

Ensaio de Proficiência em Produtos Sujeitos ao Regime de Vigilância Sanitária (EP/INCQS)

Ensaio de Proficiência para Determinação de Agrotóxicos em Hortifrutigranjeiros 12ª Rodada – Matriz Couve-Flor

Rodada EP AGR 12/17



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz





**Ensaio de Proficiência para Determinação de Agrotóxicos em
Hortifrutigranjeiros 12ª Rodada – Matriz Couve-Flor**

RELATÓRIO FINAL

ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO



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

COMISSÃO ORGANIZADORA DA RODADA

- COMISSÃO DO PROGRAMA DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA

Armi Wanderley da Nóbrega – Coordenador Geral

Marcus Henrique Campino de la Cruz – Coordenador Técnico

Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso – Coordenadora da Qualidade

- COMITÊ TÉCNICO

Angélica Castanheira de Oliveira

Lucia Helena Pinto Bastos

Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso

Autorizada a emissão – Armi W. da Nóbrega
(Coordenador Geral)

22/Setembro/2017

SUMÁRIO

1. Introdução.....	3
2. Objetivos.....	4
3. Produção dos Itens de Ensaio	4
3.1. Escolha da Matriz.....	4
3.2. Preparo do Purê de Couve-flor	4
3.3. Fortificação da Matriz	4
3.4. Faixa de Valores Esperados.....	5
3.5. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio	5
3.6. Envio dos Itens de Ensaio.....	5
4. Análise dos Resultados	5
4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios	5
4.2. Estabelecimento dos Valores Designados	6
4.3. Análise Estatística.....	6
4.3.1. Análise de Resíduos	6
4.3.2. Avaliação da Homogeneidade dos Itens de Ensaio	6
4.3.3. Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência	6
4.3.4. Índice z.....	7
4.3.5. Análise Robusta	7
5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio.....	7
5.1. Avaliação da Homogeneidade	7
5.2. Avaliação da Estabilidade	8
6. Atribuição dos Valores Designados	9
7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes.....	10
7.1. Laboratórios Participantes	10
7.2. Resultados dos Laboratórios Participantes	10
7.3. Considerações Sobre os Métodos de Análise	16
7.3.1. Método de Análise do Laboratório de Resíduos de Agrotóxico do INCQS	16
7.3.2. Recuperação, Limite de Detecção, Limite de Quantificação e Quantificação	16
7.3.3. Método de Extração	16
7.4. Cálculo do Índice z.....	16
7.5. Resultados Qualitativos	23
7.6. Capacidade Analítica, Viabilidade Analítica e Frequência de Agrotóxicos Analisados.....	23
7.7. Agrotóxicos não Fortificados na Amostra, porém Encontrados pelos Laboratórios	26
8. Conclusões e Comentários	26
9. Confidencialidade	26
10. Modificações em Relação a Versão Anterior	26
11. Referências Bibliográficas	27
12. Laboratórios Participantes.....	28
Anexo A – Homogeneidade Segundo a Norma ISO 13528.....	29
Anexo B – Valor Designado Segundo a Norma ISO 13528.....	30

1. Introdução

Ensaio de proficiência (EP) é o uso de comparações interlaboratoriais com o objetivo de avaliar a habilidade de um laboratório 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. Além do baixo número de provedores de ensaios de proficiência na área de alimentos, os custos cobrados para a participação nestes ensaios principalmente de provedores internacionais, são normalmente muito elevados, o que inviabiliza, em muitos casos, a participação de um laboratório em um número maior de ensaios.

O monitoramento dos níveis residuais de agrotóxicos em produtos hortifrutigranjeiros permite aos produtores e autoridades ligadas a saúde pública avaliar a qualidade das práticas agrícolas em uso no país e os agravos à saúde decorrentes do consumo daqueles alimentos, bem como a implementação de medidas preventivas e de controle voltadas para a proteção do meio ambiente e da saúde da população. Por ser muito elevado o número de agrotóxicos presentemente utilizados na produção de alimentos, por serem encontrados resíduos daqueles agrotóxicos nos alimentos em concentrações da ordem de $\mu\text{g kg}^{-1}$, e também por estarem presentes em uma grande variedade de matrizes, a identificação e a quantificação destas substâncias nos alimentos demanda o emprego de técnicas analíticas complexas. É crescente a exigência no mercado internacional, de níveis cada vez mais reduzidos, de resíduos de agrotóxicos, em hortifrutigranjeiros.

A realização de programas de ensaio de proficiência voltados para a determinação analítica de resíduos de agrotóxicos em alimentos produzidos no Brasil, portanto, é imprescindível para o aumento da confiabilidade dos resultados das medições aqui realizadas, trazendo maior confiabilidade aos resultados emitidos, facilitando o comércio internacional e prevenindo barreiras técnicas.

Visando a promoção da saúde e em apoio a maior competitividade da indústria nacional, o INCQS promoveu o Ensaio de Proficiência para Determinação de Agrotóxicos em Hortifrutigranjeiros, 12ª Rodada - Matriz Couve-Flor, seguindo as diretrizes da ABNT ISO/IEC [17043](#), apresentando neste relatório os resultados da avaliação de desempenho dos laboratórios participantes.

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 purê de couve-flor. Este EP também poderá contribuir para:

- Identificar e quantificar os agrotóxicos presentes em purê de couve-flor utilizando o método analítico de rotina utilizado no laboratório;
- Promover o aumento da confiança nos resultados das medições dos laboratórios participantes;
- Avaliar o desempenho de laboratórios para o ensaio proposto; e
- Propiciar subsídios aos laboratórios para a identificação e solução de problemas.

3. Produção dos Itens de Ensaio

Os procedimentos de preparo dos itens de ensaio e as análises foram realizados no Departamento de Química / Setor de Resíduos e Contaminantes / Laboratório de Resíduos de Agrotóxicos do INCQS/FIOCRUZ, seguindo os procedimentos da norma ABNT ISO/IEC 17025 para a análise de resíduos de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros.

3.1. Escolha da Matriz

A couve-flor foi escolhida por ser um hortifrutigranjeiro da família das folhosas e ainda não ter sido realizado, pelo grupo de trabalho do INCQS, nenhum EP da área de resíduos de agrotóxicos neste tipo de matriz.

3.2. Preparo do Purê de Couve-flor

As amostras de couve-flor foram adquiridas de fornecedores e avaliadas quanto à viabilidade de uso para a fortificação com os agrotóxicos selecionados para o estudo.

As amostras foram descascadas, trituradas em liquidificador e parte do purê assim produzido, após homogeneização, foi separado e congelado para ser utilizada como amostra não fortificada (branco de matriz). O purê restante foi fortificado com os agrotóxicos selecionados, homogeneizado e dividido em alíquotas de $40 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$, as quais foram transferidas para frascos de vidro com tampa de rosca, previamente rotulados. Cada frasco contendo o purê passou a representar um item de ensaio e foram armazenados em freezer (-25 à -10 °C) até o momento de serem enviados aos laboratórios participantes.

3.3. Fortificação da Matriz

As soluções de agrotóxicos para fortificação da matriz foram preparadas, segundo as Boas Práticas de Laboratório, a partir dos padrões de agrotóxicos listados na [Tabela 1](#). As soluções foram preparadas utilizando os padrões listados, em solvente orgânico grau cromatográfico. Os agrotóxicos da Tabela 1 foram escolhidos em função da frequência com que tem sido observado em programas de monitoramento oficiais.

Tabela 1: Padrões de agrotóxicos utilizados no preparo das soluções.

Agrotóxicos	Pureza do Certificado (%)
Acefato	98
Carbaril	97,0
Ciazofamida	100,0
Malationa ¹	100,0
Difenoconazol	100,0

¹ – **Será avaliado somente qualitativamente neste EP**

3.4. Faixa de Valores Esperados

As concentrações nominais teóricas finais dos agrotóxicos adicionados ao purê de couve-flor estavam entre 10,0 e 100,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (ng.g^{-1}).

3.5. 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 purê de couve-flor 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 o purê de couve-flor reservados para este estudo, foram avaliados em seis períodos diferentes¹, compreendidos entre o preparo do item de ensaio pelo INCQS e após a data final de entrega dos resultados pelos laboratórios participantes.

Os testes estatísticos foram feitos segundo a norma [ISO 13528](#) e a [ISO GUIA 35](#); os resultados obtidos nos testes estão apresentados nos itens [5.1](#) e [5.2](#) deste relatório.

3.6. Envio dos Itens de Ensaio

Para cada laboratório inscrito na 12ª Rodada do Ensaio de Proficiência para Determinação de Agrotóxicos em Hortifrutigranjeiros – Matriz Couve-Flor foram enviados dois itens de ensaio contendo, cada um, cerca de $40 \pm 10\text{g}$ do purê de couve-flor congelado: um frasco com amostra não fortificada (isenta dos agrotóxicos adicionados) e um outro com amostra fortificada.

Os frascos foram armazenados em freezer (-25 a -10 °C) até o momento em que foram enviados aos laboratórios participantes. O envio aos laboratórios foi realizado por via aérea, em caixa de isopor, devidamente lacrada, contendo gelo seco.

Os itens de ensaio foram distribuídos aos participantes em frascos rotulados com as seguintes informações: nome do programa, item a ser ensaiado, código da amostra e rodada.

4. Análise dos Resultados

4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios

Os laboratórios receberam dois itens de ensaio contendo amostra e foram orientados a proceder como em análise de amostra de rotina. Além dos resultados analíticos, expressos em $\mu\text{g kg}^{-1}$

¹ Início em 28/06/2017 e término em 01/08/2017

(ng.g⁻¹), os laboratórios participantes informaram também a recuperação (%), o limite de detecção e o limite de quantificação, referentes ao método empregado. As informações foram descritas no Formulário de Registro de Resultados; informações sobre as técnicas e os equipamentos utilizados também foram registradas.

4.2. Estabelecimento dos Valores Designados

As técnicas de estatística robusta são utilizadas para minimizar a influência de resultados extremos sobre estimativas de média e desvio-padrão. Assim, a Coordenação deste Ensaio de Proficiência adotou como valores designados para cada agrotóxico, aqueles oriundos do cálculo da estatística robusta apresentado no item 7.7 da norma [ISO 13528](#), 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, **que reportaram valores de recuperação dentro dos limites estabelecidos pelo SANTE** (2016) e não cometeram erros grosseiros na expressão do resultado, 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 avaliação da homogeneidade e da estabilidade das amostras, para a obtenção dos valores designados e suas incertezas, do desvio padrão utilizado na avaliação dos laboratórios (desvio padrão de *Horwitz*), bem 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 couve-flor em relação aos valores de referência das concentrações dos agrotóxicos utilizados neste EP. Assim, foram estimadas as variâncias dos valores utilizados na regressão linear, observando-se se os valores de concentração apresentavam alguma tendência através da ferramenta estatística de análise de variância (ANOVA). Os agrotóxicos foram considerados estáveis quando a inclinação da reta não foi significativa.

4.3.2. Avaliação da Homogeneidade dos Itens de Ensaio

A norma [ISO 13528](#) (item 6.1, anexo B) foi seguida na avaliação da homogeneidade dos itens de ensaio. A norma em questão permite incluir o desvio padrão devido à heterogeneidade das amostras, no desvio padrão de avaliação de proficiência (*Horwitz*) caso estas não se mostrem suficientemente homogêneas. Um resumo do procedimento estabelecido na norma ISO 13528 para avaliação da homogeneidade dos itens de ensaio é apresentado no [Anexo A](#) deste relatório.

4.3.3. Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência

Nesta rodada de EP o desvio padrão para avaliação de proficiência dos laboratórios participantes foi calculado como recomendado no item 8.4 da norma [ISO 13528](#), isto é, como proposto originalmente por *Horwitz*, ([Horwitz](#), 1980), onde a precisão interlaboratorial

é avaliada em termos de um desvio padrão de reprodutibilidade (Equação 1), onde: σ_H é o desvio padrão de *Horwitz* e c é o nível de concentração expresso em fração mássica.

$$\sigma_H = 0,02 \times c^{0,8495} \quad (\text{Eq. 1})$$

Adotando-se as modificações propostas por *Thompson* ([Thompson, 2000](#)) onde são levados em consideração os níveis de concentração do analito expressos em fração mássica, conforme as Eq. 2, 3 e 4, onde σ_H é o desvio padrão de *Horwitz* e c é o nível de concentração expresso em fração mássica.

$$\sigma_H = 0,02 \times c, \text{ se } c < 1,2 \times 10^{-7} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\sigma_H = 0,02 \times c^{0,8495}, \text{ se } 1,2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0,138 \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\sigma_H = 0,02 \times c^{0,5}, \text{ se } c > 0,138 \quad (\text{Eq. 4})$$

4.3.4. Índice z

Para a qualificação dos resultados dos laboratórios, o índice z (z -score, medida da distância relativa do resultado da medição do laboratório em relação ao valor designado do ensaio de proficiência) foi calculado de acordo com a Equação 5, onde x_i representa o valor do laboratório participante, x^* representa o valor designado (média robusta) e σ_H o desvio padrão de *Horwitz*².

$$z = \frac{x_i - x^*}{\sigma_H} \quad (\text{Eq. 5})$$

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

Nesta rodada o valor designado (x^*) e sua incerteza foram calculados através da análise robusta (ISO 13528), documento complementar à ISO/IEC 17043. O procedimento adotado no cálculo do valor designado e de sua incerteza é descrito no [Anexo B](#) deste relatório.

5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

5.1. Avaliação da Homogeneidade

Para o teste de homogeneidade foram separados, aleatoriamente, 10 itens de ensaio contendo cada um aproximadamente 40g de amostra, representativas do purê de couve-flor preparados. Para cada item de ensaio foram realizadas duas análises completas produzindo, para cada agrotóxico, dois resultados (A e B), como mostrado na [Tabela 2](#).

² Para alguns agrotóxicos, ao desvio padrão de *Horwitz* foi somada a incerteza do valor designado. Ver [item 6](#)

Tabela 2: Dados gerados no teste de homogeneidade, em $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Amostra	Agrotóxico							
	Acefato		Carbaril		Ciazofamida		Difenoconazol	
	A	B	A	B	A	B	A	B
1	16,3	16,8	20,7	19,5	24,8	25,8	35,9	33,9
2	15,8	17,2	19,5	20,4	25,1	28,5	34,8	34,1
3	17,3	16,3	20,5	19,6	27,9	26,4	34,0	34,1
4	16,2	16,1	19,7	19,8	26,1	25,6	33,7	33,7
5	17,2	16,1	19,8	19,4	24,3	25,4	34,1	32,1
6	14,4	17,4	19,4	20,5	27,7	29,0	32,7	34,1
7	14,5	16,5	19,2	20,1	30,3	25,5	32,5	34,2
8	16,5	16,7	20,0	19,6	26,0	25,5	33,2	34,6
9	16,8	16,5	19,7	20,2	25,6	25,2	33,1	34,2
10	16,8	16,7	20,0	20,3	25,5	29,3	35,1	32,2

A Tabela 3 apresenta os resultados da análise estatística do estudo de homogeneidade dos diferentes agrotóxicos.

Tabela 3: Sumário das análises estatísticas para o estudo de Homogeneidade, em $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Agrotóxico	Média	$\hat{\sigma}^{(3)}$	$0,3 \hat{\sigma}$	s_x	s_w	s_s	Resultado
Acefato	16,41	3,61	1,083	0,422	0,937	0,000	Homogêneo
Carbaril	19,90	4,38	1,313	0,188	0,536	0,000	Homogêneo
Ciazofamida	26,48	5,82	1,747	1,204	1,671	0,233	Homogêneo
Difenoconazol	33,82	7,44	2,232	0,539	1,116	0,000	Homogêneo

(3) Desvio padrão de Horwitz (modificado por Thompson), correlacionado a concentração média das vinte amostras.

A Malationa teve sua presença confirmada em todos os itens de ensaio analisados pela CG- μ DCE e CLUE-EM/EM.

Os itens de ensaio apresentaram-se suficientemente homogêneos, para a finalidade deste EP, em relação a todos os agrotóxicos presentes.

As variâncias analíticas (s_w^2) dos agrotóxicos acefato, carbaril e difenoconazol apresentaram valores altos, fazendo com que se considerasse o termo do desvio padrão entre as amostras, s_s , como zero³.

5.2. Avaliação da Estabilidade

A estabilidade das amostras armazenadas em freezer (-25 a -10 °C), quanto a flutuações temporais na concentração dos diferentes agrotóxicos, foi avaliada no decorrer do EP (Tabela 4). A avaliação foi realizada utilizando-se a análise de resíduos da regressão linear (Tabela 5).

³ Quando o termo de variância analítica é alto, comparativamente a variância das médias (s_x^2), para a Equação 4 do ANEXO A não existe resultado fora dos números complexos. Assim consideramos o termo do desvio padrão entre as amostras (s_s) como zero, como sugerido no Protocolo Harmonizado.

Tabela 4: Dados obtidos no teste de Estabilidade, em $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Dias	Agrotóxico							
	Acefato		Carbaril		Ciazofamida		Difenoconazol	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0 ¹	16,2	16,6	19,9	19,9	26,3	26,6	33,9	33,7
6	15,8	15,5	20,7	20,8	29,6	29,6	37,4	38,4
13	16,2	15,7	19,6	19,5	28,1	27,1	36,7	36,8
20	15,2	16,6	20,9	19,8	28,6	26,3	35,9	33,1
27	17,8	16,9	22,5	19,7	28,1	25,4	33,6	34,0
34	16,1	17,6	19,0	20,5	25,2	26,4	31,8	35,1

1 Média do estudo de homogeneidade.

Tabela 5: Análise de regressão para os agrotóxicos em purê de Couve-flor, em $\mu\text{g kg}^{-1}\text{dias}^{-1}$.

Agrotóxico	Coeficiente Angular	Erro padrão	Intervalo de confiança		Resultado
			Inferior	Superior	
Acefato	0,03134	0,02033	-0,02512	0,08779	Estável
Carbaril	0,00367	0,02370	-0,06213	0,06948	Estável
Ciazofamida	-0,05210	0,04392	-0,17403	0,06984	Estável
Difenoconazol	-0,07170	0,06186	-0,24345	0,10005	Estável

Os resultados obtidos no tratamento estatístico dos dados mostraram que o valor do intervalo de confiança para o coeficiente angular abrange o valor zero (0), concluindo-se, portanto, que este é um valor possível ao coeficiente angular da curva que descreve a estabilidade e que os itens de ensaio **se mostraram suficientemente estáveis nas condições estabelecidas para a realização do 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 4.3.5; os respectivos desvios padrão para avaliação de proficiência foram obtidos pelas equações modificadas baseadas no modelo de Horwitz, conforme o item 4.3.3. Os resultados dos cálculos dos valores designados e dos desvios padrões de Horwitz, com alguns parâmetros associados, estão apresentados na Tabela 6.

Ressaltamos que para o agrotóxico **malationa** não foi calculado o valor designado e o desvio padrão para avaliação da proficiência pois o mesmo será avaliado qualitativamente.

Tabela 6: Valores designados, incerteza dos valores designados e desvios padrão de Horwitz.

Agrotóxico	Valor Designado ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	u_c (VD) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	k	U (VD) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Desvio Padrão (σ_H) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Desvio Padrão para Avaliação ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	HorRat (s^*/σ_H) ⁽¹⁾
Acefato	15,7	2,8	2,65	7,5	3,5	4,47	1,613
Carbaril	19,7	1,2	2,32	2,8	4,3	4,3	0,704
Ciazofamida	24,0	4,6	2,52	11	5,3	7,0	1,860
Difenoconazol	29,9	3,1	2,32	7,3	6,6	7,3	1,207

(1) Parâmetro associado à qualidade do desvio padrão e a dispersão dos resultados do ensaio de proficiência. Para maiores informações, ver Horwitz e Albert (2006)

As incertezas combinadas (u_c) do valor designado dos agrotóxicos acefato, carbaril e difenoconazol foram somadas quadraticamente ao desvio padrão de *Horwitz* já que não atendiam ao critério de serem menor que $0,3\sigma_H$.

7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

7.1. Laboratórios Participantes

Dezesseis laboratórios se inscreveram na 12ª Rodada do Programa de Ensaio de Proficiência para a Determinação de Agrotóxicos em Hortifrutigranjeiros – Matriz Couve-Flor. [Quinze](#) laboratórios inscritos (participantes) enviaram os resultados no prazo proposto.

Dos laboratórios participantes, dez (66,7 %) são acreditados na norma [ISO/IEC 17025](#) na análise de resíduos de agrotóxicos. Doze laboratórios informaram a utilização de material de referência certificado, porém para dois destes, nem todos eram certificados.

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 [ABNT ISO/IEC 17043](#). A [Tabela 7](#) apresenta os resultados dos laboratórios para as análises dos agrotóxicos, a recuperação, o limite de detecção e o limite de quantificação, as técnicas cromatográficas, bem como os métodos de quantificação, utilizadas pelos laboratórios participantes.

Os gráficos da dispersão dos resultados dos laboratórios participantes em função dos agrotóxicos encontram-se nas Figuras [1 \(acefato\)](#), [2 \(carbaril\)](#), [3 \(ciazofamina\)](#) e [4 \(difenoconazol\)](#). Neste gráfico a linha central representa o valor designado e as linhas pontilhadas o intervalo da incerteza expandida (U) do valor designado.

Tabela 7: Resultados por agrotóxico (Res.; $\mu\text{g kg}^{-1}$), Recuperação (Rec.; %), Limite Detecção (LD; $\mu\text{g kg}^{-1}$), Limite Quantificação (LQ; $\mu\text{g kg}^{-1}$), técnicas cromatográficas (Tec.) e Detector (Det.); **ND** = Não detectado e **NT** = Não testado.

Código	Agrotóxicos											
	Acefato						Carbaril					
	Res.	Tec.	Det.	Rec.	LD	LQ	Res.	Tec.	Det.	Rec.	LD	LQ
AGR 12/003	NT	UPLC	EM/EM	-	-	-	19,10	CLUE	EM/EM	102,4	2,0	6,0
AGR 12/007	38	CL	EM/EM	102	0,003	0,001	19,5	CL	EM/EM	98	0,003	0,001
AGR 12/008	17,1	CLAE	EM/EM	82,3	5	10	13,2	CLAE	EM/EM	96,5	5	10
AGR 12/025	14,85	CL	EM/EM	86,76	2,7	10	19,75	CL	EM/EM	93,94	4,26	10
AGR 12/026	10	CL	EM/EM	63	5	10	20	CL	EM/EM	91	5	10
AGR 12/027	16	CL	EM/EM	87	5	10	19	CL	EM/EM	104	5	10
AGR 12/039	ND	-	-	-	8	20	NT	-	-	-	-	-
AGR 12/046	NT	-	-	-	-	-	23,22	CL	EM/EM	111	3	10
AGR 12/050	NT	-	-	-	-	-	ND	CG	EM	-	24	40
AGR 12/072	NT	-	-	-	-	-	ND	CG	EM/EM	-	-	-
AGR 12/074	NT	-	-	-	-	-	23,5	CL	EM/EM	87,87	5	10
AGR 12/090	NT	-	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	-
AGR 12/091	5,8	CG e CL	EM/EM	72	2	5	22	CG e CL	EM/EM	91	2	5
AGR 12/099	14,85	CLUE	EM/EM	91,6	8	10	16,2	CLUE	EM/EM	94,7	8	10
AGR 12/100	<LOQ	CL	EM/EM	2860	5	-	12	CL	EM/EM	49,6	4	-

Código	Agrotóxicos											
	Ciazofamina						Difenoconazol					
	Res.	Tec.	Det.	Rec.	LD	LQ	Res.	Tec.	Det.	Rec.	LD	LQ
AGR 12/003	32,5	CLUE	EM/EM	1,3	4	1,3	45,0	CLUE	EM/EM	1,5	4,5	1,5
AGR 12/007	37	CL	EM/EM	0,003	0,001	0,003	41	CG	EM	0,003	0,001	0,003
AGR 12/008	NT	-	-	-	-	-	23,1	CLAE	EM/EM	5	10	5
AGR 12/025	19,58	CL	EM/EM	95,44	10	1,9	28,32	CL	EM/EM	103,68	10	4,1
AGR 12/026	22	CL	EM/EM	5	10	5	28	CL	EM/EM	5	10	5
AGR 12/027	20	CL	EM/EM	5	10	5	33	CG	EM/EM	10	20	10
AGR 12/039	NT	-	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	-
AGR 12/046	331	CL	EM/EM	3	10	3	23,32	CL	EM/EM	3	10	3
AGR 12/050	NT	-	-	-	-	-	ND	CG	EM	6	10	6
AGR 12/072	NT	-	-	-	-	-	ND	CG	EM/EM	-	-	-
AGR 12/074	23,5	CL	EM/EM	5	10	5	33,5	CL	EM/EM	5	10	5
AGR 12/090	26	CLUE	EM/EM	2,5	10	2,5	32	CLUE	EM/EM	2,5	10	2,5
AGR 12/091	23	CG e CL	EM/EM	2	5	2	23	CG e CL	EM/EM	2	5	2
AGR 12/099	11,1	CLUE	EM/EM	8	10	8	25,25	CLUE	EM/EM	8	10	8
AGR 12/100	NT	-	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	-

CL = Cromatografia Líquida; CG = Cromatografia Gasosa; EM = Espectrometria de Massas; DFC = Detector por Fotometria de Chama; DNF = Detector específico de Nitrogênio e Fósforo; CLUE = Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência.

Os Laboratórios informaram o seguinte:

AGR 12/003 - Informou que estava com a validação parcial da metodologia;

AGR 12/025 - Informou que os valores de recuperação reportados são referentes aos valores obtidos na validação do método para a matriz de referência utilizada (manga por CLAE-EM/EM);

AGR 12/026 - Informou que as análises foram realizadas utilizando somente o equipamento LC MS/MS. O GC MS/MS encontra-se inoperante devido a problemas em seu funcionamento;

AGR 12/050 - Informou que foram testados apenas os analitos que fazem parte dos ensaios de rotina do laboratório;

AGR 12/100 - Informou que o composto acefato apresentou recuperação elevada, pois no mesmo tempo de retenção havia a presença de um interferente oriundo da matriz "branco" (couve-flor orgânica), a qual foi fortificada para avaliar a recuperação.

Figura 1: Dispersão dos resultados: Acefato em purê de Couve-flor

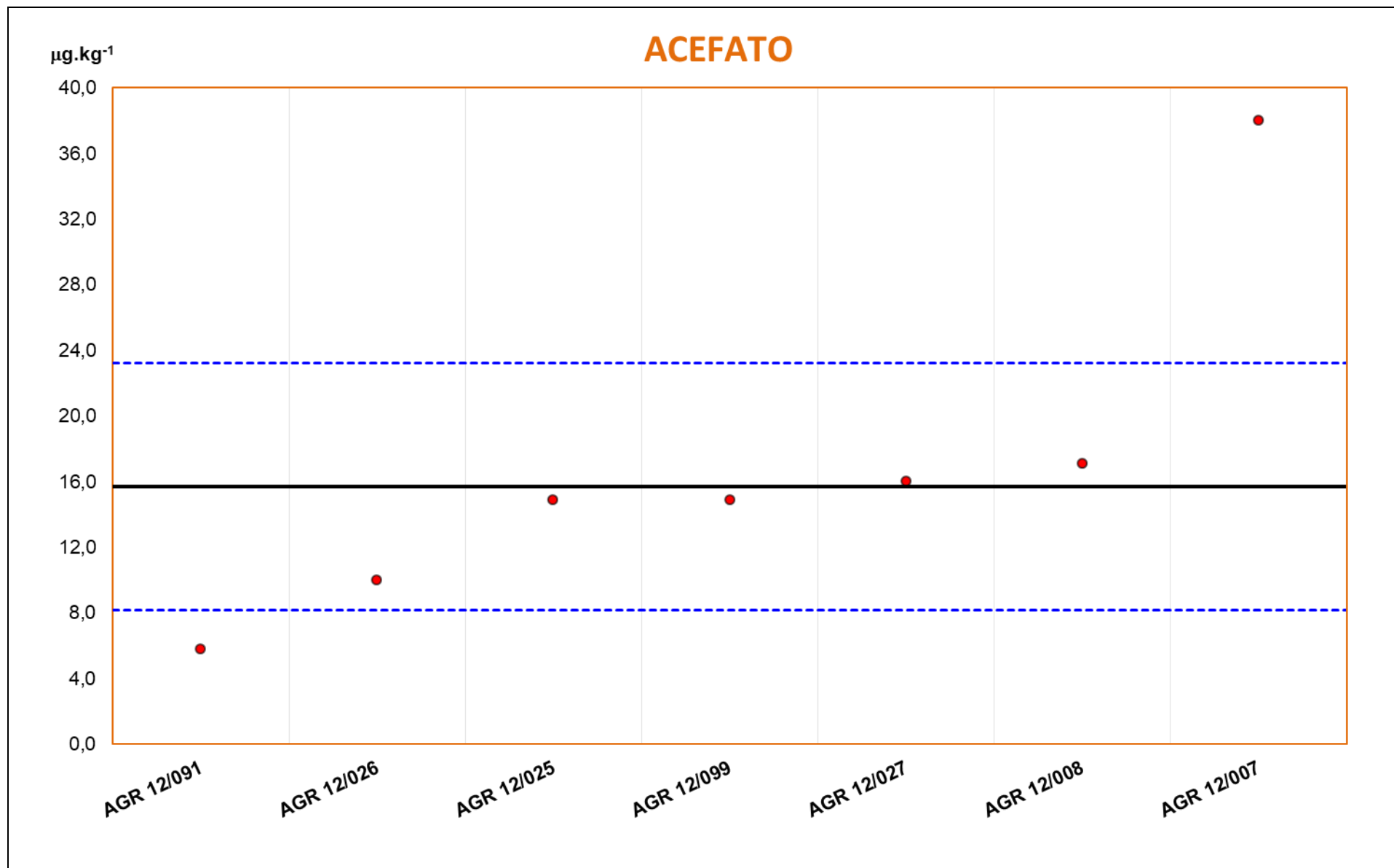


Figura 2: Dispersão dos resultados: Carbaril em purê de Couve-flor

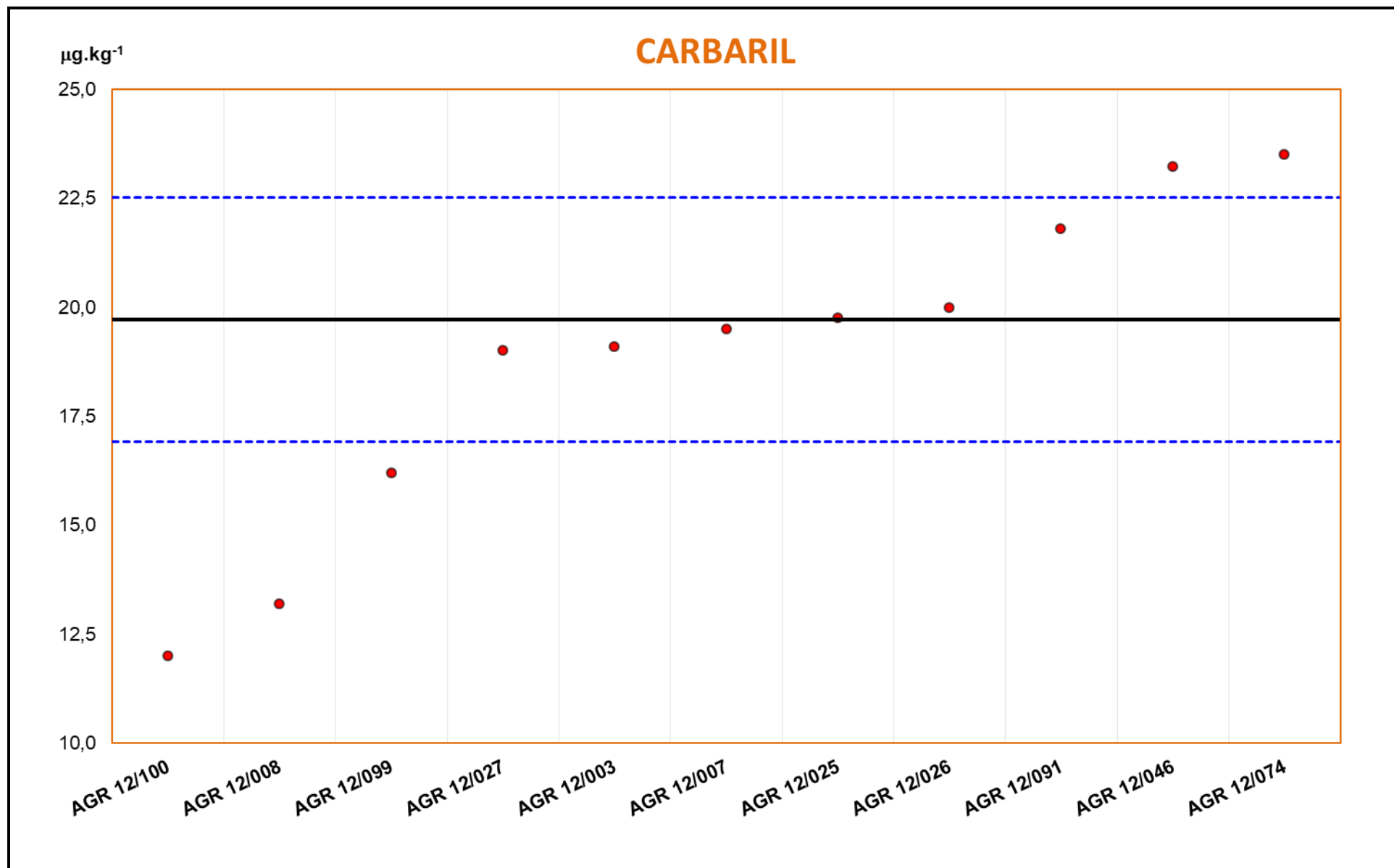


Figura 3: Dispersão dos resultados: Ciazofamida em purê de Couve-flor

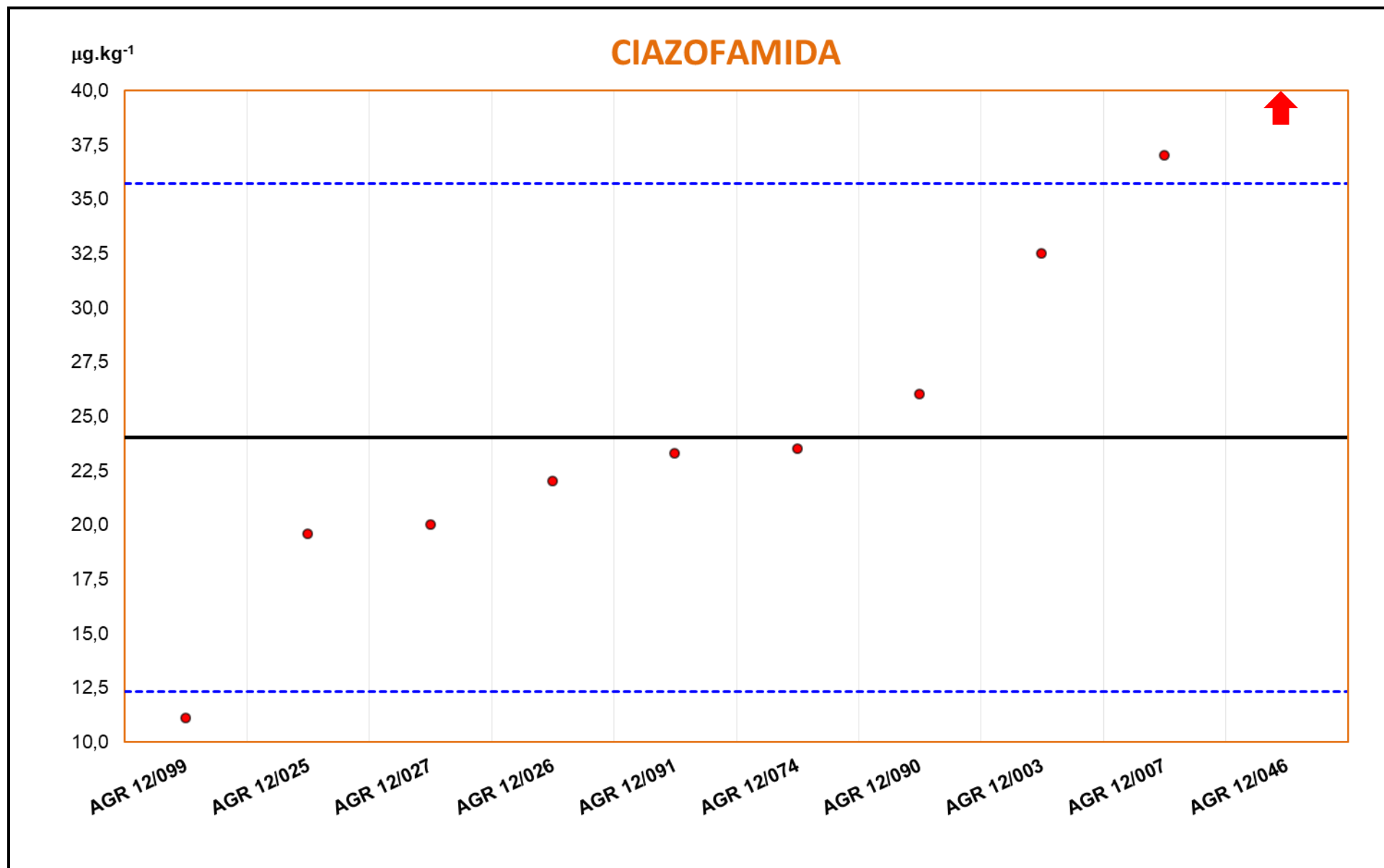
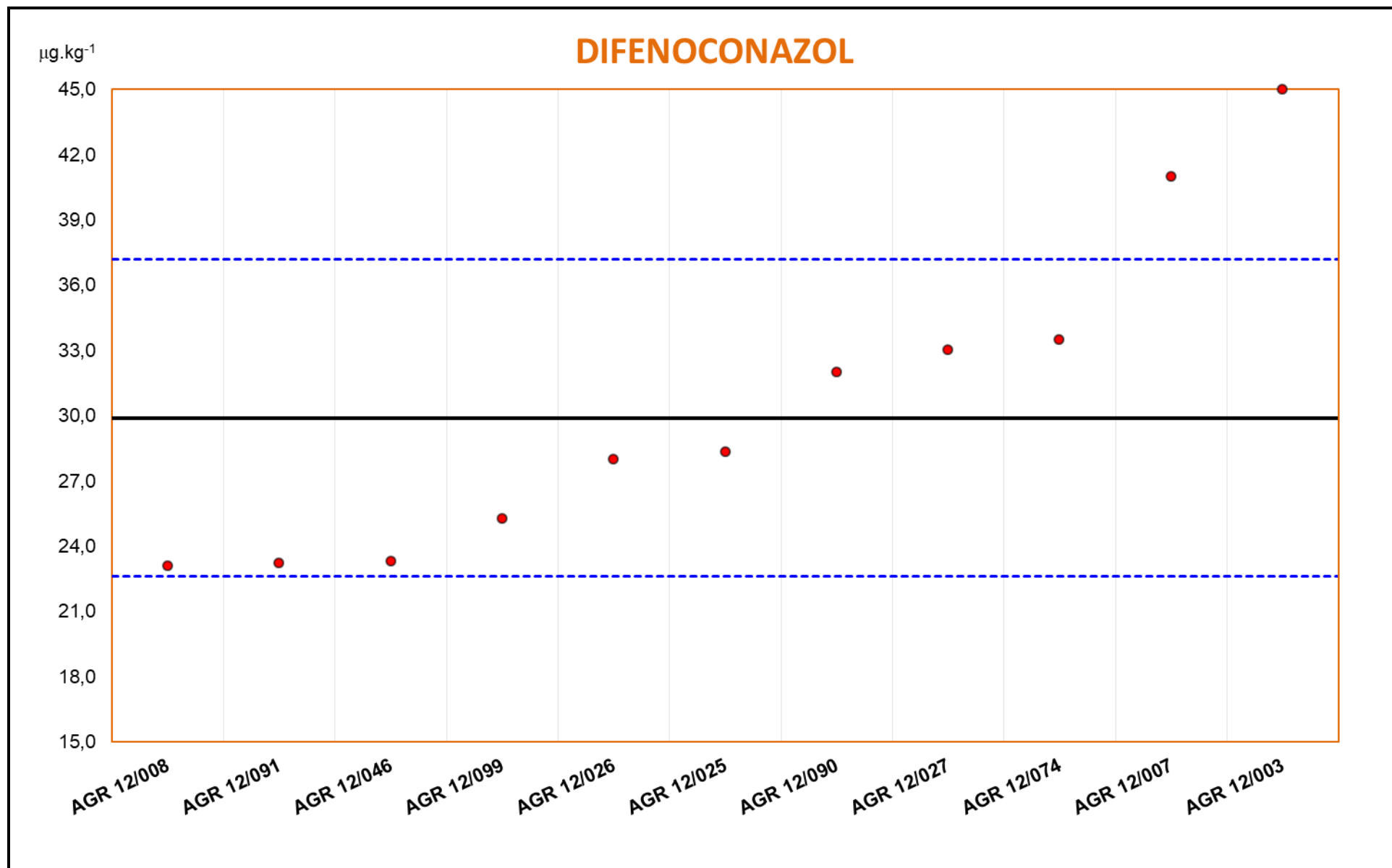


Figura 4: Dispersão dos resultados: Difenoconazol em purê de Couve-flor



7.3. Considerações Sobre os Métodos de Análise

7.3.1. Método de Análise do Laboratório de Resíduos de Agrotóxico do INCQS

Neste EP, o laboratório de resíduos de agrotóxicos do INCQS utilizou a técnica de extração *QuEChERS* modificado.

A quantificação para os agrotóxicos foi por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas Sequencial. Foi utilizada a Padronização Externa com quantificação pontual em matriz.

Todos os outros 45 agrotóxicos listados no protocolo da rodada não foram detectados de acordo com os limites de detecção de nossas metodologias.

7.3.2. Recuperação, Limite de Detecção, Limite de Quantificação e Quantificação

Todos os laboratórios informaram estes três parâmetros para os agrotóxicos presentes no purê de Couve-flor, independentemente de ter o método validado ([Tabela 7](#)). O laboratório AGR 12/072 informou estes parâmetros somente para os agrotóxicos encontrados, excluindo os que foram testados e “não detectados”, prejudicando sua avaliação.

Os laboratórios AGR 12/026 (acefato), AGR 12/074 (ciazofamida e difenoconazol), AGR 12/091 (ciazofamida) e AGR 12/100 (carbaril) apresentaram valores de recuperação fora da faixa aceitável (70 a 120%), tanto pelo [Codex Alimentarius](#) (2003) quanto pelo documento [SANTE](#) (2016). Assim, esses laboratórios não tiveram este resultado utilizado no cálculo do Valor Designado, conforme estabelecido no protocolo da rodada. O resultado para ciazofamida do laboratório **AGR 12/046** também não foi utilizado no cálculo do valor designado, pois, muito provavelmente, ocorreu um erro de transcrição de resultados.

Todos os laboratórios quantificaram os agrotóxicos por padronização externa e realizando a curva em matriz. As curvas analíticas tiveram de 4 à 8 pontos. Um dos laboratórios quantificou por ponto único.

7.3.3. Método de Extração

A [Tabela 8](#) apresenta um sumário dos métodos de extração utilizados pelos laboratórios.

Tabela 8: Métodos de extração utilizados

Método de Extração	Laboratórios
Mini-luke,	AGR 12/027, AGR 12/039 e AGR 12/090
QuEChERS	AGR 12/003, AGR 12/007, AGR 12/008, AGR 12/025, AGR 12/026, AGR 12/046, AGR 12/050, AGR 12/072, AGR 12/074, AGR 12/091, AGR 12/099 e AGR 12/100

7.4. Cálculo do Índice z

A avaliação de desempenho dos laboratórios participantes, expressa através do índice z ([Equação 5](#)), está apresentada na [Tabela 9](#).

Tabela 9: Valores do índice z obtidos pelos laboratórios participantes.

Códigos	Agrotóxico			
	Acefato	Carbaril	Ciazofamida	Difenoconazol
AGR 12/003	NT	-0,1	1,2	2,0
AGR 12/007	4,9	0,0	1,8	1,5
AGR 12/008	0,3	-1,5	NT	-0,9
AGR 12/025	-0,1	0,0	-0,6	-0,2
AGR 12/026	-1,2	0,0	-0,2	-0,2
AGR 12/027	0,0	-0,1	-0,5	0,4
AGR 12/039	ND	NT	NT	NT
AGR 12/046	NT	0,8	43,6	-0,9
AGR 12/050	NT	ND	NT	ND
AGR 12/072	NT	ND	NT	ND
AGR 12/074	NT	0,8	0,0	0,4
AGR 12/090	NT	NT	0,2	0,2
AGR 12/091	-2,2	0,4	-0,1	-0,9
AGR 12/099	-0,1	-0,8	-1,8	-0,6
AGR 12/100	<LOQ	-1,7	NT	NT

NT= Não testado; ND = Não detectado; <LOQ = Menor que o Limite de Quantificação, Azul = Questionável; Vermelho = Insatisfatório.

As Figuras 5 (acefato), 6 (carbaril), 7 (ciazofamida) e 8 (difenoconazol) apresentam os resultados de índice z obtidos pelos laboratórios participantes para os agrotóxicos.

Figura 5: Gráfico de z-score: Acefato.

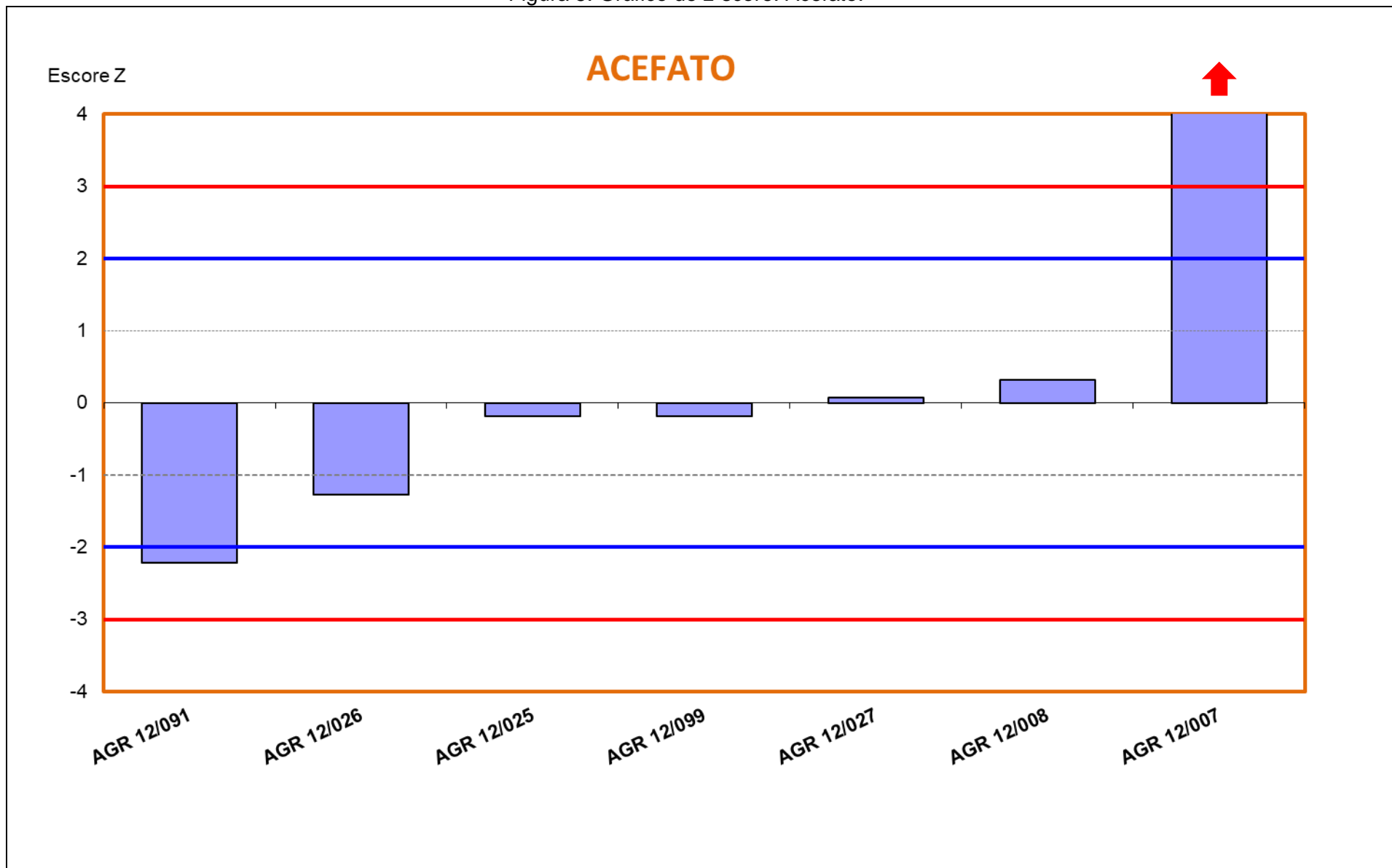


Figura 6: Gráfico de z-score: Carbaril.

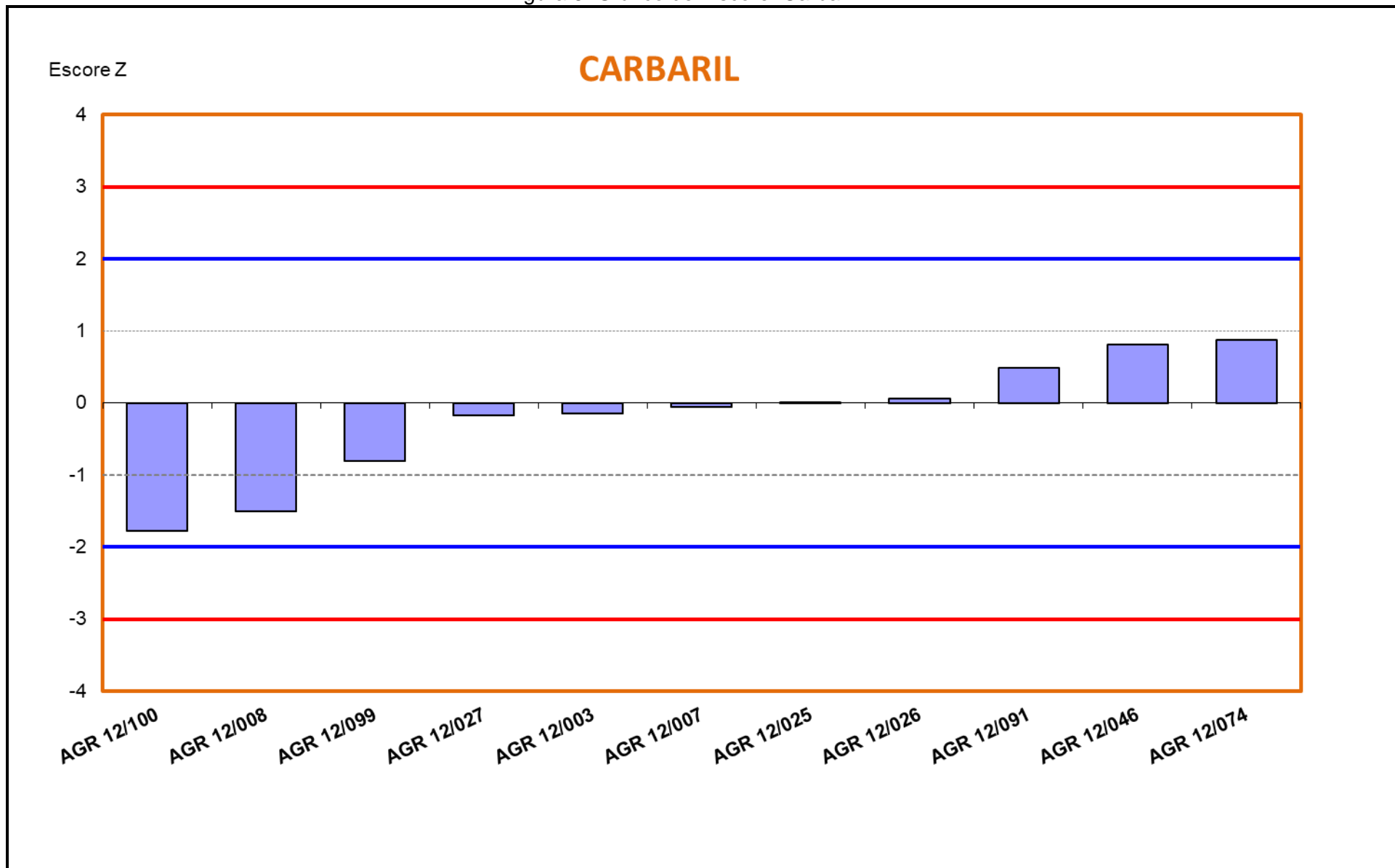


Figura 7: Gráfico de z-score: Ciazofamida.

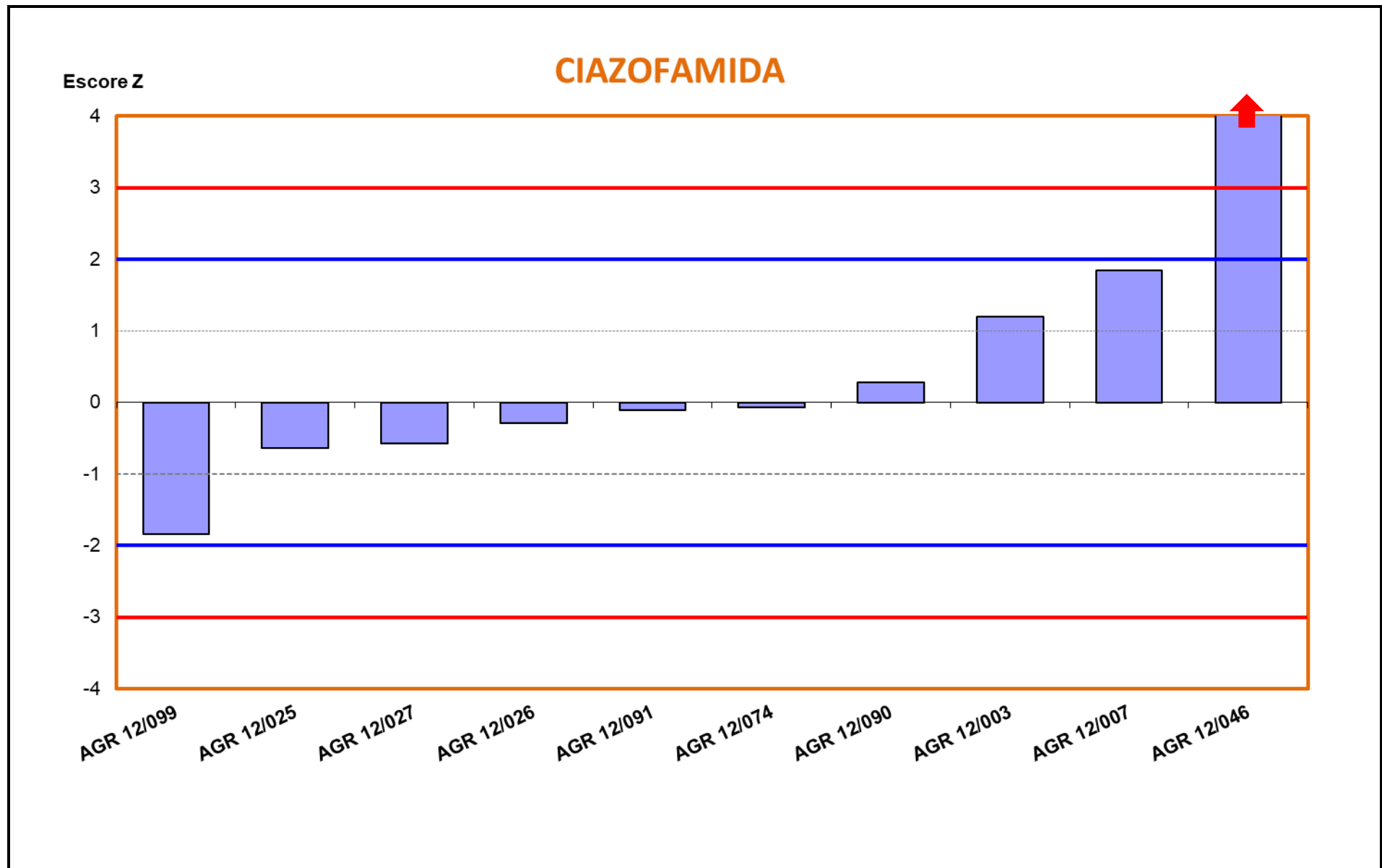
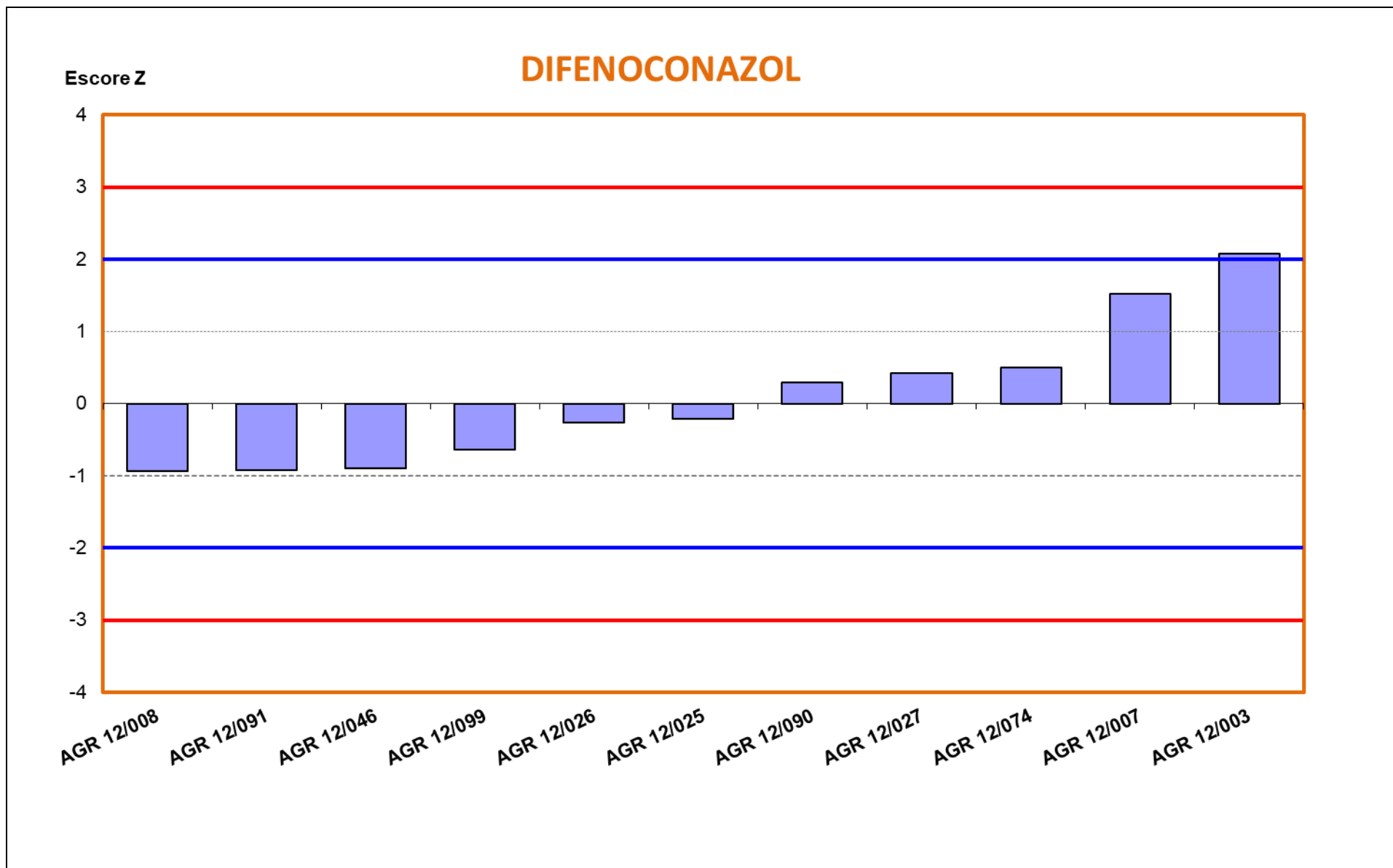
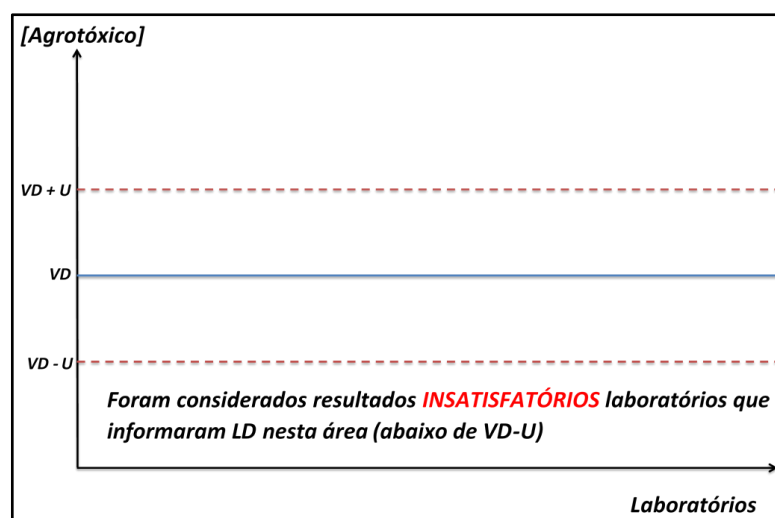


Figura 8: Gráfico de z-score: Difenconazol.



Alguns laboratórios informaram a Não Detecção (ND) ou que alguns agrotóxicos estavam abaixo do Limite de Quantificação (LOQ), mesmo quando presentes no purê de Couve-flor. A [Figura 19](#) apresenta a abordagem que foi utilizada para a avaliação destes resultados:

Figura 19: Abordagem para a avaliação dos laboratórios que informaram resultados não numéricos



Se considerarmos o valor designado (VD) e sua incerteza expandida (U) ([Tabela 6](#)) teremos como limite inferior para os agrotóxicos os seguintes valores ([Tabela 10](#)):

Tabela 10: Limite inferior da incerteza do valor designado das concentrações de agrotóxico.

Acefato	Carbaril	Ciazofamida	Difenoconazol
12,2	16,9	13,0	22,3

Em μgkg^{-1}

Assim, adotaram-se os seguintes critérios:

- Laboratórios que informaram LD abaixo dos valores da Tabela 10 e informaram para o agrotóxico em questão “Não detectado”, foram considerados resultados **INSATISFATÓRIOS**;
- Laboratórios que testaram o agrotóxico e informaram “Não detectado” e além disto **não informaram** os limites de detecção e quantificação, foram considerados resultados **QUESTIONÁVEIS**.

Desta forma, foram considerados **INSATISFATÓRIOS** os seguintes resultados: **AGR 12/039** (acefato), **AGR 12/050** (difenoconazol) e **AGR 12/100** (acefato).

Os resultados do carbaril e do difenoconazol reportado pelo laboratório **AGR 12/072** foram considerados **QUESTIONÁVEIS**.

Assim, de acordo com os resultados obtidos, sete dos quinze laboratórios participantes que enviaram resultados para os agrotóxicos avaliados neste EP obtiveram avaliações questionáveis ou insatisfatórias para, pelo menos, um agrotóxico analisado.

De um total de quarenta e cinco resultados reportados, aproximadamente 82,2% foram considerados satisfatórios (trinta sete resultados), 6,7% foram considerados questionáveis (três resultados), e 11,1% insatisfatórios (cinco resultados), percentuais consistentes com o obtido na rodada do ano de 2016⁴.

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

7.5. Resultados Qualitativos

A Tabela 11 apresenta os resultados dos laboratórios para a Malationa.

Tabela 11: Resultados da Malationa ($\mu\text{g kg}^{-1}$), Limite de Detecção (LD; $\mu\text{g kg}^{-1}$) e Limite de Quantificação (LQ; $\mu\text{g kg}^{-1}$) **ND** = Não detectado e **NT** = Não testado.

Código	Malationa					
	Resultado	Técnica Cromatográfica	Detector	Recuperação	LD	LQ
AGR 12/003	120,5	CLUE	EM/EM	101,0	1,4	4,3
AGR 12/007	83	CG	EM	94	0,003	0,001
AGR 12/008	NT	-	-	-	-	-
AGR 12/025	84,21	CL	EM/EM	102,55	4,28	10
AGR 12/026	78	CL	EM/EM	84	5	10
AGR 12/027	84	CL	EM/EM	80	5	10
AGR 12/039	66,8	CG	DNF	102,4	5	10
AGR 12/046	155	CL	EM/EM	97,1	3	10
AGR 12/050	ND	CG	EM	-	12	20
AGR 12/072	77	CG	EM/EM	101,53	5	40
AGR 12/074	89,5	CL	EM/EM	107,26	5	10
AGR 12/090	NT	-	-	-	-	-
AGR 12/091	37	CG e CL	EM/EM	71	2	5
AGR 12/099	90,85	CLUE	EM/EM	90,4	8	10
AGR 12/100	58	CG	DFC	61	5	

CL = Cromatografia Líquida; CG = Cromatografia Gasosa; EM = Espectrometria de Massas; DFC = Detector por Fotometria de Chama; DNF = Detector específico de Nitrogênio e Fósforo; CLUE = Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência.

7.6. Capacidade Analítica, Viabilidade Analítica e Frequência de Agrotóxicos Analisados

Neste EP foram avaliadas a Capacidade Analítica⁵ dos laboratórios participantes, a Viabilidade Analítica⁶ para a determinação dos agrotóxicos fortificados e a Frequência de Agrotóxicos testados.

A capacidade analítica de cada laboratório participante desta rodada do Ensaio de Proficiência foi determinada através da análise do percentual de agrotóxicos identificados⁷ por cada

⁴ Ver relatório da rodada, AGR 11/16, em www.incqs.fiocruz.br/ep

⁵ 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 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 insatisfatório ou questionável.

⁶ 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 satisfatório.

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

⁷ Dentre os agrotóxicos fortificados no item de ensaio.

laboratório, multiplicado pelo percentual de resultados satisfatórios. Os dados obtidos são apresentados na [Tabela 12](#).

Tabela 12: Capacidade analítica (CA) dos laboratórios participantes desta rodada do EP

Código do laboratório	% de agrotóxicos analisados (a)	% de resultados satisfatórios (b)	CA = 10^{-4} a x b
AGR 12/003	75,0	100,0	0,75
AGR 12/007	100,0	75,0	0,75
AGR 12/008	75,0	100,0	0,75
AGR 12/025	100,0	100,0	1,00
AGR 12/026	100,0	100,0	1,00
AGR 12/027	100,0	100,0	1,00
AGR 12/039	25,0	0,0	0,00
AGR 12/046	75,0	66,6	0,50
AGR 12/050	50,0	50,0	0,25
AGR 12/072	50,0	0,00	0,00
AGR 12/074	75,0	100,0	0,75
AGR 12/090	50,0	100,0	0,50
AGR 12/091	100,0	75,0	0,75
AGR 12/099	100,0	100,0	1,00
AGR 12/100	50,0	50,0	0,25

Com base nos dados apresentados na [Tabela 12](#), observa-se que dos quinze laboratórios participantes, quatro (26,7 %) atingiram índices CA de 1,00, outros cinco (33,3 %) atingiram índices CA de 0,75, dois (13,3 %) atingiram índice CA de 0,50, outros dois (13,3 %) atingiram índice CA de 0,25 e mais outros dois laboratórios (13,3 %) índices CA 0,0.

Com base nos dados apresentados na [Tabela 12](#), 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 13](#).

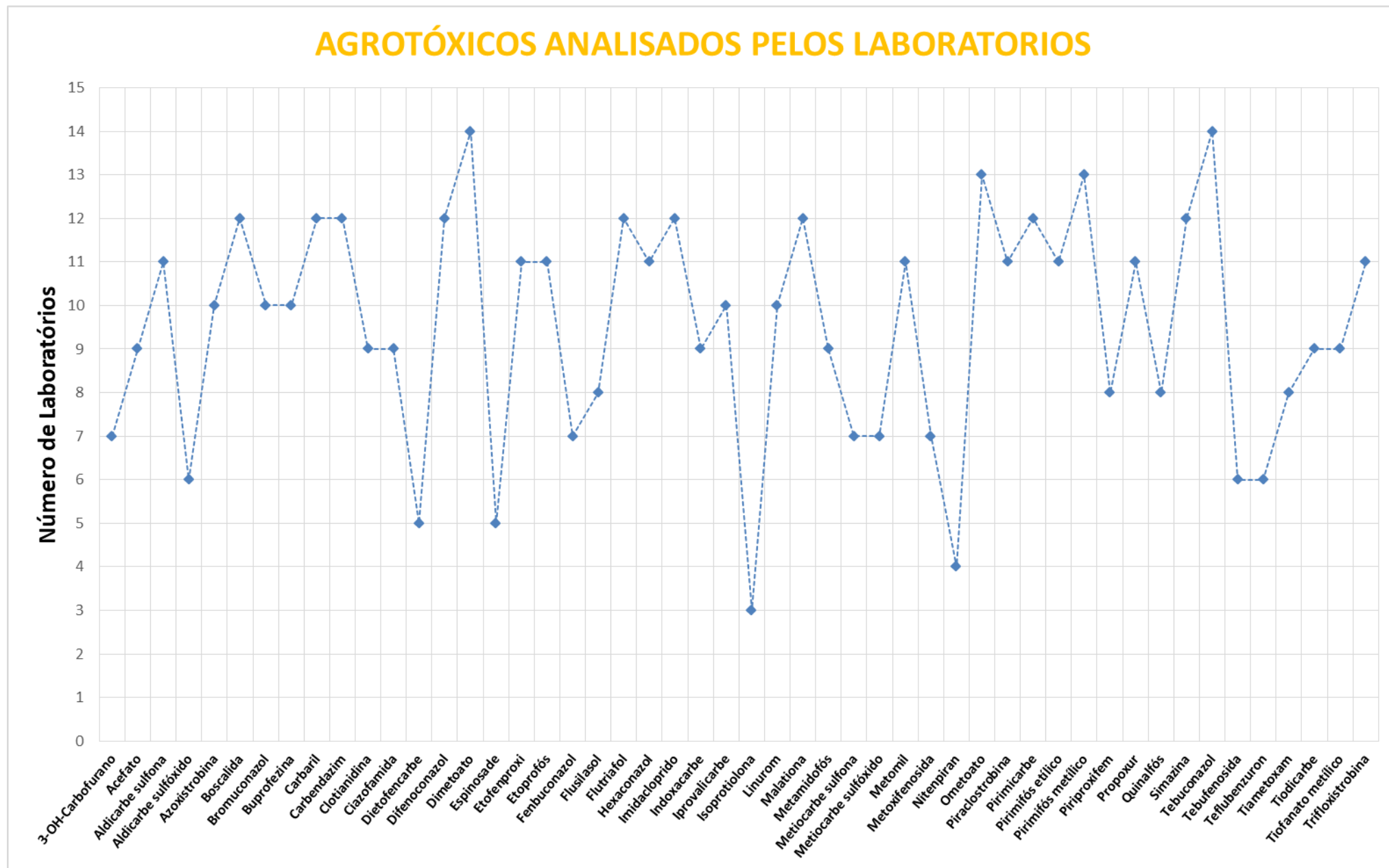
Tabela 13: Viabilidade Analítica (VA) na determinação dos agrotóxicos fortificados na amostra.

Agrotóxico	% de laboratórios que analisaram o agrotóxico (a)	% de resultados satisfatórios (b)	VA = 10^{-4} a x b
Acefato	60,0	55,5	0,33
Carbaril	86,7	92,3	0,80
Ciazofamida	66,7	90,0	0,60
Difenoconazol	86,7	84,6	0,73

Os valores calculados de viabilidade analítica sugerem maiores esforços no aperfeiçoamento das metodologias analítica voltadas para a determinação de resíduos de acefato e, em menor grau, ciazofamida em purê de Couve-flor.

A [Figura 20](#) apresenta a frequência de agrotóxicos analisados em função do número total de laboratórios que enviaram resultados.

Figura 20: Frequência de análise de agrotóxicos pelos laboratórios participantes.



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

O Laboratório **AGR 12/090** informou a detecção e quantificação ($58,0 \mu\text{g.kg}^{-1}$) do agrotóxico isoprotiolona. O equipamento utilizado foi um cromatógrafo gasoso acoplado aos detectores de massa em *tandem*, com limite de quantificação de $10,0 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

8. Conclusões e Comentários

A análise dos dados obtidos neste EP sugere:

- Mais de 80% dos resultados reportados pelos laboratórios participantes (37 resultados) atingiu o valor de índice $z \leq |2|$, seis laboratórios (40,0 %) reportaram resultados insatisfatórios ou questionáveis para pelo menos um agrotóxico, dentre os quatro avaliados;
- O resultado da viabilidade analítica para a acefato foi insatisfatória ($\leq 0,50$). Ciazofamida também merece esforços ($\leq 0,60$). Os outros dois agrotóxicos foram satisfatórios;
- A capacidade analítica individual dos participantes deste EP pode ser considerada satisfatória, uma vez que mais da metade (60,0 %) dos participantes obtiveram $CA \geq 0,67$; e
- Para os laboratórios que obtiveram resultados insatisfatórios ou questionáveis, ações corretivas devem 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.

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

9. Confidencialidade

Os resultados deste EP são confidenciais, isto é, cada laboratório é identificado por código individual conhecido apenas pelos participantes da rodada e pela Coordenação. Os resultados obtidos poderão ser utilizados em publicações do provedor mantendo evidentemente a confidencialidade.

10. Modificações em Relação a Versão Anterior

Esta é a primeira versão do relatório, não existindo versões anteriores.

11. Referências Bibliográficas

ABNT ISO/IEC 17025. Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração, **2005**.

ABNT ISO/IEC 17043. Avaliação de Conformidade — Requisitos Gerais Para Ensaio de Proficiência, **2011**.

ABNT ISO GUIA 35 – Materiais de Referência – Princípios Gerais e Estatísticos para Certificação. **2012**.

[CODEX ALIMENTARIUS](#). *Guidelines on Good Laboratory Practice in Residue Analysis*: CAC/GL 40-1993, Rev. 1-2003. Rome: FAO/WHO Joint Publications, **2003**.

DG-SANTE, European Commission, Guidance Document on Analytical Quality Control and Validation Procedures For Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. Document N° SANTE/11945/**2015**, 01 Jan 2016, 1-42.

Horwitz, W; Albert, R; “The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision”; *J. Assoc. off AOAC International*.; 89(4); 1095-1109; **2006**.

Horwitz, W; Kamps, L.R; Boyer, K.W; “Quality Assurance in the Analysis of Foods for Trace Constituents”; *J. Assoc. off Anal. Chem.*; 63(6); 1344-1354; **1980**.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos Fundamentais e Gerais e Termos Associados ([VIM 2012](#)). Edição Luso-Brasileira. Rio de Janeiro, **2012**.

International Organization for Standardization – ISO 13528 - Statistical Methods for use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons. **2015**.

The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 78, N° 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. ([DOI: 10.1039/b000282h](#)) *Analyst*, 125, 385-386, **2000**.

12. Laboratórios Participantes

A lista dos laboratórios que enviaram os resultados à coordenação do Programa está apresentada na [Tabela 13](#).

Tabela 13: Laboratórios participantes da 12ª Rodada do Ensaio de Proficiência para Determinação de Agrotóxicos em Hortifrutigranjeiros – Matriz Couve-flor.

Instituição
Agrosafety Monitoramento Agrícola
Bioagri Análises de Alimentos LTDA
Centro de Pesquisa e Análise de Resíduos e Contaminantes – CEPARC
Centro de Qualidade Analítica Ltda.
Fundação Ezequiel Dias – FUNED Laboratório de Resíduos de Pesticidas
Intecso Soluções e Inovações em Agronegócio
Laboratório Central de Saúde Pública - LACEN – GO – SES Seção de Toxicologia
Laboratório de Análise de Resíduos de Agrotóxicos – LARA
Laboratório de Toxicologia – Universidade de Brasília
Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais – LANAGRO-MG
Laboratório Nacional Agropecuário em Goiás – LANAGRO-GO Resíduos e Contaminantes em Alimentos
LABTOX
NFS Bioensaios – Prestação de Serviços de Análises e Certificação Ltda.
Núcleo de Contaminantes Orgânicos (Laboratório de Resíduos de Agrotóxicos)
Serviço de Resíduos e Contaminantes – Lacen-PR

- Total de participantes: 15 laboratórios
- O código de cada participante **não** está associado à ordem da lista de participantes.

Anexo A – Homogeneidade Segundo a Norma ISO 13528

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

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

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

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

A partir dos valores definidos acima, calcula-se o desvio padrão dentro das amostras s_w e o desvio padrão entre as amostras s_s , conforme as Eq. 3 e 4, a seguir:

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

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

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

$$S_s \leq 0,3\sigma_H \quad (\text{Eq. 5})$$

onde, σ_H é o desvio padrão alvo, obtido através da equação de *Horwitz* (4.3.3), da concentração média para cada agrotóxico no 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 Eq. 6:

$$\sigma_M = \sqrt{\sigma_H^2 + S_s^2} \quad (\text{Eq. 6})$$

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.

Anexo B – Valor Designado Segundo a Norma ISO 13528

A Norma ISO 13528 é um documento complementar à ISO GUIA 43 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* (4.3.3).

Inicialmente, todos os valores objetos da análise (valores enviados pelos laboratórios participantes) foram colocados em ordem crescente. A seguir, foram calculados os valores da mediana de x_i (x^*) e do desvio padrão (s^*), conforme as Eq. 1 e 2.

$$x^* = \text{medianade } x_i \quad (\text{Eq. 1})$$

$$s^* = 1,483 \times \text{med} |x_i - x^*| \quad (\text{Eq. 2})$$

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

Em seguida, foi calculado o valor de F_i segundo a Eq. 3, 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 Eq. 4 e 5.

$$F_i = 1,5s^* \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\text{Novo Valor Superior} = x^* + F_i \quad (\text{Eq. 4})$$

$$\text{Novo Valor Inferior} = x^* - F_i \quad (\text{Eq. 5})$$

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^*)⁸ e do desvio padrão (s) dos novos valores encontrados, e a seguir calculou-se o novo desvio padrão robusto (s^*)⁹. O novo valor de s^* foi calculado pela Eq. 6:

$$S^* = 1,134s \quad (\text{Eq. 6})$$

⁸ 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.

⁹ 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.

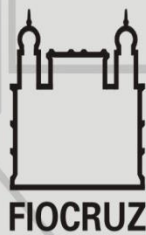
Em seguida, calculou-se novamente o valor de F_i , os novos valores superiores e inferiores, conforme descrito, respectivamente, nas Eq. 3, 4 e 5, sendo os valores discrepantes substituídos pelos novos limites. Este procedimento corresponde a outro ciclo ou **Ciclo 1**.

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.

Para a incerteza do valor designado descrito, será adotada a fórmula apresentada no item 7.7.3 da norma ISO 13528, específica para valores designados obtidos a partir do algoritmo A. A incerteza padrão será calculada pela Eq. 7:

$$u_{x^*} = 1,25 \times s^* / \sqrt{p} \quad (\text{Eq. 7})$$

Onde, s^* é o desvio padrão robusto e p é o número de laboratórios



FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz
INCQS - Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde

Av. Brasil 4365 • Manguinhos • CEP 21040 900
Rio de Janeiro • RJ • Brasil
www.incqs.fiocruz.br