

ANOVA – FENITROTIONA				
	GI	SQ	MQ	F
Regressão	1	5,38E-05	5,38E-05	3,233579
Resíduo	3	4,99E-05	1,66E-05	
Total	4	1,04E-04		
	Coeficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P
Interseção	5,37E-02	4,28E-03	1,25E+01	1,09E-03
Variável X 1	-0,00232	1,29E-03	-1,80E+00	1,70E-01

Tabela 7: Análise de regressão para o agrotóxico Oxifluorfem

ANOVA – OXIFLUORFEM				
	GI	SQ	MQ	F
Regressão	1	4,84E-05	4,84E-05	2,79435
Resíduo	3	5,2E-05	1,73E-05	
Total	4	1,00E-04		
	Coeficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P
Interseção	6,54E-02	4,36E-03	1,50E+01	6,44E-04
Variável X 1	-0,00220	1,32E-03	-1,67E+00	1,93E-01

Tabela 8: Análise de regressão para o agrotóxico Permetrina

ANOVA – PERMETRINA				
	GI	SQ	MQ	F
Regressão	1	1,57E-04	1,57E-04	2,193142
Resíduo	3	2,15E-04	7,17E-05	
Total	4	3,72E-04		
	Coeficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P
Interseção	1,14E-01	8,88E-03	1,28E+01	1,03E-03
Variável X 1	0,003965	2,68E-03	1,48E+00	2,35E-01

Tabela 9: Análise de regressão para o agrotóxico Trifluralina

ANOVA – TRIFLURALINA				
	GI	SQ	MQ	F
Regressão	1	1,37E-05	1,37E-05	1,11124
Resíduo	3	3,7E-05	1,23E-05	
Total	4	5,06E-05		
	Coeficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P
Interseção	3,88E-02	3,68E-03	1,05E+01	1,83E-03
Variável X 1	-0,00117	1,11E-03	-1,05E+00	3,69E-01

Onde: GI = graus de liberdade; SQ = soma quadrática; MQ = média quadrática

Os resultados obtidos do tratamento estatístico dos dados gerados mostraram que, os valores de P calculados foram maiores do que 0,05 (nível de confiança de 95 %), podendo-se concluir que não houve diferença significativa entre os valores e, dessa forma, os itens de ensaio são considerados estáveis nas condições de estudo.

6. Atribuição dos Valores Designados

Os valores designados relativos aos agrotóxicos empregados neste ensaio de proficiência foram calculados segundo procedimento estatístico descrito no item 4.3.6, e os respectivos desvios padrão para avaliação de proficiência foram obtidos pelas equações modificadas baseadas no modelo de Horwitz, conforme o item 4.3.4. Os valores designados, com seus respectivos desvios padrão, estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Valores designados e desvios padrão

Agrotóxico	Valor designado (mg/kg)	Desvio Padrão (σ) (mg/kg)
Clorpirifós	0,035	0,008
Fenitrotiona	0,045	0,010
Oxifluorfem	0,051	0,011
Permetrina	0,110	0,024
Trifluralina	0,042	0,009

7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

7.1. Resultados dos Laboratórios Participantes

Os dados reportados pelos laboratórios participantes do ensaio de proficiência foram tratados de acordo com os procedimentos descritos na ABNT ISO/IEC Guia 43-1. A Tabela 11 apresenta os resultados dos laboratórios para as análises 1 e 2 da amostra fortificada, bem como o valor médio entre as análises e os coeficientes de variação.

Tabela 11: Resultados por análise (mg/kg), resultados médios dos laboratórios (mg/kg) e os coeficientes de variação (%)

Código dos Laboratórios	Análise	CLORPIRIFÓS			FENITROTIONA			OXIFLUORFEM			PERMETRINA			TRIFLURALINA		
		Média por análise	Média total	(CV%)	Média por análise	Média total	(CV%)	Média por análise	Média total	(CV%)	Média por análise	Média total	(CV%)	Média por análise	Média total	(CV%)
02	1	0,077	0,074	6,2	0,095	0,094	1,1	NT	-	-	0,172	0,171	0,6	NT	-	-
	2	0,071			0,094			NT			0,171			NT		
10	1	0,036	0,034	7,2	0,039	0,043	13,2	0,058	0,060	6,5	0,206	0,205	1,0	0,046	0,047	1,5
	2	0,033			0,047			0,063			0,203			0,047		
14	1	0,045	0,045	0,0	0,045	0,045	0,0	0,050	0,050	0,0	0,115	0,123	8,7	0,030	0,030	0,0
	2	0,045			0,045			0,050			0,130			0,030		
18	1	0,034	0,034	2,1	ND	-	-	NT	-	-	0,152	0,154	1,6	0,054	0,057	-
	2	0,035			ND			NT			0,156			0,060		
21	1	0,084	0,093	14,0	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
	2	0,103			NT			NT			NT			NT		
26	1	0,029	0,028	7,7	0,013	0,013	5,7	0,017	0,016	8,8	0,046	0,045	4,8	0,010	0,010	0,0
	2	0,026			0,012			0,015			0,043			0,010		
29	1	0,024	0,025	4,3	NT	-	-	NT	-	-	0,218	0,217	0,5	NT	-	-
	2	0,026			NT			NT			0,217			NT		
33	1	ND	-	-	0,140	0,154	12,6	0,034	0,033	1,8	NT	-	-	0,041	0,044	11,2
	2	ND			0,168			0,033			NT			0,048		
35	1	NT	-	-	0,046	0,043	9,1	NT	-	-	NT	-	-	(*)	-	-
	2	NT			0,040			NT			NT			(*)		
37	1	0,032	0,033	5,3	0,044	0,046	6,9	0,061	0,059	4,8	0,089	0,088	1,2	0,063	0,059	7,8
	2	0,035			0,049			0,057			0,088			0,056		
42	1	0,050	0,045	15,7	0,060	0,065	10,9	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
	2	0,040			0,070			NT			NT			NT		
49	1	0,038	0,039	1,8	0,045	0,042	10,1	0,063	0,062	2,3	0,130	0,135	5,2	0,034	0,034	0,0
	2	0,039			0,039			0,061			0,140			0,034		
51	1	0,025	0,025	0,3	0,037	0,037	0,4	0,031	0,031	1,7	ND	-	-	0,031	0,031	0,6
	2	0,025			0,038			0,030			ND			0,031		
55	1	NT	-	-	0,035	0,035	-	NT	-	-	0,105	0,105	-	0,020	0,020	-
	2	NT			-			NT			-			-		
64	1	0,025	0,026	6,7	0,035	0,037	8,5	0,038	0,040	8,0	0,069	0,072	6,4	0,034	0,034	2,1
	2	0,028			0,040			0,042			0,076			0,033		
66	1	NT	-	-	0,051	0,053	5,3	0,061	0,059	4,2	0,128	0,122	6,1	NT	-	-
	2	NT			0,055			0,058			0,117			NT		
72	1	0,033	0,034	2,1	0,042	0,041	3,4	0,083	0,082	2,6	0,061	0,062	1,1	0,046	0,045	3,1
	2	0,034			0,040			0,080			0,062			0,044		
75	1	0,031	0,033	8,6	0,046	0,050	11,3	0,022	0,024	11,8	0,127	0,137	10,3	0,046	0,049	8,7
	2	0,035			0,054			0,026			0,147			0,052		
81	3	0,040	0,040	0,0	NT	-	-	0,059	0,056	6,9	NT	-	-	NT	-	-
	4	0,040			NT			0,054			NT					
84	5	0,037	0,037	0,0	0,047	0,050	7,1	0,075	0,079	7,2	0,089	0,087	4,1	0,052	0,052	0,0
	6	0,037			0,052			0,083			0,084			0,052		
86	7	0,027	0,027	1,3	0,047	0,048	3,7	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
	8	0,028			0,049			NT			NT			NT		
90	1	0,048	0,046	6,1	ND	-	-	0,036	0,035	3,1	NT	-	-	NT	-	-
	2	0,044			ND			0,034			NT			NT		
99	1	0,029	0,028	3,8	0,040	0,040	0,0	0,050	0,050	0,0	0,080	0,075	9,4	0,030	0,030	0,0
	2	0,028			0,040			0,050			0,070			0,030		
INC QS	3		0,031	-		0,047	-		0,067	-		0,101	-		0,044	-
	4															

Onde: ND = Não detectado; NT = Não testado.

(*) O laboratório PEP4.5/35 detectou o agrotóxico trifluralina pela técnica CG-EM, porém, não apresentou resultados quantitativos.

Observações:

- 1) Os resultados apresentados pelo laboratório PEP4.5/55, para o agrotóxico fenitrotiona e trifluralina, e PEP4.5/64, para o agrotóxico trifluralina, encontram-se abaixo do limite de quantificação reportado pelos próprios laboratórios e não foram considerados no cálculo do valor designado.
- 2) O laboratório PEP4.5/55 realizou somente uma análise para os agrotóxicos fenitrotiona, permetrina e trifluralina, portanto não foi possível calcular os coeficientes de variação para este laboratório.
- 3) Os resultados apresentados pelo laboratório PEP4.5/02 para os agrotóxicos clorpirifós, fenitrotiona e permetrina foram corrigidos pela recuperação do método e por esse motivo não foram considerados no cálculo do valor designado.

Os gráficos de dispersão dos resultados dos laboratórios participantes, para cada agrotóxico presente neste estudo, encontram-se nas Figuras 1, 2, 3, 4 e 5. Nestes gráficos a linha central representa o valor designado, e as linhas pontilhadas, azuis e vermelhas, representam, respectivamente, os intervalos do desvio padrão ($y_{ref} \pm \sigma$), de duas vezes o desvio padrão ($y_{ref} \pm 2\sigma$) e de três vezes o desvio padrão ($y_{ref} \pm 3\sigma$). É importante ressaltar que nestes gráficos são apresentados todos os resultados reportados pelos laboratórios participantes, ou seja, o resultado reportado para cada replicata, de cada porção retirada da amostra.

Clorpirifós

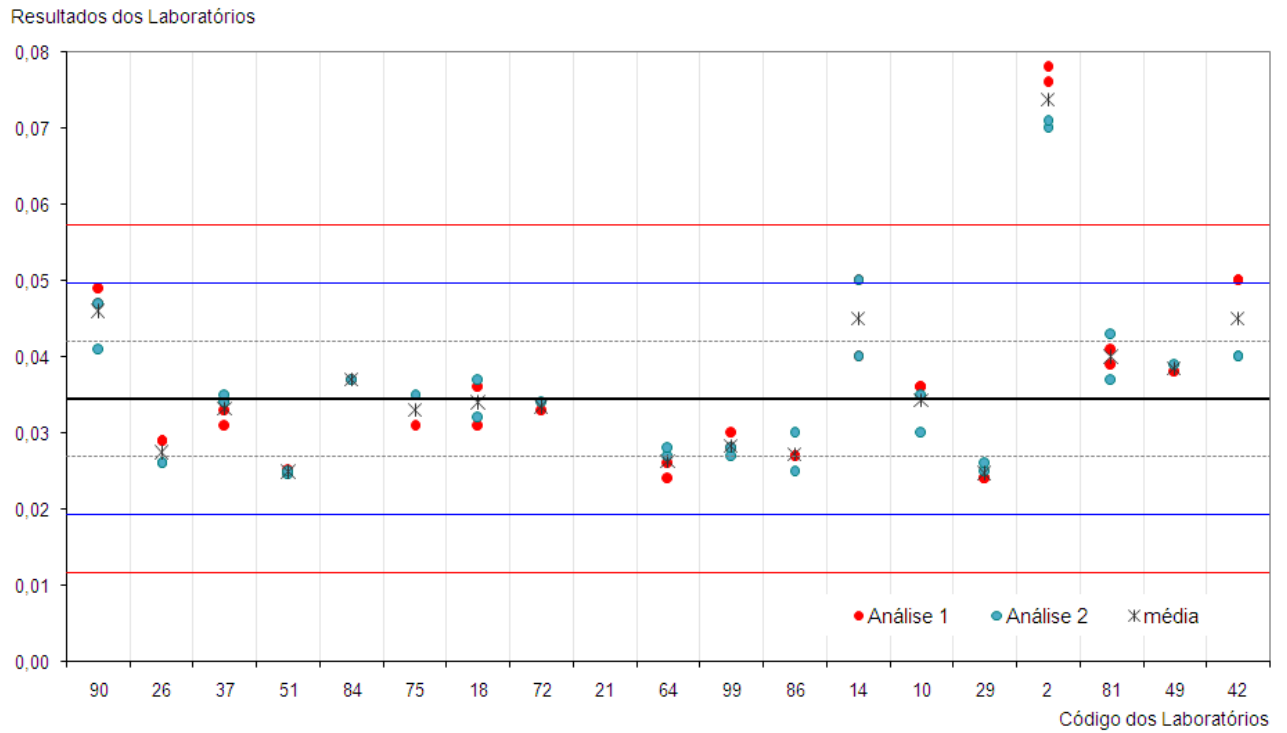


Figura 1: Gráfico de dispersão dos resultados dos laboratórios participantes para o agrotóxico Clorpirifós

Fenitrotiona

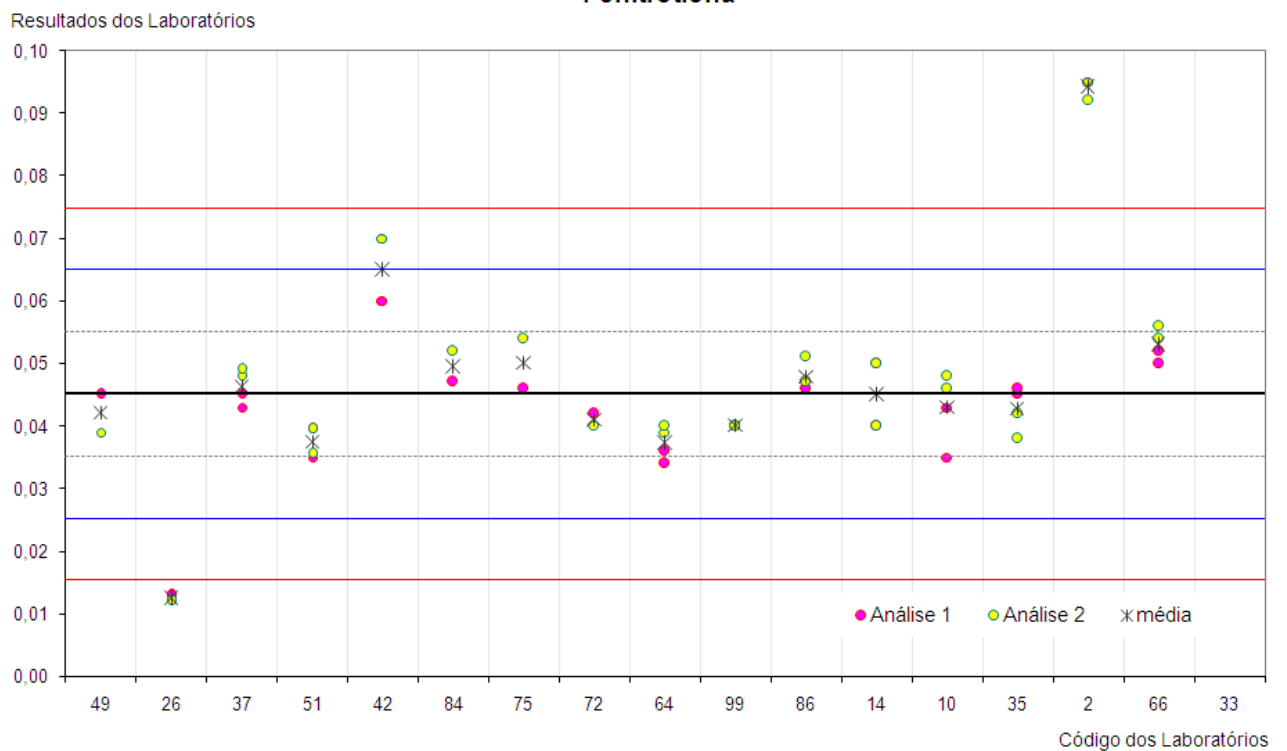


Figura 2: Gráfico de dispersão dos resultados dos laboratórios participantes para o agrotóxico Fenitrotiona

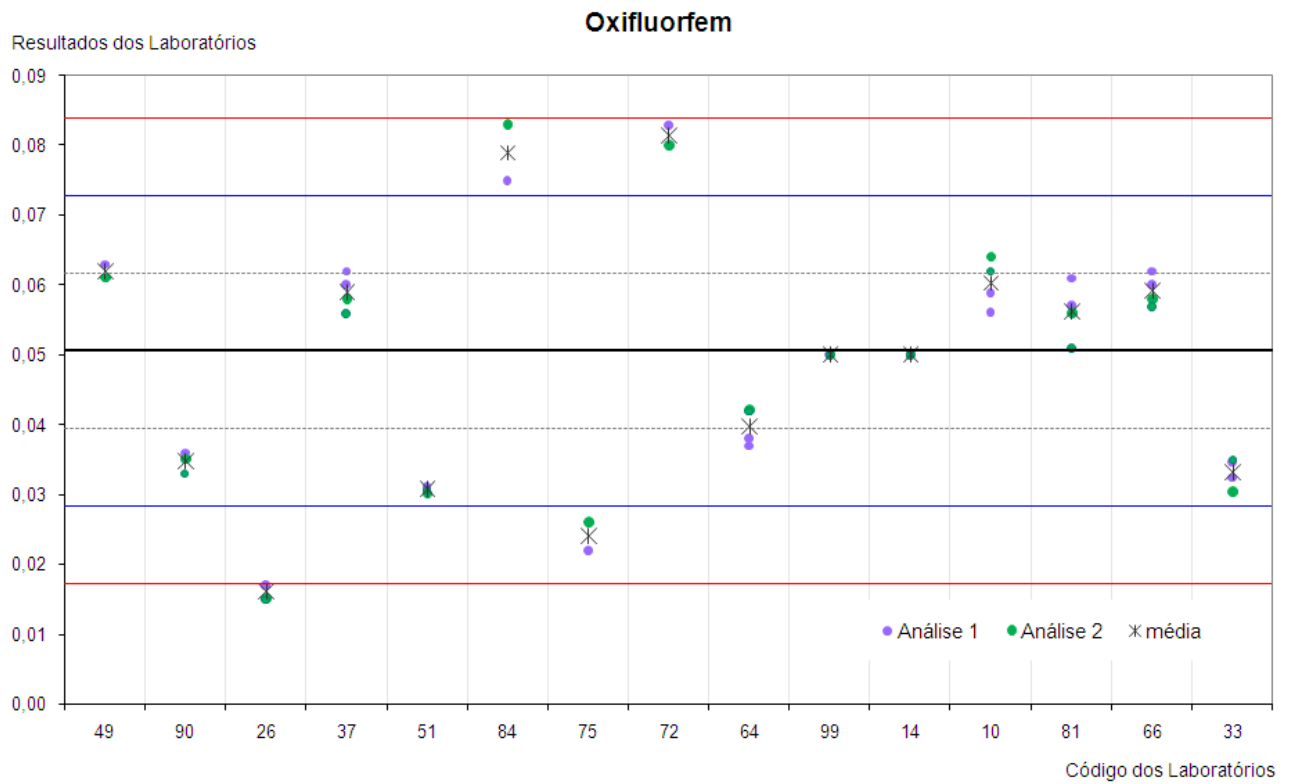


Figura 3: Gráfico de dispersão dos resultados dos laboratórios participantes para o agrotóxico Oxifluorfem

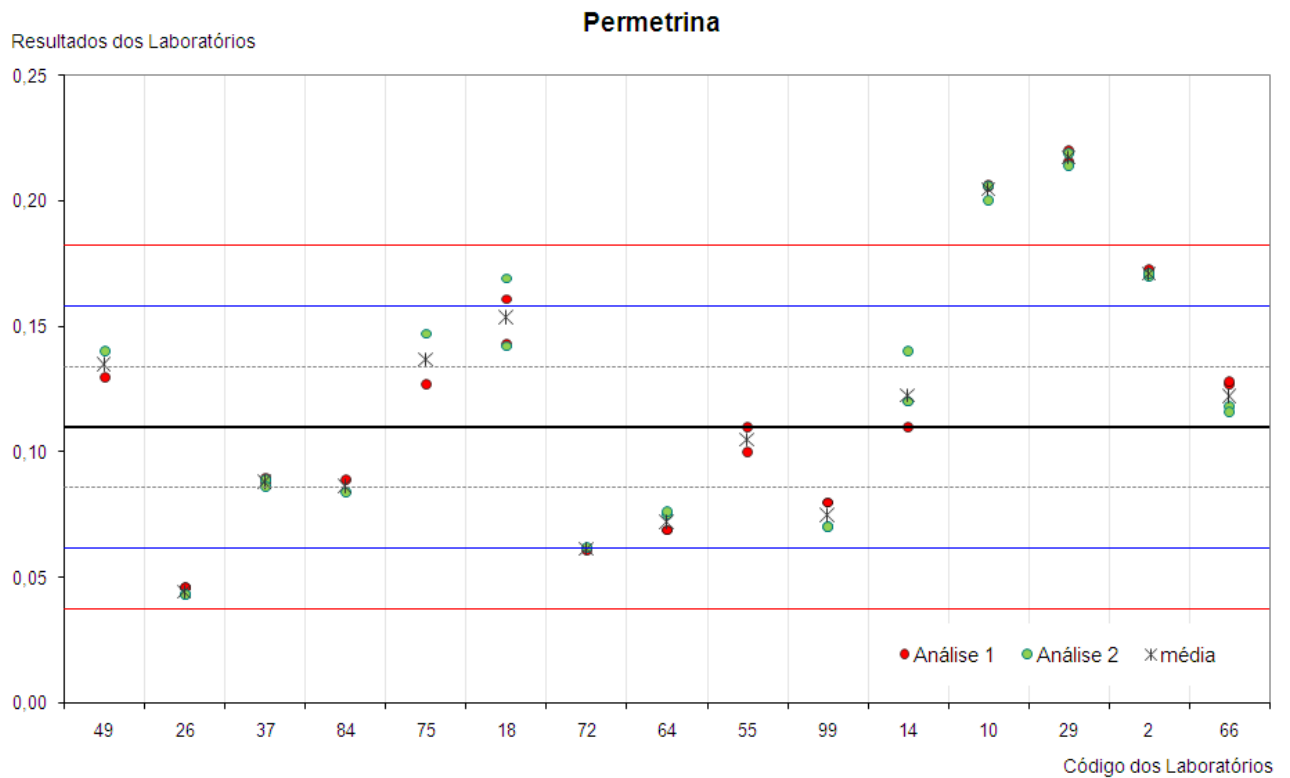


Figura 4: Gráfico de dispersão dos resultados dos laboratórios participantes para o agrotóxico Permetrina

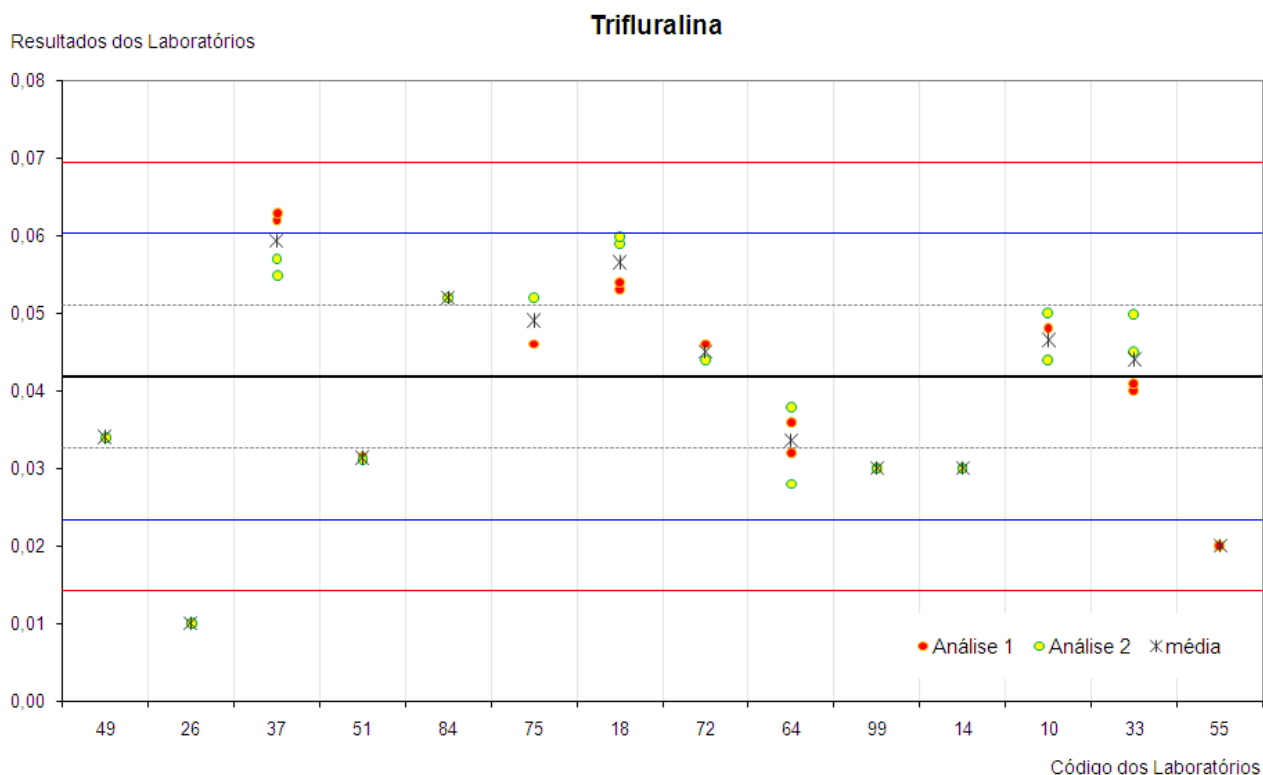


Figura 5: Gráfico de dispersão dos resultados dos laboratórios participantes para o agrotóxico Trifluralina

A partir de uma análise visual dos gráficos de dispersão pode-se observar a incompatibilidade de alguns laboratórios que obtiveram resultados fora do limite de três vezes o desvio padrão ($y_{ref} \pm 3\sigma$), dentre os quais podemos destacar os laboratórios PEP4.5/02, PEP4.5/21 e PEP4.5/33 com relação aos demais, que obtiveram valores afastados da média e muito acima do limite para os agrotóxicos Clorpirifós (PEP4.5/02 e PEP4.5/21) e Fenitrotiona (PEP4.5/33). Dentre os laboratórios que obtiveram uma dispersão elevada pode-se destacar, pela análise visual dos gráficos, os laboratórios PEP4.5/21 e PEP4.5/42 para o agrotóxico Clorpirifós, e o laboratório PEP4.5/33 para o agrotóxico Fenitrotiona.

Para a qualificação dos resultados dos laboratórios, além do coeficiente de variação (CV), foram calculados os índices z (z-score) e foi avaliada a capacidade analítica de cada laboratório.

7.2. Repetitividade dos Resultados dos Laboratórios

De acordo com os resultados obtidos, apenas o laboratório PEP4.5/42 apresentou $CV > 15\%$, para o agrotóxico Clorpirifós. Contudo, este resultado não pode ser considerado insatisfatório pois apresenta-se em uma concentração inferior à faixa estipulada pelo Codex Alimentarius ($> 0,1 \text{ mg/kg}$ e $\leq 1 \text{ mg/kg}$) para que o limite ($CV > 15\%$) possa ser considerado. Todos os demais laboratórios apresentaram CV dentro do limite aceitável no Codex Alimentarius (Alinorm 03/24A).

Pelo fato deste coeficiente ter sido calculado utilizando-se os valores médios das análises 1 e 2, o valor do CV por si só não é um indicativo de uma boa repetitividade. Com base nos dados reportados nas Figuras 1 a 5, observa-se que outros laboratórios, além do PEP4.5/42, apresentam

elevada dispersão em suas medições, indicando que estes laboratórios possuem repetitividade deficientes. Alguns laboratórios obtiveram dispersão relativamente alta entre as replicatas de uma mesma porção de análise, contudo, a média entre as análises 1 e 2 se aproximam e estes laboratórios obtiveram um valor baixo para o CV. Um exemplo deste caso é o laboratório PEP4.5/14, para os agrotóxicos Clorpirifós e Fenitrotiona.

Diante destes dados, é importante que cada laboratório avalie o resultado encontrado em cada análise realizada, com o objetivo de avaliar a dispersão encontrada em cada replicata, o que reflete a repetitividade do laboratório. Assim é imprescindível, a fim de avaliar a repetitividade do laboratório, a análise criteriosa da dispersão encontrada entre as análises das duas porções da amostra.

O laboratório PEP4.5/55 realizou apenas 1 análise para todos os agrotóxicos que analisou, portanto os valores de CV não foram calculados para este laboratório.

7.3. Cálculo do Índice z

A avaliação de desempenho dos laboratórios participantes e do INCQS, expressa através do índice z (Equação 12), está apresentada na Tabela 12.

Tabela 12: Valores do índice z obtidos pelos laboratórios participantes

Código do Laboratório	CLORPIRIFÓS	FENITROTIONA	OXIFLUORFEM	PERMETRINA	TRIFLURALINA
02	5,2	4,9	NT	2,5	NT
10	0,0	-0,2	0,9	3,9	0,5
14	1,4	0,0	-0,1	0,5	-1,3
18	-0,1	ND	NT	1,8	1,6
21	7,7	NT	NT	NT	NT
26	-0,9	-3,3	-3,1	-2,7	-3,5
29	-1,3	NT	NT	4,4	NT
33	ND	10,9	-1,6	NT	0,2
35	NT	-0,2	NT	NT	*
37	-0,2	0,1	0,8	-0,9	1,9
42	1,4	2,0	NT	NT	NT
49	0,5	-0,3	1,0	1,0	-0,9
51	-1,3	-0,8	-1,8	ND	-1,1
55	NT	-1,0	NT	-0,2	-2,4
64	-1,1	-0,8	-1,0	-1,6	-0,9
66	NT	0,8	0,8	0,5	NT
72	-0,1	-0,4	2,8	-2,0	0,3
75	-0,2	0,5	-2,4	1,1	0,8
81	0,7	NT	0,5	NT	NT
84	0,3	0,4	2,6	-1,0	1,1
86	-1,0	0,3	NT	NT	NT
90	1,5	ND	-1,4	NT	NT
99	-0,8	-0,5	-0,1	-1,4	-1,3
INCQS	-0,4	0,2	1,5	-0,4	0,2

NT = não testado, ND = não detectado.

Azul = resultado questionável, Vermelho = resultado insatisfatório

As Figuras 6, 7, 8, 9 e 10 apresentam os resultados do índice z obtidos pelos laboratórios participantes para os agrotóxicos.

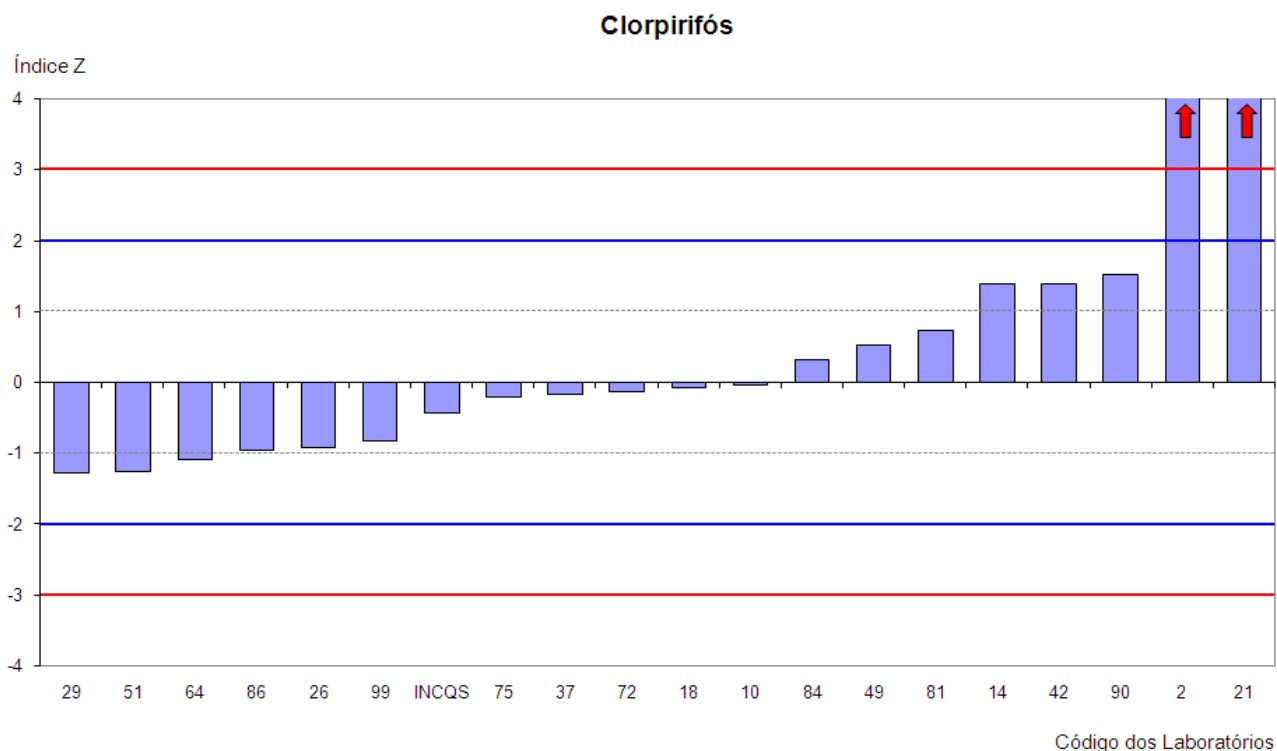


Figura 6: Gráfico de índice z dos laboratórios participantes para o Clorpirifós

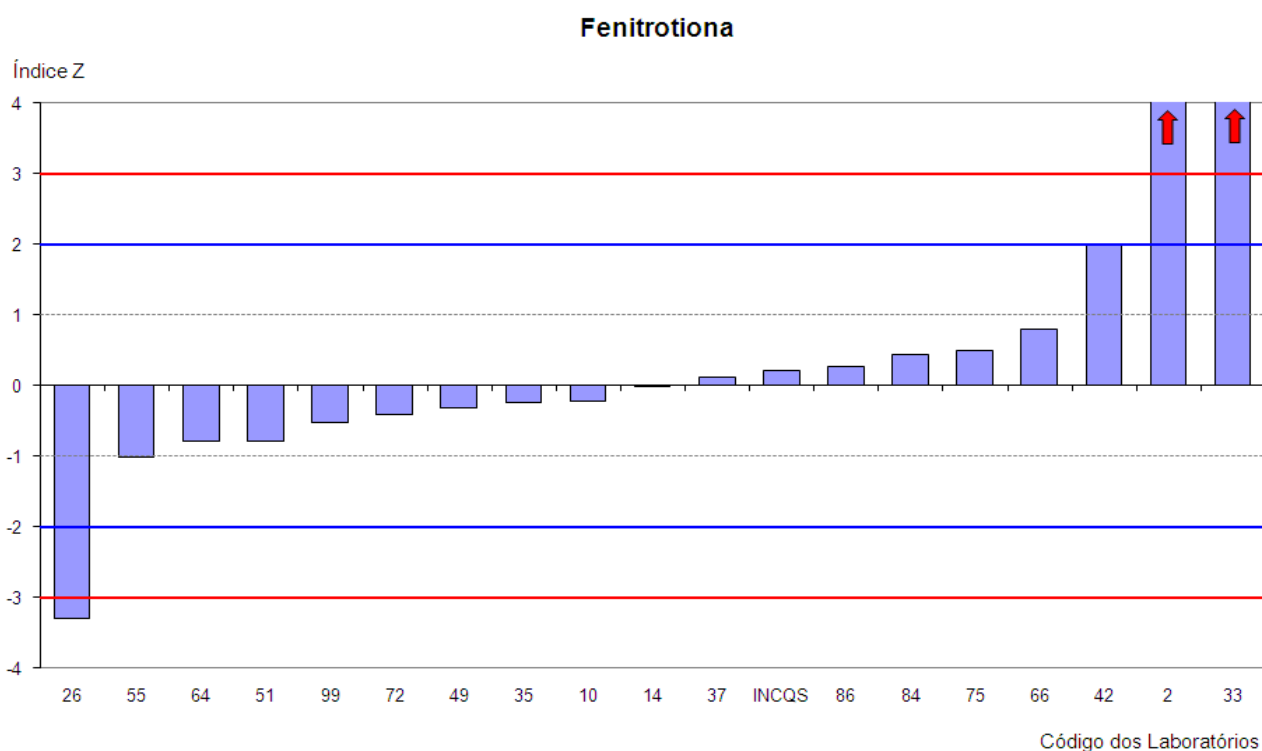


Figura 7: Gráfico de índice z dos laboratórios participantes para a Fenitrotiona

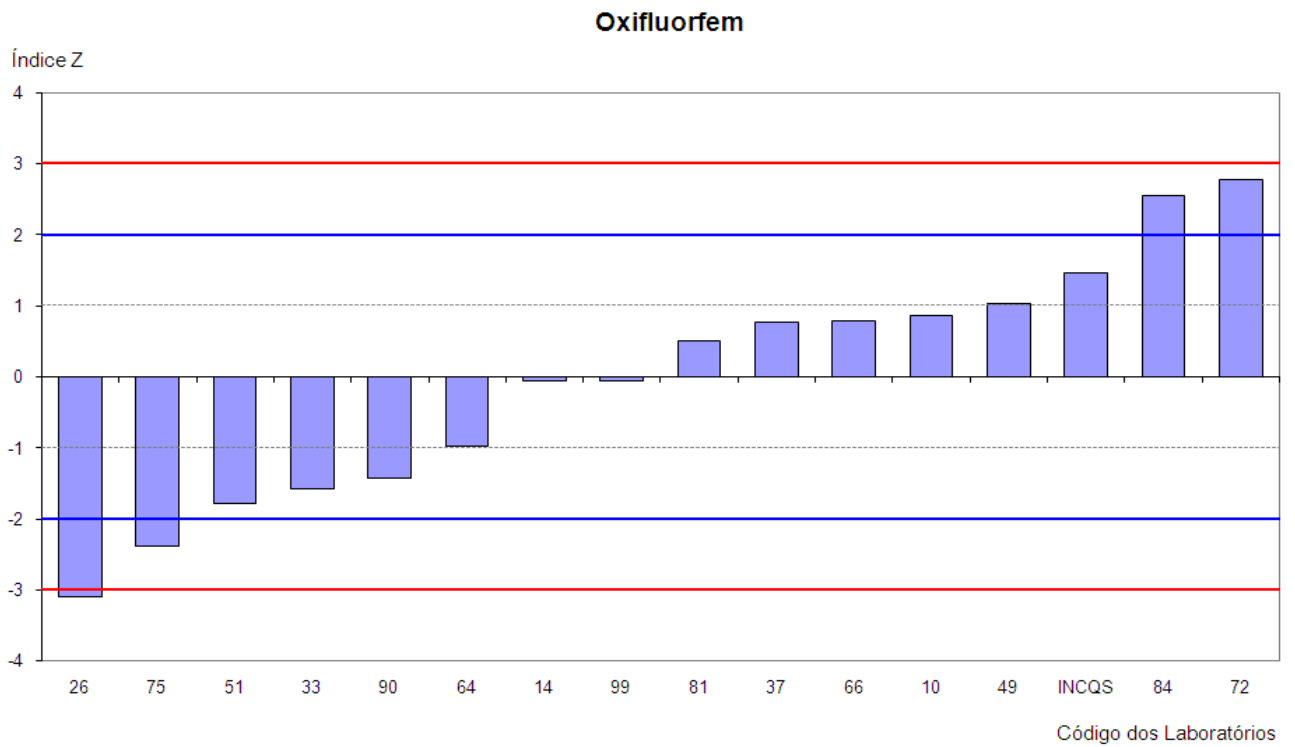


Figura 8: Gráfico de índice z dos laboratórios participantes para a Oxifluorfem

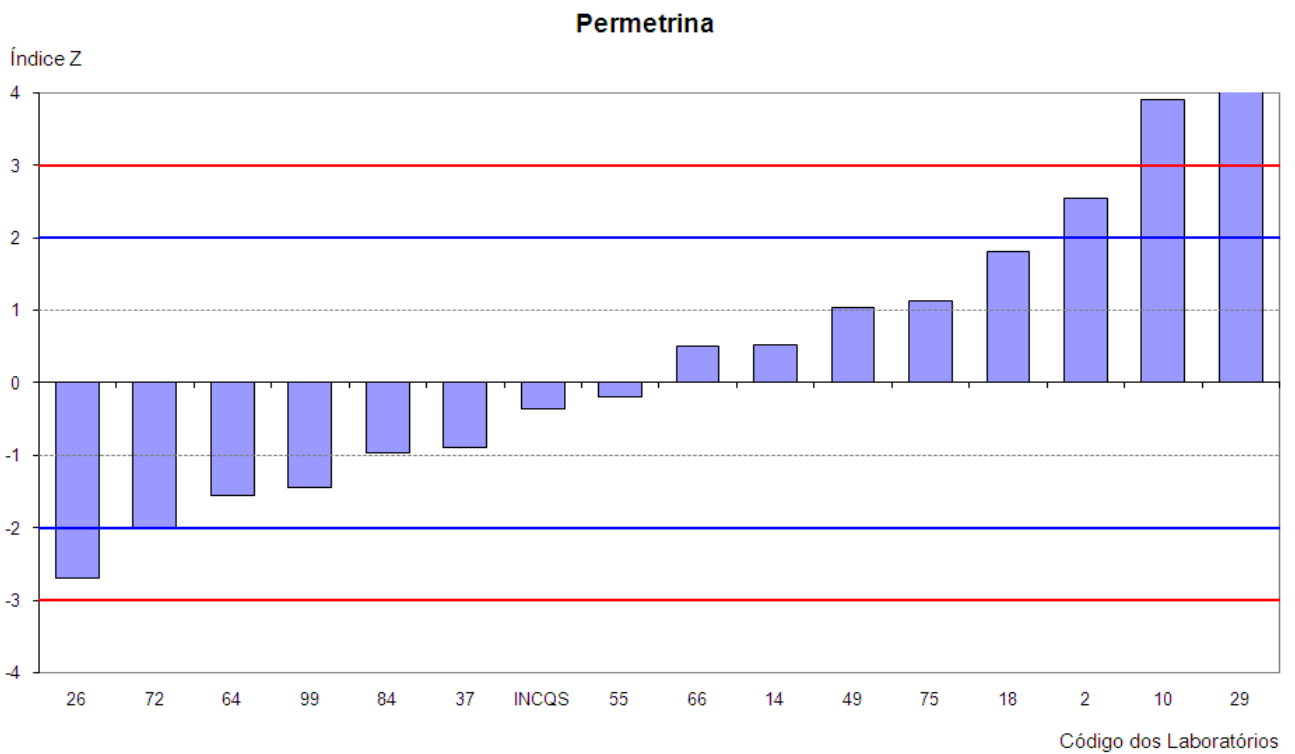


Figura 9: Gráfico de índice z dos laboratórios participantes para a Permetrina

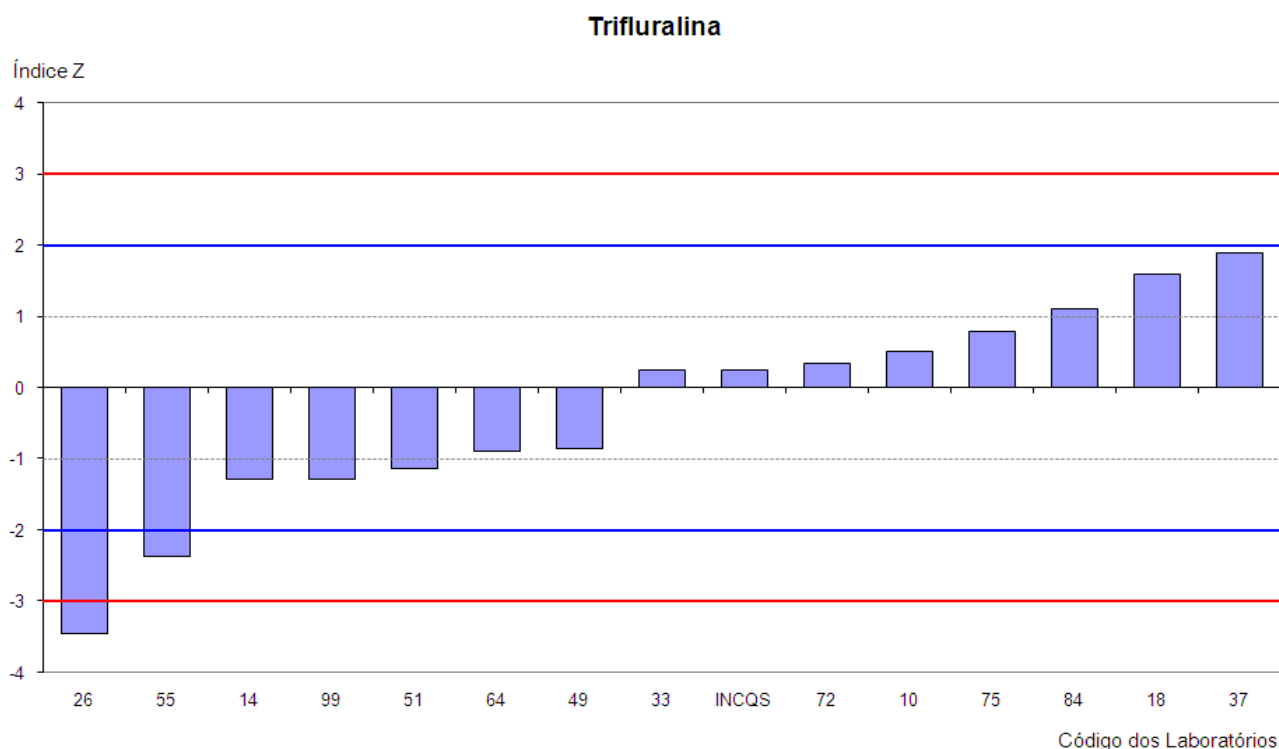


Figura 10: Gráfico de índice z dos laboratórios participantes para a Trifluralina

Considerando também um resultado não detectado (ND) como um resultado insatisfatório, de acordo com os resultados obtidos, treze dos vinte e três laboratórios participantes obtiveram resultados questionáveis ou insatisfatórios para, pelo menos, um agrotóxico analisado. De um total de oitenta e seis resultados reportados, aproximadamente 77% foram considerados satisfatórios (sessenta e seis resultados), 7% foram considerados questionáveis (seis resultados), e 15% insatisfatórios (treze, considerando os resultados não detectados). Quatro laboratórios não detectaram pelo menos um dos agrotóxicos que estavam presentes nas amostras. O PEP4.5/35 detectou o agrotóxico Trifluralina, contudo, relatou que não foi possível realizar a quantificação por não dispor do padrão desta substância.

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

7.4. Capacidade Analítica e Viabilidade Analítica

Neste EP foram avaliadas a Capacidade Analítica dos laboratórios participantes e a Viabilidade Analítica para a determinação dos agrotóxicos fortificados.

A capacidade analítica de cada laboratório participante desta rodada do Ensaio de Proficiência foi determinada através da análise do percentual de agrotóxicos analisados por cada laboratório, multiplicado pelo percentual de resultados satisfatórios para os agrotóxicos analisados. Nesta análise, os resultados reportados como não detectados foram considerados como insatisfatórios. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Capacidade analítica individual dos laboratórios participantes desta rodada do EP

Código do laboratório	% de agrotóxicos analisados (a)	% de resultados satisfatórios frente ao total de agrotóxicos analisados (b)	CA* = $10^{-4} a \times b$
02	60	0	0,0
10	100	80	0,8
14	100	100	1,0
18	80	75	0,6
21	20	0	0,0
26	100	20	0,2
29	40	50	0,2
33	80	50	0,4
35	40	50	0,2
37	100	100	1,0
42	40	100	0,4
49	100	100	1,0
51	100	80	0,8
55	60	67	0,4
64	100	100	1,0
66	60	100	0,6
72	100	80	0,8
75	100	80	0,8
81	40	100	0,4
84	100	80	0,8
86	40	100	0,4
90	60	67	0,4
99	100	100	1,0

CA = Capacidade analítica: Capacidade de o laboratório determinar satisfatoriamente os agrotóxicos fortificados na amostra.

CA = 1: O laboratório participante se mostrou capacitado para analisar todos os agrotóxicos fortificados na amostra satisfatoriamente, tendo obtido um índice z (item 7.3) satisfatório.

CA = 0: O laboratório participante não se mostrou capacitado para analisar satisfatoriamente nenhum dos agrotóxicos fortificados na amostra, não tendo detectado o agrotóxico ou tendo obtido um índice z (item 7.3) insatisfatório.

Com base nos dados apresentados na Tabela 13, observa-se que dos vinte e três laboratórios participantes, dez laboratórios (43%) atingiram Índices CA entre 0,80 e 1,0 ($0,8 \leq CA \leq 1,0$), dois laboratórios (9%) Índices CA entre 0,60 e 0,80 ($0,6 \leq CA < 0,8$) e onze laboratórios (48%) obtiveram Índices CA inferiores a 0,60 ($CA < 0,6$).

Nesta rodada de EP para determinação de agrotóxicos, todos os laboratórios analisaram pelo menos um dos agrotóxicos presentes na amostra, o que não ocorreu na 4ª rodada onde cinco laboratórios não analisaram nenhum dos agrotóxicos presentes. Desta forma, a capacidade analítica pode ser avaliada para todos os laboratórios participantes.

Com base nos dados apresentados na Tabela 14, é possível realizar a avaliação da viabilidade analítica de determinação dos agrotóxicos fortificados, no universo de laboratórios participantes desta rodada do Ensaio de Proficiência. Esta avaliação está apresentada na Tabela 19.

Tabela 14: Viabilidade de determinação dos agrotóxicos fortificados na amostra.

Agrotóxico	% de laboratórios que analisaram o agrotóxico (a)	% de resultados satisfatórios (b)	VA* = 10 ⁻⁴ a x b
Clorpirifós	87	85	0,7
Fenitrothion	87	75	0,7
Oxifluorfen	65	73	0,5
Permetrina	70	69	0,5
Trifluralina	65	80	0,5

VA = Viabilidade analítica: Viabilidade de determinação do agrotóxico pelo conjunto de laboratórios que participaram desta rodada do ensaio de proficiência.

VA = 1: Todos os laboratórios se mostraram capacitados para analisar o agrotóxico satisfatoriamente, tendo obtido um índice z (item 7.3) satisfatório.

VA = 0: Nenhum laboratório se mostrou capacitado para analisar o agrotóxico satisfatoriamente.

Os valores calculados de viabilidade analítica mostram que existe uma deficiência quanto à viabilidade para a determinação dos agrotóxicos abordados neste EP, por parte da maioria laboratórios participantes, visto que para nenhum agrotóxico foi obtida a viabilidade analítica de 1,0.

7.5. Agrotóxicos não Fortificados na Amostra, porém Encontrados pelos Laboratórios

Apenas um laboratório participante encontrou algum agrotóxico que não foi fortificado na amostra, porém não apresentou resultados quantitativos para o mesmo. O laboratório PEP4.5/35 encontrou o agrotóxico **Fenvalerato** e relatou no formulário de envio de resultados que não continha o padrão para esta substância, e que detectou o agrotóxico pela técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

7.6. Observações Relativas às Características de Desempenho do Método

Nesta rodada de EP os laboratórios foram orientados a reportarem também alguns parâmetros relativos à validação do método empregado. Os valores de recuperação, limites de detecção e quantificação encontram-se resumidamente dispostos na Tabela 15:

Tabela 15: Valores de recuperação (%), limite de detecção (mg/kg) e limite de quantificação (mg/kg), reportados pelos laboratórios

Código dos Lab.	Agrotóxico														
	Clorpirifós			Fenitrotiona			Oxifluorfem			Permetrina			Trifluralina		
	Rec	LD	LQ	Rec	LD	LQ	Rec	LD	LQ	Rec	LD	LQ	Rec	LD	LQ
02	85-110	0,003	0,01	80-100	0,003	0,01	NT	NT	NT	75-99	0,003	0,01	NT	NT	NT
10	116	0,003	0,01	116	0,003	0,01	116	0,003	0,01	116	0,003	0,01	116		0,01
14	100	0,01	0,02	109	0,01	0,02	86,5	0,01	0,02	102,3	0,05	0,02	50	0,02	0,02
18	112	0,006	0,02	-	-	-	NT	NT	NT	115	0,006	0,02	50	0,006	0,02
21	103	0,0025	0,01	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
26	106	0,005	0,01	86	0,005	0,01	105	0,005	0,01	101	0,005	0,01	83,5	0,005	0,01
29	115,5	0,018	0,022	NT	NT	NT	NT	NT	NT	115,5	0,016	0,019	NT	NT	NT
33	-	0,05	0,06	-	0,05	0,06	-	0,02	0,03	NT	NT	NT	NT	0,02	0,03
35	NT	NT	NT	98,8	0,000005	0,000018	NT	NT	NT	NT	NT	NT	sem padrão		
37	94,7	0,005	0,008	93,5	0,005	0,008	98,3	0,005	0,008	86,9	0,02	0,07	93,3	0,005	0,008
42	86,28	0,003	0,01	115,54	0,003	0,01	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
49	97	0,008	0,01	84	0,02	0,03	120	0,008	0,01	100	0,008	0,01	96	0,01	0,02
51	93	0,01	0,02	95	0,01	0,03	86	0,01	0,03	-	-	-	78	0,01	0,02
55	NT	NT	NT	107	0,02	0,05	NT	NT	NT	100	0,05	0,10	100	0,02	0,05
64	94	0,002	0,01	88	0,005	0,01	75	0,005	0,01	88	0,03	0,06	79	0,01	0,05
66	NT	NT	NT	88	0,003	0,010	84	0,003	0,010	80	0,003	0,010	NT	NT	NT
72	>90	0,001	0,003	>90	0,002	0,005	>90	0,005	0,01	>90	0,005	0,01	>90	0,001	0,003
75	100	0,005	0,01	100	0,005	0,01	100	0,005	0,01	106	0,005	0,01	100	0,005	0,01
81	100,15	0,0009	0,0030	NT	NT	NT	98,02	0,006	0,019	NT	NT	NT	NT	NT	NT
84	96	0,003	0,01	97	0,003	0,01	95	0,003	0,01	102	0,003	0,01	94	0,003	0,01
86	83,17	0,002	0,005	89,28	0,001	0,005	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
90	98,5	0,005	0,01	85,6	0,005	0,01	96,5	0,005	0,01	NT	NT	NT	NT	NT	NT
99	92,5	0,002	0,01	122	0,005	0,02	120	0,005	0,02	84	0,003	0,02	60	0,005	0,02

Onde: Rec = Recuperação; LD = Limite de detecção; LQ = Limite de quantificação

Analisando a Tabela 15, podemos verificar que alguns laboratórios não reportaram os valores de recuperação, limites de detecção e quantificação para os agrotóxicos que testaram. O laboratório PEP4.5/18 não reportou nenhum desses parâmetros para o agrotóxico Fenitrotiona, o laboratório PEP4.5/33 não reportou os valores de recuperação para os agrotóxicos Clorpirifós, Fenitrotiona e Oxifluorfen, e o laboratório PEP4.5/51 também não reportou nenhum desses parâmetros para a Permetrina. Alguns dos laboratórios citados têm sua metodologia validada e outros não. Cabe observar nestes casos, a importância de se concluir todas as etapas de validação de um método analítico, para que o laboratório possa ter total controle metrológico sobre os seus resultados.

Quanto aos valores de recuperação reportados, os laboratórios PEP4.5/14 e PEP4.5/18 encontraram um valor de recuperação de apenas 50% para o agrotóxico Trifluralina. O laboratório PEP4.5/99 encontrou um valor de 60% também para o agrotóxico Trifluralina. Todos estes valores encontram-se abaixo das faixas aceitáveis tanto pelo Codex (*Codex Alimentarius*, 2003), apresentados na Tabela 16, quanto pelo documento SANCO, 2006, que é de 70 a 120%.

Tabela 16: Critérios da aceitação da recuperação de métodos quantitativos, segundo o Codex alimentarius

Concentração	Faixa de recuperação aceitável (%)
$\leq 1 \mu\text{g}/\text{kg}$	50 - 120
$> 1 \mu\text{g}/\text{kg} \leq 0,01 \text{ mg}/\text{kg}$	60 - 110
$> 0,01 \text{ mg}/\text{kg} \leq 0,1 \text{ mg}/\text{kg}$	70 - 110
$> 0,1 \text{ mg}/\text{kg} \leq 1 \text{ mg}/\text{kg}$	70 - 110
$> 1 \text{ mg}/\text{kg}$	70 - 110

Cabe uma observação ainda sobre os valores de limite de detecção e limite de quantificação reportados pelo laboratório PEP4.5/35 para o agrotóxico Fenitrotiona, que encontra-se na ordem de partes por trilhão (ppt), bem abaixo daqueles valores reportados por todos os outros laboratórios, para o mesmo agrotóxico.

8. Conclusões

A organização do ensaio de proficiência para determinação de resíduos de agrotóxicos em polpa de tomate se constituiu num quinto trabalho da parceria estabelecida pelo Inmetro e INCQS/Fiocruz, com o intuito de promover a melhoria da qualidade das medições realizadas em alimentos no país. Através de uma análise criteriosa dos dados gerados neste EP, podemos chegar às seguintes conclusões gerais:

Quatro dos vinte e três laboratórios participantes (17%) não detectaram pelo menos um dos agrotóxicos presentes na amostra. Uma análise comparativa destes resultados, sob este mesmo ponto de vista, com os resultados da rodada anterior de EP para a Determinação de Agrotóxicos em Alimentos, mostra que esta relação praticamente se manteve. Contudo, esta constatação ainda reflete uma necessidade de melhoria, o que pode ser verificado nos resultados de viabilidade analítica para os agrotóxicos em estudo.

Ainda em relação à viabilidade analítica, observou-se maior dificuldade na determinação dos agrotóxicos oxifluorfem, permetrina e trifluralina, para os quais os valores de VA foram $\leq 0,5$.

Quanto aos laboratórios que encontraram agrotóxicos que não foram fortificados na amostra cabe salientar, conforme já relatado no item 7.6, que apenas o laboratório PEP4.5/35 encontrou um agrotóxico que não foi fortificado, o Fenvalerato, contudo não quantificou pois o laboratório não tinha o padrão desta substância disponível. A detecção de agrotóxicos não fortificados na amostra também está relacionada à sensibilidade do método empregado pelo laboratório. Este laboratório empregou a técnica de CG-EM que é bastante útil na identificação e confirmação de estruturas, contudo, nenhuma consideração pode-se feita com relação a este resultado devido à impossibilidade do laboratório empregar uma medição quantitativa e reportar as características de desempenho do método.

Quanto ao desempenho dos laboratórios, pode-se considerar como satisfatório para aqueles que reportaram seus resultados, pois a maior parte dos resultados reportados (77%) atingiu o valor de índice z satisfatório. Contudo, cabe destacar que 57% dos laboratórios que reportaram resultados para pelo menos um dos agrotóxicos presentes nas amostras, obtiveram pelo menos um resultado insatisfatório, questionável ou não detectado. Este desempenho é refletido na análise da capacidade analítica individual dos laboratórios, já que somente 22% dos laboratórios participantes desta rodada do EP possuem capacidade analítica de 100%.

Cabe relatar também o fato ocorrido com o laboratório PEP4.5/02 que reportou os resultados para os agrotóxicos clorpirifós, fenitrotiona e permetrina, corrigidos pela recuperação. Conforme consta no campo de observações do Formulário de Registro de Resultados, o resultado do laboratório deve ser

reportado sem a correção pela recuperação. O dado da recuperação é uma informação complementar que é solicitada para avaliar os dados de validação do método empregado pelo laboratório e os valores de recuperação não devem ser usados para corrigir o resultado. Este fato foi comunicado ao comitê de organização deste EP após a divulgação do relatório preliminar. A questão foi avaliada e os resultados reportados pelo laboratório PEP4.5/02 não foram considerados no cálculo do valor designado para os agrotóxicos clorpirifós, fenitrotona e permetrina. Dessa forma, os valores de índice z relativos aos agrotóxicos em questão foram recalculados para todos os laboratórios participantes e todas as alterações pertinentes constam nesta versão final do relatório.

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

Pode-se considerar também, que os laboratórios que reportaram seus resultados para as duas análises realizadas na amostra 2 apresentaram boa reprodutibilidade nas suas análises, tendo em vista que nenhum dos laboratórios apresentou Coeficiente de Variação (CV%) acima do permitido para este tipo de análise. No entanto, é importante destacar que a análise de CV envolveu a avaliação dos valores de concentração médio reportados pelos laboratórios e, dentre o universo de laboratórios participantes, alguns apresentaram repetitividade e/ou reprodutibilidade baixa se comparados com os demais.

Em relação ao preenchimento do formulário, cabe ainda ressaltar que a maioria dos laboratórios realizou as duas análises, conforme estabelecido, contudo, não realizou as respectivas duplicatas para cada análise.

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

9. Laboratórios Participantes

Vinte e seis laboratórios se inscreveram na 5ª Rodada do Programa de Ensaio de Proficiência para a Determinação de Agrotóxicos em Alimentos e vinte e três (88,5%) enviaram os resultados.

A lista dos laboratórios que enviaram os resultados à coordenação do Programa é apresentada na Tabela 17.

Tabela 17: Laboratórios participantes.

Instituição	
1.	Agriquem América S.A.
2.	AgroSafety Monitoramento Agrícola Ltda
3.	Bioensaios Análises e Consultoria Ambiental Ltda
4.	Centro de Energia Nuclear na Agricultura Laboratório Ecotoxicologia
5.	Corthorn Quality (Chile) S.A Corthorn Quality
6.	Eurofins do Brasil Análises de Alimentos Ltda
7.	Fundação Ezequiel Dias Laboratório de Resíduos de Pesticidas/DIVISA
8.	Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial do Ceará LABCAJU
9.	Gestión de Calidad Y laboratorio S.A.
10.	Instituto Adolfo Lutz Laboratório de Resíduos de Pesticidas
11.	Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) Laboratorio de Residuos de Pesticidas
12.	Instituto de Tecnologia do Paraná - TECPAR Laboratório de Pesticidas
13.	Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA Laboratório de Análise de Resíduos e Agrotóxicos – LARA
14.	INTI INTI Frutas y Hortalizas
15.	ITEP – Instituto de Tecnologia de Pernambuco Laboratório de Análise de Resíduos de Agrotóxicos e de Bebidas Alcoólicas – Lab
16.	Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal – LACEN-DF Laboratório de Resíduos de Pesticidas
17.	Laboratorio de Analisis y Servicios Avanzados Ltda Labser Ltda
18.	Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais Laboratório de Pesticidas / LANAGRO-MG

19.	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento Laboratório Nacional Agropecuário em Goiás
20.	Plantec – Planejamento e Tecnologia Agrícola Ltda Plantec Laboratórios
21.	Secretaria de Saúde do Estado do Paraná LACEN-PR
22.	TASQA Serviços Analíticos Ltda
23.	Universidade Federal de Santa Maria Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP)

Total de participantes: 23 laboratórios

O código de cada participante não está associado à ordem da lista de participantes.

10. Referências Bibliográficas

- ABNT ISO/IEC GUIDE 43-1:1999: Ensaio de proficiência por comparações interlaboratoriais – Parte 1. Desenvolvimento e operação de programas de ensaios de proficiência.
- CHUI, Q. S. H.; BISPO, J. M. de A.; Iamashita, C. O.; O papel dos programas interlaboratoriais para a qualidade dos resultados analíticos. *Química Nova*, Vol. 27, N°06, 993-1003, 2004.
- CODEX ALIMENTARIUS. Pesticides Residues in food. Methods of analysis and sampling. 2nd edition Volume 2A Part 1 ano 2000.
- EUROPEAN Commission, DG-SANCO, Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis, Document No. SANCO/10232/2006, Brussels, 24 March 2006.
- Inmetro, site consultado em agosto de 2008.
- ISO 13528:2005: Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.
- ISO Guide 35:2006: Certification of Reference Materials – General and Statistical principles.
- The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 78, No. 1, pp. 145–196, 2006.
- 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*, 2000, 125, 385-386
- Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais da Metrologia (VIM), 3ed, 2003.

