

Relatório Final do Ensaio de
Proficiência para Determinação
de Agrotóxicos em Alimentos
6^a rodada – Matriz Manga

ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS – 6ª RODADA – MATRIZ MANGA

RELATÓRIO FINAL – Nº 004/11

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)
Marcus Henrique Campino de La Cruz (INCQS/Fiocruz)
Maria Helena Wohlers M. Cardoso (INCQS/Fiocruz)
Paulo Roberto da Fonseca Santos (Inmetro/Dimci/Dicep)
Valnei Smarçaro da Cunha (Inmetro/Dimci/Dquim)

COMITÊ TÉCNICO

Adherlene Vieira Gouvêa (INCQS/Fiocruz)
Eliane Cristina Pires do Rego (Inmetro/Dimci/Dquim/Labor)
Fernando Gustavo Marques Violante (Inmetro/Dimci/Dquim/Labor)
Janaína Marques Rodrigues (Inmetro/Dimci/Dquim/Labor)
Joyce Costa Andrade (Inmetro/Dimci/Dicep)
Lucia Helena Pinto Bastos (INCQS/Fiocruz)

ÍNDICE

1. Introdução.....	2
2. Objetivos.....	2
3. Preparo e Envio dos Itens de Ensaio	3
3.1. Preparo da Polpa de Manga.....	3
3.2. Preparo da Solução de Ditiocarbamato.....	3
3.3. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio.....	4
3.4. Envio dos Itens de Ensaio	4
4. Análise dos Resultados.....	4
4.1. Registro dos Resultados das medições dos laboratórios	4
4.2. Estabelecimento do valor designado.....	5
4.3. Análise Estatística	5
4.3.1. Análise de Resíduos.....	5
4.3.2. Avaliação da Homogeneidade dos Itens de Ensaio	6
4.3.3. Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência	7
4.3.4. Índice z	8
4.3.5. Análise Robusta.....	9
5. Resultados das Avaliações da Homogeneidade e da Estabilidade	10
5.1. Avaliação da Homogeneidade.....	10
5.2. Avaliação da Estabilidade	11
6. Atribuição do Valor Designado.....	12
7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes.....	13
7.1. Laboratórios Participantes.....	13
7.2. Resultados dos Laboratórios Participantes	13
7.3. Cálculo do Índice z.....	14
7.4. Avaliação quanto às técnicas empregadas	17
8. Conclusões	19
9. Laboratórios participantes.....	20
10. Referências Bibliográficas.....	22

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 sexta rodada do Ensaio de Proficiência 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), para a determinação de ditiocarbamato, expresso como CS₂, em polpa de manga.

2. Objetivos

O objetivo deste Ensaio de proficiência é fornecer aos laboratórios participantes uma ferramenta efetiva para verificar sua competência nos ensaios para quantificação dos fungicidas pertencentes à

classe dos ditiocarbamatos, em polpa de manga, utilizando suas metodologias de rotina. Este EP também contribui para:

- monitorar o desempenho contínuo dos laboratórios de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos;
- identificar problemas na metodologia aplicada pelo laboratório participante e iniciar ações corretivas;
- 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. As análises laboratoriais foram realizadas utilizando a metodologia Keppel, onde todos os ditiocarbamatos presentes na amostra são analisados como CS₂.

3.1. Preparo da Polpa de Manga

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

As mangas foram cortadas em cubos, descascadas, trituradas em liquidificador e homogeneizadas. A polpa resultante foi dividida em alíquotas de aproximadamente 50 g ± 5 g, que foram transferidas para frascos de plástico identificados. A seguir, os frascos foram armazenados em freezer (-15°C) até o momento de serem enviadas aos laboratórios participantes.

3.2. Preparo da Solução de Ditiocarbamato

O agrotóxico da classe dos ditiocarbamatos utilizado neste EP foi o Tiram. A solução de Tiram foi preparada, segundo as boas práticas de laboratório, em solvente orgânico, a partir do padrão de agrotóxico Sigma-Aldrich (lote 45689), com certificado de análise e pureza declarada de 99,9 %.

Foram preparados 200 mL da solução, que após diluição, foram distribuídos em porções de 1 mL em ampolas de vidro âmbar, sendo, sob refrigeração, seladas e etiquetadas. As ampolas foram armazenadas em freezer (-15 °C) até o momento de serem enviadas aos laboratórios participantes.

3.3. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

Foram separados aleatoriamente vinte ampolas e vinte frascos com polpa de manga, representativos do conjunto preparado, para o teste de homogeneidade. Como o procedimento analítico utilizado neste EP não permite o fracionamento do item de ensaio para análise de replicatas genuínas, foram consideradas como replicatas os resultados das análises realizadas no mesmo dia. Assim, dez pares de itens de ensaio foram analisados, sendo um para cada dia, totalizando vinte itens de ensaio (vinte ampolas e vinte frascos com polpa de manga).

Para o estudo de estabilidade, os itens de ensaio reservados foram avaliados em cinco períodos diferentes, compreendidos entre o recebimento do item de ensaio pelos laboratórios e o período final de entrega dos resultados. Foram analisadas duas amostras em cada dia de estudo, que foram consideradas como replicatas.

As análises laboratoriais foram realizadas no laboratório de resíduos de agrotóxicos do INCQS/FIOCRUZ, utilizando a metodologia Keppel, onde todos os ditiocarbamatos presentes na amostra são analisados como CS₂.

Os testes estatísticos foram feitos segundo o 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 6ª Rodada do Ensaio de Proficiência para Determinação de Agrotóxicos em Alimentos foi enviado um frasco de plástico contendo 50 g (\pm 5 g) de polpa de manga congelada e separadamente uma ampola contendo ditiocarbamato solubilizado em solvente orgânico. Estes foram enviados por via aérea em uma caixa de isopor devidamente lacrada, com gelo seco para manter a integridade física do item de ensaio.

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. Registro dos resultados das medições dos laboratórios

De forma a harmonizar os resultados emitidos e poder interpretá-los, os laboratórios foram orientados a fortificar a polpa de manga com todo o conteúdo da ampola fornecida. Como as massas de polpa de manga utilizadas por cada laboratório dependem do método empregado, o valor de concentração na polpa de manga, C (mg/kg), foi calculado pela própria planilha que considera na fórmula a massa de polpa de manga como 100 g, conforme a Equação 1. Desta forma, foram registradas as seguintes informações no Formulário de Registro de Resultados:

- A concentração da solução final, C_f ($\mu\text{g/mL}$), após as etapas de extração e diluição (caso existam essas etapas), na qual foi realizada a medição no equipamento utilizado pelo laboratório; e
- O volume desta solução final, V_f (mL), na qual foi realizada a medição;

$$C(\text{mg / kg}) = \frac{C_f(\mu\text{g / mL}) \times V_f(\text{mL})}{100\text{g}} \quad (1)$$

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 do valor designado

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 Coordenação deste Ensaio de Proficiência adotou como valor designado aquele oriundo 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, o valor designado foi obtido pela média robusta dos resultados emitidos por todos os laboratórios participantes e pelo INCQS, conforme os procedimentos estatísticos descritos no item 4.3.5 deste relatório.

4.3. Análise Estatística

Neste tópico estão descritas as análises estatísticas utilizadas para a obtenção do valor designado, para a avaliação da homogeneidade e da estabilidade dos itens de ensaio, 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 manga em relação ao valor de referência da concentração do agrotóxico utilizado 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, o parâmetro avaliado é considerado estável.

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 teste¹ de cada item de ensaio e realizar a análise de todas as porções (2 g) 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 2. Definir as diferenças entre as porções de teste, w_t , também para cada amostra, a partir da Equação 3.

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

$$w_t = |x_{t,1} - x_{t,2}| \quad (3)$$

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 4 e 5, a seguir:

$$s_w = \sqrt{\sum w_t^2 / (2g)} \quad (4)$$

$$s_s = \sqrt{s_x^2 - (s_w^2 / 2)} \quad (5)$$

¹ Conforme descrito no item 3.3, o procedimento analítico utilizado neste EP não permite o fracionamento do item de ensaio para análise de replicatas genuínas. Dessa forma, um conjunto de dois itens de ensaio analisados em um mesmo dia foi considerado como duas porções de teste.

As amostras podem ser consideradas adequadamente homogêneas para este ensaio de proficiência, se o critério definido na Equação 6 for atendido:

$$s_s \leq 0,3\sigma \quad (6)$$

Onde, σ é o desvio padrão para avaliação de proficiência, que neste EP foi obtido através da equação de Horwitz (4.3.4). Considerado que a avaliação da homogeneidade deve ser realizada antes do envio do item de ensaio aos laboratórios participantes do EP, o desvio padrão σ foi calculado com base na fração mássica obtida a partir dos dados do estudo de homogeneidade.

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 7:

$$\hat{\sigma} = \sqrt{\sigma^2 + s_s^2} \quad (7)$$

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.

A avaliação da homogeneidade dos itens de ensaio foi realizada após uma verificação prévia de valores dispersos no conjunto de dados gerados por todas as porções de teste (2 g), através do teste de Cochran. Na hipótese de existência de valores dispersos os mesmos são retirados do conjunto de dados antes das etapas de avaliação da homogeneidade detalhadas neste tópico.

4.3.3. 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.

4.3.4. 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

4.3.5. Análise Robusta

A Norma ISO 13528:2005 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 4.3.3).

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^*)² e do desvio padrão (s) dos novos valores encontrados, e a seguir calculou-se o novo desvio padrão robusto (s^*)³. O novo valor de s^* foi calculado pela Equação 18:

² 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.

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

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.

A Tabela 1 mostra os resultados obtidos para os 10 pares de itens de ensaio analisados para o teste de homogeneidade.

Tabela 1: Dados gerados no teste de homogeneidade.

Ampolas	Concentração (mg/kg)	
MR042 e MR059	0,163	0,160
MR095 e MR003	0,165	0,158
MR148 e MR065	0,126	0,126
MR024 e MR102	0,133	0,161
MR151 e MR002	0,151	0,151
MR154 e MR049	0,158	0,154
MR017 e MR061	0,131	0,118
MR006 e MR038	0,163	0,163
MR008 e MR164	0,164	0,163
MR028 e MR070	0,170	0,179

A partir desses resultados, foi realizado o teste de Cochran para a identificação de valores dispersos. Após essa avaliação foram retiradas do conjunto de dados para o teste de homogeneidade as amostras MR024 e MR102. Os valores de desvio padrão entre as amostras (s_s) e desvio padrão para avaliação de proficiência, obtido a partir a equação de Horwitz (σ), foram calculados com o novo conjunto de dados sem os valores dispersos. Os valores obtidos estão na Tabela 2. Cabe salientar que o desvio padrão para avaliação de proficiência, calculado para o teste de homogeneidade a partir da equação de Horwitz, teve como base a fração mássica (c) média obtida a partir dos resultados deste estudo. Contudo, o desvio padrão que será utilizado para avaliação de proficiência, de fato, também será calculado pela equação de Horwitz, porém terá como base de cálculo o valor designado expresso em fração mássica.

Tabela 2: Valores calculados a partir dos resultados obtidos para avaliação da homogeneidade.

Valor médio	0,153	mg/kg
fração mássica (c)	$1,53 \cdot 10^{-7}$	
s_s	0,017	mg/kg
σ (Horwitz)	0,033	mg/kg
$0,3 \times \sigma$ (Horwitz)	0,011	mg/kg

Conforme os resultados obtidos, o valor de desvio padrão entre as amostras (s_s) foi de 0,017 mg/kg. Este valor é maior do que o limite $0,3x\sigma$, equivalente a aproximadamente um terço do desvio padrão para avaliação de proficiência, para o qual foi obtido um valor de 0,033 mg/kg.

Dessa forma, os itens de ensaio não foram considerados suficientemente homogêneos, pois o critério mostrado na Equação 6 não foi alcançado. A fim de compensar o efeito do s_s na avaliação dos laboratórios participantes, o valor do desvio inerente a variação existente entre as amostras (s_s) será incluído no desvio padrão para avaliação de proficiência, conforme a Equação 7.

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 3.

Tabela 3: Dados obtidos para o estudo de estabilidade.

Dia da análise	Concentração média do analito (mg/kg)
0	0,153
42	0,132
64	0,108
85	0,140
92	0,149
105	0,112

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos na estimativa da variância dos valores utilizados na regressão linear segundo o ISO Guide 35:2006.

Tabela 4: Análise de regressão para a avaliação da estabilidade.

	<i>GI</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>
Regressão	1	3,12E-04	3,12E-04	0,842
Resíduo	4	1,48E-03	3,71E-04	
Total	5	1,80E-03		
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	1,45E-01	1,64E-02	8,86E+00	8,98E-04
Variável X 1	-0,0002043	2,23E-04	-9,18E-01	0,4108

Os resultados obtidos do tratamento estatístico dos dados gerados mostraram que, o valor de P calculado foi maior 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 do Valor Designado

O valor designado relativo à concentração de ditiocarbamato foi calculado segundo procedimento estatístico descrito no item 4.3.5, e o desvio padrão para avaliação de proficiência foi obtido pela equação modificada baseada no modelo de Horwitz, conforme o item 4.3.3.

De acordo com os resultados obtidos no teste de homogeneidade, mostrados no item 5.1 os itens de ensaio não são suficientemente homogêneos em relação ao valor de concentração de CS₂ (mg/kg). Dessa forma, o valor do desvio padrão entre as amostras s_s foi acrescentado, conforme a Equação 7, ao desvio padrão para avaliação de proficiência no EP, obtendo-se um novo valor para este.

O valor designado com seu respectivo desvio padrão para avaliação de proficiência, já recalculado, está apresentado a seguir.

Valor designado: **0,172 mg/kg**

Desvio Padrão (σ): **0,040 mg/kg**

7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

7.1. Laboratórios Participantes

Vinte e sete laboratórios se inscreveram na 6ª Rodada do Programa de Ensaio de Proficiência para a Determinação de Agrotóxicos em Alimentos e quatorze (52 %) enviaram os resultados.

7.2. Resultados dos Laboratórios Participantes

Os dados reportados pelos laboratórios participantes do ensaio de proficiência foram tratados de acordo com os procedimentos descritos na ILAC G-13. A Tabela 5 apresenta os valores de recuperação (%), limite de detecção e limite de quantificação, volume da solução final, da qual se realizou a medição no equipamento (cromatógrafo ou espectrofotômetro), e a massa de polpa de manga empregada no método que foram reportados pelos laboratórios. Os resultados normalizados de acordo com a Equação 1 estão também apresentados.

Tabela 5: Parâmetros de desempenho e resultados normalizados reportados pelos laboratórios.

Código dos Laboratórios	Método	Volume do balão de diluição (mL)	Massa de polpa usada pelo laboratório (g)	REC (%)	LD	LQ	Resultado Normalizado/100g
06	Espectrofotométrico	25	49,05	–	–	–	0,114
08	Espectrofotométrico	25	52,4	70 – 106	–	0,08 mg/kg	0,186
12	CG – EM	2	3	76,8	–	–	0,289
27	CG – DFC	1	25	97	0,2 mg/kg	0,3 mg/kg	0,172
51	Espectrofotométrico	25	50,1374	80,3 – 105,7	0,15 mg/kg	0,30 mg/kg	0,220
52	CG – DFC	1	–	70 – 120	0,02	0,05	0,138
56	CG – DFC	25	46,02	90 – 110	0,034 mg/kg	0,07 mg/kg	0,140
67	CG – DFC	25	50	77,6 – 80,7	0,3 mg/kg	0,4 mg/kg	–
72	Espectrofotométrico	10	40	70 – 90	0,02 mg/kg	0,05 mg/kg	0,144
82	CG – EM	25	25	–	–	–	0,103
84	CG – DFC	50	48,5	92	0,04 µg/mL	0,05 µg/mL	0,135
85	CG – EM	50	50,02	–	–	–	0,234
94	Espectrofotométrico	25	50,9	99	0,19 mg/kg	0,62 mg/kg	0,315
95	CG – EM	2	2 ± 0,1	70 – 120	0,005 mg/kg	0,010 mg/kg	0,165
INCQS	Espectrofotométrico	25	50	102 – 105	0,089 mg/kg	0,133 mg/kg	0,153

Os laboratórios PEP4.6/06, PEP4.6/82 e PEP4.6/85 não reportaram o valor de recuperação do método e o laboratório PEP4.6/95 não realizou o procedimento de utilização da ampola conforme descrito no protocolo. Assim, os resultados desses laboratórios não foram considerados no cálculo do valor designado, porém foram avaliados através do Índice z. O laboratório PEP4.6/67

relatou um problema de perda de sensibilidade do equipamento no momento da análise, e um resultado não numérico (< 0,3 mg/kg).

O gráfico de dispersão dos resultados dos laboratórios participantes encontra-se na Figura 1. Neste gráfico 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 ($y_{ref} \pm 3\sigma$).

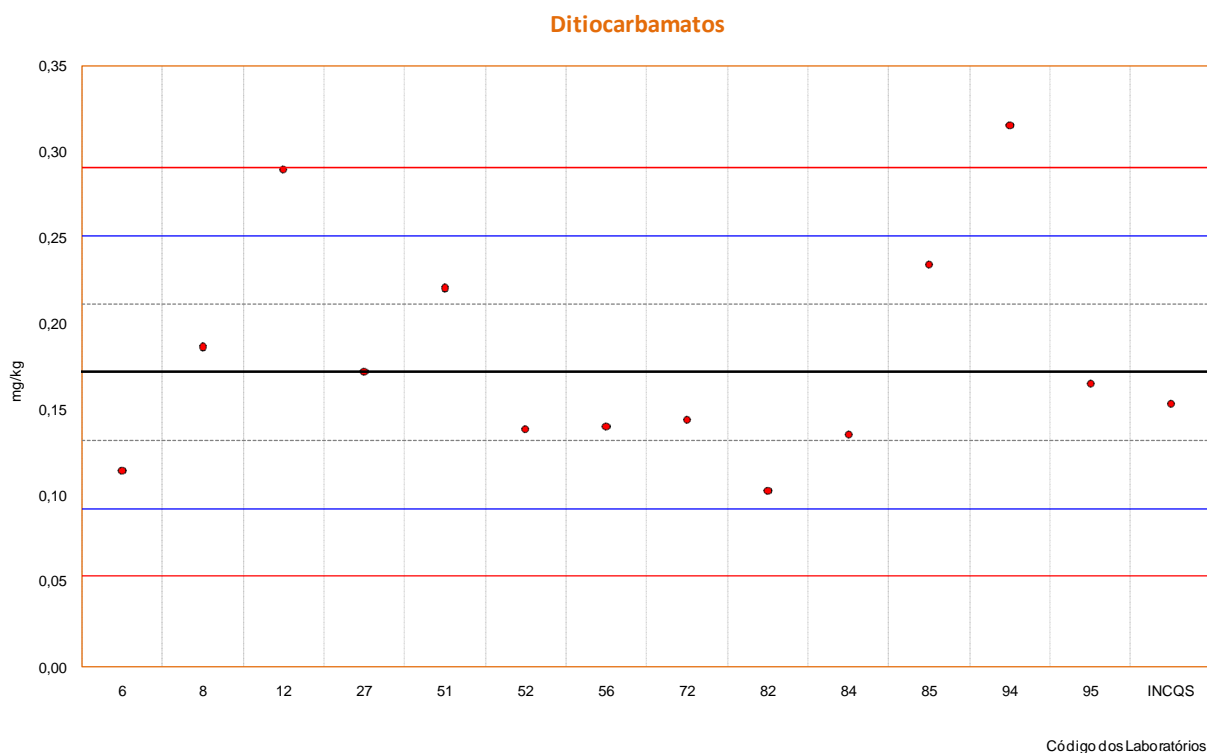


Figura 1: Gráfico de dispersão dos resultados dos laboratórios.

A partir de uma análise visual dos gráficos de dispersão pode-se observar a incompatibilidade do laboratório PEP4.6/94 que obteve resultado fora do limite de três vezes o desvio padrão ($y_{ref} \pm 3\sigma$), o que reflete diretamente no resultado da avaliação pelo Índice z, que será apresentado no próximo item.

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 6.

Tabela 6: Valores do Índice z obtidos pelos laboratórios participantes.

Código dos Laboratórios	Índice z
06	-1,4
08	0,4
12	3,0**
27	0,0
51	1,2
52	-0,8
56	-0,8
67	*
72	-0,7
82	-1,7
84	-0,9
85	1,6
94	3,6**
95	-0,2
INCQS	-0,5

* = O laboratório reportou resultado não numérico (<0,3 mg/kg).

** = resultado insatisfatório

A Figura 2 apresenta o resultado do Índice z obtido pelos laboratórios participantes. Aqueles laboratórios cujos resultados por algum motivo não foram aproveitados para o cálculo do valor designado, também estão sendo avaliados pelo Índice z.

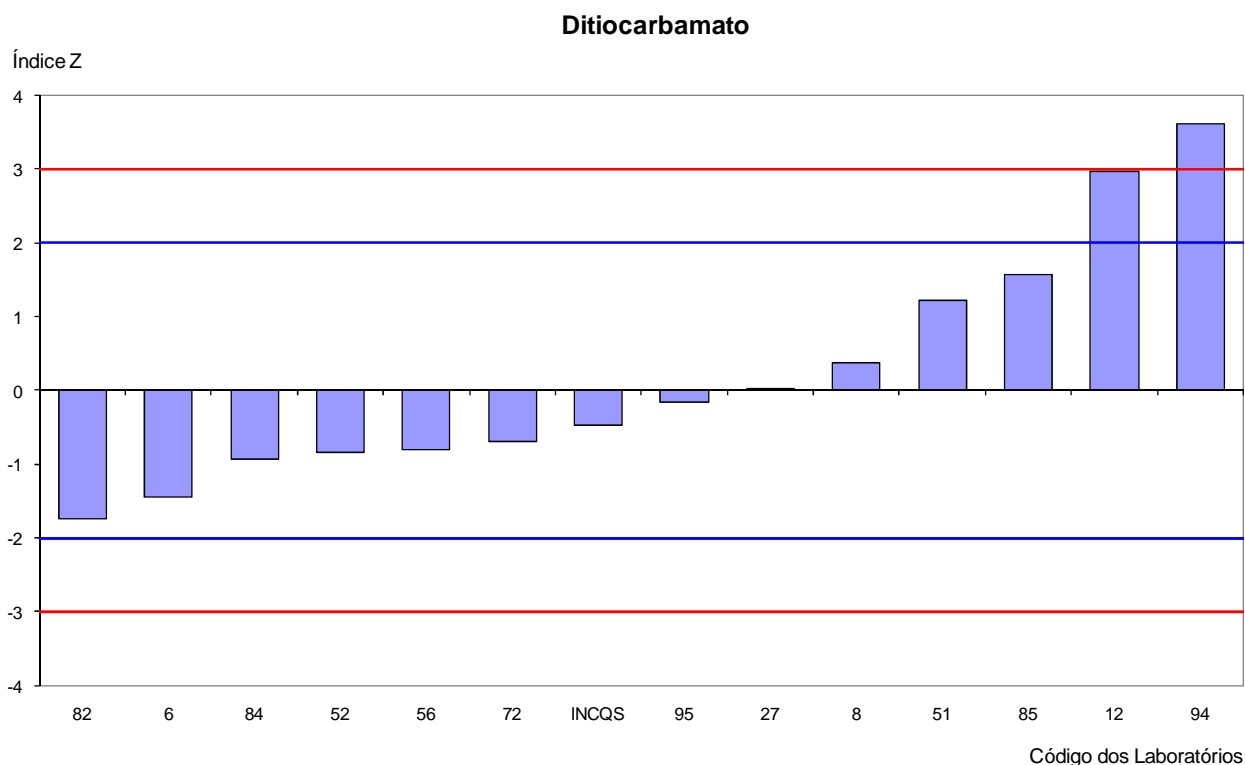


Figura 2: Índice z dos laboratórios participantes.

De acordo com os resultados obtidos, dois dos quatorze laboratórios participantes obtiveram resultado insatisfatório (PEP4.6/12 e PEP4.6/94). Cabe salientar que o laboratório PEP4.6/95 relatou que retirou a porção para o ensaio após adicionar o conteúdo da ampola à polpa e homogeneizar.

Em 2007 foi realizada a segunda rodada de EP para determinação de agrotóxicos da classe dos ditiocarbamatos em polpa de manga. Este trabalho também foi realizado no âmbito da parceria entre o Inmetro e o INCQS/FIOCRUZ para determinação de agrotóxicos em alimentos. Dessa forma, foi possível realizar uma comparação quanto ao desempenho dos laboratórios participantes do EP realizado no ano de 2007 em relação a esta sexta rodada.

A Tabela 7 e a Figura 3 apresentam o número e o percentual de resultados satisfatórios, questionáveis e insatisfatórios obtidos na segunda e na sexta rodadas de EP para determinação de agrotóxicos em alimentos.

Tabela 7: Comparação do desempenho dos laboratórios na segunda e sexta rodada de EP para ditiocarbamatos em alimentos.

Desempenho	Segunda rodada		Sexta rodada	
	Nº de laboratórios	% de laboratórios	Nº de laboratórios	% de laboratórios
Satisfatório	8	66,7	11	84,6
Questionável	2	16,7	0	0
Insatisfatório	2	16,7	2	15,4
Total	12	100	13	100

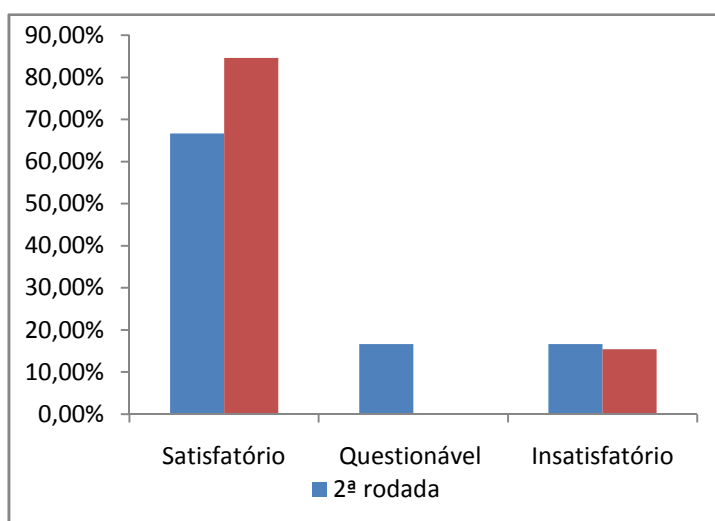


Figura 3: Percentuais de resultados satisfatórios, insatisfatórios e questionáveis obtidos na segunda e na sexta rodada de EP para determinação de agrotóxicos em alimentos.

Analisando esses resultados podemos verificar que houve uma melhora no desempenho geral dos laboratórios que realizam o ensaio.

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. Avaliação quanto às técnicas empregadas

Neste EP os laboratórios foram orientados a prestarem algumas informações sobre as técnicas e os equipamentos utilizados nos ensaios.

Conforme as informações fornecidas pelos laboratórios no Formulário de Registro de Resultados, a principal técnica para gerar o CS₂ está baseada na reação do ditiocarbamato com cloreto de estanho (II) em meio ácido. Contudo, os laboratórios participantes reportaram diferentes técnicas analíticas para a determinação do CS₂, conforme mostra a Tabela 8.

Tabela 8: Técnicas analíticas empregadas pelos laboratórios participantes.

Técnica	Número de laboratórios que utilizou a técnica
Espectrofotometria	5
Cromatografia acoplada à espectrometria de massas (CG-EM ou CG-EM/EM)	4
Cromatografia com detecção por fotometria de chama (CG-DFC)	5

Apesar de muitos laboratórios empregarem a técnica de espectrofotometria, pode-se observar neste EP que a maior parte utiliza a técnica cromatográfica, sendo que 4 destes utilizaram a técnica de CG-EM (ou CG-EM/EM) o que representa 28,6 % dos laboratórios participantes e 5 laboratórios (35,7 %) utilizaram a cromatografia gasosa com detecção por fotometria de chama.

8. Conclusões

A organização do ensaio de proficiência para determinação de resíduos de agrotóxicos em polpa de manga se constituiu num sexto 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:

Quanto ao desempenho geral dos laboratórios, pode-se considerar este como satisfatório, pois a maior parte dos resultados reportados (84,6 %) atingiu o valor de Índice z satisfatório. Uma análise comparativa destes resultados, sob este mesmo ponto de vista, com os resultados da segunda rodada de EP para a Determinação de Agrotóxicos em Alimentos, mostra que houve uma evolução na determinação deste ditio carbamato. Para os laboratórios que obtiveram o resultado insatisfatório ou não detectado, 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.

Cabe relatar também que alguns dos laboratórios participantes questionaram a aplicabilidade da fórmula automática empregada no Formulário de Registro de Resultados. A coordenação deste EP colocou-se a disposição para o esclarecimento de quaisquer dúvidas desses laboratórios.

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 dois laboratórios se inscreveram neste EP. Dos vinte e dois laboratórios, oito não enviaram resultados, totalizando 14 laboratórios participantes.

A identidade dos participantes em relação aos resultados do ensaio é confidencial, sendo conhecido apenas pelo responsável do laboratório e pela organização deste ensaio de proficiência. Os laboratórios foram codificados de forma a não haver possibilidade de associação do resultado com o respectivo laboratório. Os laboratórios participantes não têm conhecimento da identificação dos outros laboratórios.

A lista dos laboratórios que enviaram os resultados à coordenação do Programa é apresentada na Tabela 9. É importante ressaltar que a numeração da tabela é apenas indicativa do número de laboratórios participantes no EP, não estando, em hipótese alguma, associada à identificação dos laboratórios na apresentação dos resultados.

Tabela 9: Laboratórios participantes.

Instituição	
1.	Agrosafety Monitoramento Agrícola Ltda Agrosafety Monitoramento Agrícola Ltda
2.	Bioagri Análises de Alimentos Ltda Laboratório Bioagri Análises de Alimentos
3.	Bioensaios Análises e Consultoria Ambiental Ltda Laboratório Bioensaios Análises e Consultoria Ambiental Ltda
4.	Embrapa Agroindústria de Alimentos Laboratório de Resíduos e Contaminantes
5.	Eurofins do Brasil Análises de Alimentos Ltda Laboratório Eurofins do Brasil Análises de Alimentos Ltda
6.	Instituto Biológico (IB) Laboratório de Resíduos de Pesticidas (LRP)
7.	Instituto de Tecnologia de Pernambuco - ITEP LabTox – Unidade de Agrotóxicos e Contaminantes e de Bebidas Alcoólicas
8.	Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR Laboratório de Pesticidas
9.	Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA Laboratório de Análise de Resíduos de Agrotóxicos
10.	Laboratório Central de Saúde Pública do Paraná LACEN/PR

11.	Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros LACEN/GO – SES – Seção de Toxicologia – Divisão de Produtos
12.	Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO-MG LANAGRO-MG
13.	Universidade de Brasília Laboratório de Toxicologia
14.	Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) Centro de Pesquisa e Análise de Resíduos e Contaminantes (CEPARC)

Total de participantes: 14 laboratórios

10. Referências Bibliográficas

- ISO/IEC 17043:2010. Conformity assessment — General requirements for proficiency testing.
- 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, Nº06, 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.
- 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.
- KEPPEL, G.E. Collaborative Study of the Determination of dithiocarbamate. Residues by a modified carbon disulfide evolution method. *Journal of the Association Official Analytical Chemists*, v.54, n.3, p.528-532, 1971.
- 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 Metrologia: Conceitos Fundamentais e Gerais e Termos Associados (VIM 2008), 1ed, 2009.

