

Relatório Final do Ensaio de  
Proficiência para Determinação  
de Micotoxinas em Alimentos  
2ª Rodada – Matriz Leite em Pó

# ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA DETERMINAÇÃO DE MICOTOXINAS EM ALIMENTOS 2ª RODADA – MATRIZ LEITE EM PÓ

## RELATÓRIO FINAL – Nº 003/10

### 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)

### COMITÊ TÉCNICO

André Victor Sartori (INCQS/Fiocruz)  
Eliane Cristina Pires do Rego (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Fernando Gustavo Marques Violante (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Joyce Costa Andrade (Inmetro/Dimci/Dicep)  
Maria Heloisa Paulino de Moraes (INCQS/Fiocruz)  
Pauline Silva de Oliveira (INCQS/Fiocruz)  
Raquel Duarte da Costa Cunha Bandeira (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Rosana Pereira dos Santos (INCQS/Fiocruz)  
Thais Matsue Uekane (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Valnei Smarçaro da Cunha (Inmetro/Dimci/Dquim)

## ÍNDICE

1. Introdução.....	3
2. Objetivos.....	4
3. Preparo e Envio dos Itens de Ensaio .....	4
3.1. Preparo do Leite em Pó .....	4
3.2. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio.....	4
3.3. Envio dos Itens de Ensaio.....	5
3.4. Instruções de Uso do Material para o Ensaio de Proficiência.....	5
4. Análise dos Resultados.....	5
4.1. Resultados das medições dos laboratórios .....	5
4.2. Estabelecimento dos valores designados.....	5
4.3. Análise Estatística.....	5
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 .....	7
4.3.4. Índice z.....	8
4.3.5. Análise Robusta .....	8
5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade.....	10
5.1. Avaliação da Homogeneidade.....	10
5.2. Avaliação da Estabilidade .....	10
6. Atribuição dos Valores Designados.....	12
7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes.....	12
7.1. Laboratórios Participantes.....	12
7.2. Resultados dos Laboratórios Participantes .....	12
7.3. Cálculo do Índice z.....	15
8. Conclusões .....	18
9. Referências Bibliográficas.....	19
10. Laboratórios participantes.....	20

## **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 micotoxinas em produtos agrícolas é extremamente importante, pois pode ser um indicativo de que às boas práticas agrícolas não estejam sendo seguidas, permitindo a redução desses contaminantes químicos antes que estes afetem a saúde humana e animal causando graves perdas econômicas tanto na agricultura quanto na pecuária e mesmo até ao meio ambiente.

Uma variedade de micotoxinas pode ser encontrada na maioria dos alimentos, em concentrações muito baixas (da ordem de  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), portanto, a identificação e a quantificação destas substâncias nas diversas matrizes 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 segunda 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 micotoxinas em alimentos.

## **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 micotoxinas em alimentos, utilizando suas metodologias de rotina. Este EP também contribui para:

- monitorar o desempenho contínuo dos laboratórios de análise de resíduos de micotoxinas 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 Micotoxinas do INCQS/FIOCRUZ.

### **3.1. Preparo do Leite em Pó**

A amostra foi preparada pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade e Saúde (INCQS) a partir de um leite em pó adquirido no comércio da cidade do Rio de Janeiro em 2008, e através da determinação analítica foi verificada a presença de Aflatoxina M1, sendo então esta matriz considerada adequada a este ensaio de proficiência.

Toda a amostra de leite em pó, composta de 10 latas do mesmo lote, foi passada em peneira de 28 mesh, em seguida homogeneizada, e posteriormente dividida em alíquotas de  $25 \pm 5$  g, que foram transferidas para frascos de vidro âmbar com tampa de rosca, previamente rotulados, formando cada frasco com amostra um item de ensaio. Estes foram armazenados em freezer ( $-15$  °C), até o momento de serem enviados aos laboratórios participantes.

### **3.2. 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 leite em pó 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 leite em pó, reservados para este estudo, foram avaliados em cinco períodos diferentes, compreendidos entre o preparo do item de ensaio pelos laboratórios e o período final de entrega dos resultados.

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

### **3.3. Envio dos Itens de Ensaio**

Para cada laboratório inscrito na 2ª Rodada do Ensaio de Proficiência para Determinação de Micotoxinas em Alimentos foi enviado um item de ensaio contendo cerca de 25 g de leite em pó. Estes foram enviados por via aérea em uma caixa de isopor com gelo seco e devidamente lacrada.

### **3.4. 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 um item de ensaio contendo amostra de leite em pó e foram orientados a proceder conforme a rotina do laboratório. Além dos resultados analíticos, expressos em  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , os laboratórios participantes informaram também a recuperação (%), o limite de detecção e o limite de quantificação, inerentes ao método empregado.

Os laboratórios foram orientados também a prestarem algumas informações relevantes, através do Formulário de Envio 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 Coordenação deste Ensaio de Proficiência adotou como valor designado para Aflatoxina M1, aqueles oriundos do cálculo da estatística robusta apresentado no item 5.6 da Norma ISO 13528, 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 que reportaram valores acima dos limites de quantificação, que trabalharam com o mínimo de 10g, 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 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 leite em pó em relação aos valores de referência das concentrações dos micotoxinas 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, a amostra é considerada 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 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 a micotoxina estudada.

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. 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, (Horwitz 1980) (Equação 7), que expressa a precisão interlaboratorial em termos de um desvio padrão de reprodutibilidade.

$$\sigma_H = 0,02c^{0,8495} \quad (7)$$

Onde :  $c$  é o nível de concentração expresso em fração mássica e  $\sigma_H$  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 (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 8, 9 e 10:

$$\sigma = 0,22c \quad , \quad \text{se } c < 1,2 \times 10^{-7} \quad (8)$$

$$\sigma = 0,02c^{0,8495} \quad , \quad \text{se } 1,2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0,138 \quad (9)$$

$$\sigma = 0,01c^{0,5} \quad , \quad \text{se } c > 0,138 \quad (10)$$



Onde:  $c$  é o nível de concentração expresso em fração mássica e  $\sigma$  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 11.

$$z = \frac{y_i - y_{ref}}{\sigma} \quad (11)$$

Onde:  $y_i$  representa o valor do laboratório participante,  $y_{ref}$  representa o valor designado e  $\sigma$ , 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 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 (item 4.3.3).

Inicialmente, todos os valores objetos da análise (valores dos laboratórios participantes e do 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 12 e 13.

$$x^* = \text{mediana de } x_i \quad (12)$$

$$s^* = 1,483 \times \text{med} |x_i - x^*| \quad (13)$$

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 14, 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 15 e 16.

$$F_i = 1,5s^* \quad (14)$$

$$\text{Novo Valor Superior} = x^* + F_i \quad (15)$$

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

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 ( $x^*$ )<sup>1</sup> e do desvio padrão ( $s$ ) dos novos valores encontrados, e a seguir calculou-se o novo desvio padrão robusto ( $s^*$ )<sup>2</sup>. O novo valor de  $s^*$  foi calculado pela Equação 17:

$$S^*=1,134 s \quad (17)$$

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.

---

<sup>1</sup> 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.

<sup>2</sup> 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.

## 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 25g de amostra, representativas de leite em pó preparada. Para cada item de ensaio foram realizadas duas análises completas produzindo, para o analito, dois resultados (A e B), conforme dispostos na Tabela 3.

Tabela 3: Dados gerados no teste de homogeneidade

Identificação da Amostra	Aflatoxina M1 (µg/kg)	
	A	B
1	0,384	0,403
2	0,374	0,349
3	0,324	0,381
4	0,400	0,397
5	0,356	0,419
6	0,397	0,380
7	0,369	0,334
8	0,314	0,336
9	0,341	0,337
10	0,355	0,395

Conforme os resultados obtidos para a Aflatoxina M1, o valor de desvio padrão entre as amostras ( $s_s$ ), para esta micotoxina foi de 0,018 µg/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 0,024 µg/kg. De acordo com este resultado, os itens de ensaio foram considerados homogêneos com relação aos valores de concentração da **Aflatoxina M1**.

### 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 da micotoxina 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 (meses)	Aflatoxina M1	
	µg/kg	Média
0	0,400	0,399
	0,397	
3	0,382	0,372
	0,363	
6	0,377	0,387
	0,398	
18	0,400	0,390
	0,379	
24	0,351	0,361
	0,370	

A Tabela 5 apresenta 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 Aflatoxina M1

ANOVA – AFLATOXINA M1				
	<i>Gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>
<b>Regressão</b>	1	0,0003012	0,000301	1,497455478
<b>Resíduo</b>	3	0,00060342	0,000201	
<b>Total</b>	4	0,00090462		
	1	0,0003012		
	<b>Coeficientes</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Stat t</b>	<b>valor-P</b>
<b>Interseção</b>	0,390265886	0,00945992	41,25467	3,13425E-05
<b>Variável X 1</b>	-0,000842042	0,00068811	-1,22371	0,308407734

Os resultados obtidos do tratamento estatístico dos dados gerados mostraram que, o valor de P calculado para a Variável X1 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 dos Valores Designados

O valor designado relativo à Aflatoxina M1 empregada neste ensaio de proficiência foi calculado segundo procedimento estatístico descrito no item 4.3.5, e o desvio padrão para avaliação de proficiência foi obtido pela equação modificada baseadas no modelo de Horwitz, conforme o item 4.3.4. O valor designado com seu respectivo desvio padrão está apresentado na Tabela 6.

Tabela 6: Valor designado e desvio padrão

Micotoxina	Valor designado ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Desvio Padrão ( $\sigma$ ) ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
Aflatoxina M1	0,473	0,104

## 7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

### 7.1. Laboratórios Participantes

Treze laboratórios se inscreveram na 2ª Rodada do Programa de Ensaio de Proficiência para a Determinação de Aflatoxina M1 em Leite em Pó e dez (77 %) enviaram os resultados. Destes dez laboratórios, três (30%) eram acreditados para este escopo.

### 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 Guia 43-1. A Tabela 7 apresenta os resultados dos laboratórios para a análise da amostra fortificada, bem como a recuperação e os limites de detecção e quantificação.

Tabela 7: Resultados por análise recuperação, limites de detecção e de quantificação.

Código dos Laboratórios	Aflatoxina M1			
	Resultado ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recuperação (%)	LD ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LQ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
11.2/08	<b>0,89</b>	91,6	0,01	0,05
11.2/12 <sup>(1)</sup>	<b>2,107</b>	-	3	4
11.2/39	<b>0,45</b>	100	0,003	0,01
11.2/41	<b>0,55</b>	98,5	0,002	0,006
11.2/50	<b>0,58</b>	88	0,003	0,01
11.2/71	< 1	98	0,5	1
11.2/75	<b>0,46</b>	96	0,005	0,02
11.2/87	<b>0,389</b>	89,4	0,016	0,053
11.2/93	<b>0,5165</b>	100	0,01	0,02
11.2/96	<b>0,45</b>	96,38	0,01	0,05
INCQS	<b>0,44</b>	96	0,1	0,3

(1) LQ e LD em ppb.

Nesta rodada de EP os laboratórios foram orientados a reportarem também alguns parâmetros relativos à validação do método empregado.

Analisando a Tabela 7, podemos verificar que somente o laboratório PEP 11.2/12 não reportou o valor de recuperação, ressaltando que este tem sua metodologia validada. 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, todos os laboratórios encontraram um valor de recuperação dentro da faixa aceitável tanto pelo Codex (Codex Alimentarius, 2003).

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 ( $y_{ref} \pm 3\sigma$ ).

Resultados dos Laboratórios

AFLATOXINA M1

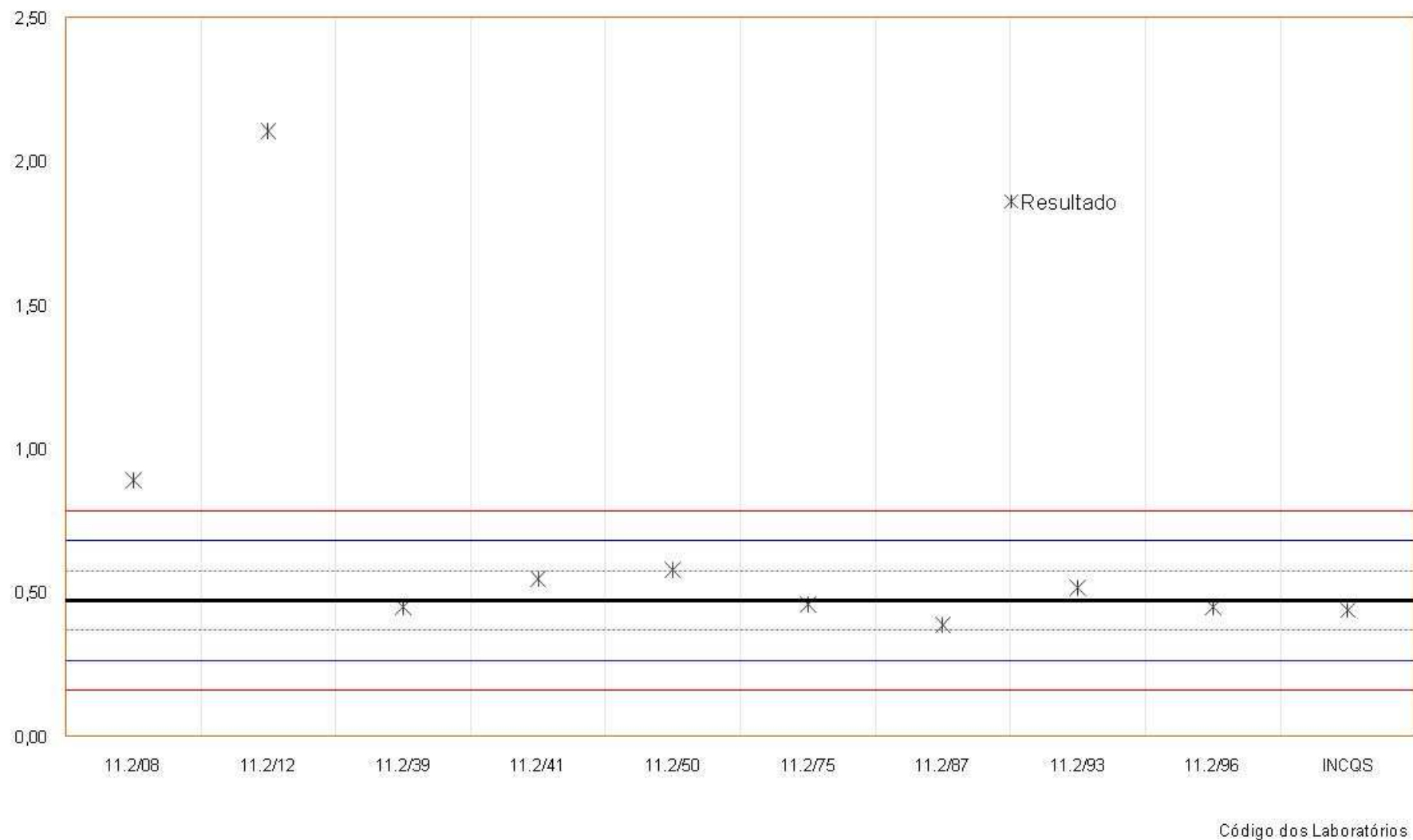


Figura 1: Gráfico dos resultados dos Laboratórios para a Aflatoxina M1

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 PEP11.2/08 e PEP11.2/12, com relação aos demais.

Para a qualificação dos resultados dos laboratórios foram calculados os índices z (z-score).

### 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 8.

Tabela 8: Valores do índice z obtidos pelos laboratórios participantes da 2ª Rodada do EP de Micotoxinas.

<b>Código do Laboratório</b>	<b>Aflatoxina M1</b>
11.2/08	<b>4,0</b>
11.2/12	<b>15,7</b>
11.2/39	<b>-0,2</b>
11.2/41	<b>0,7</b>
11.2/50	<b>1,0</b>
11.2/71	-
11.2/75	<b>-0,1</b>
11.2/87	<b>-0,8</b>
11.2/93	<b>0,4</b>
11.2/96	<b>-0,2</b>
INCQS	<b>-0,3</b>

Vermelho = resultado insatisfatório

A Figura 2 apresenta os resultados de índice z obtidos pelos laboratórios participantes para Aflatoxina M1.



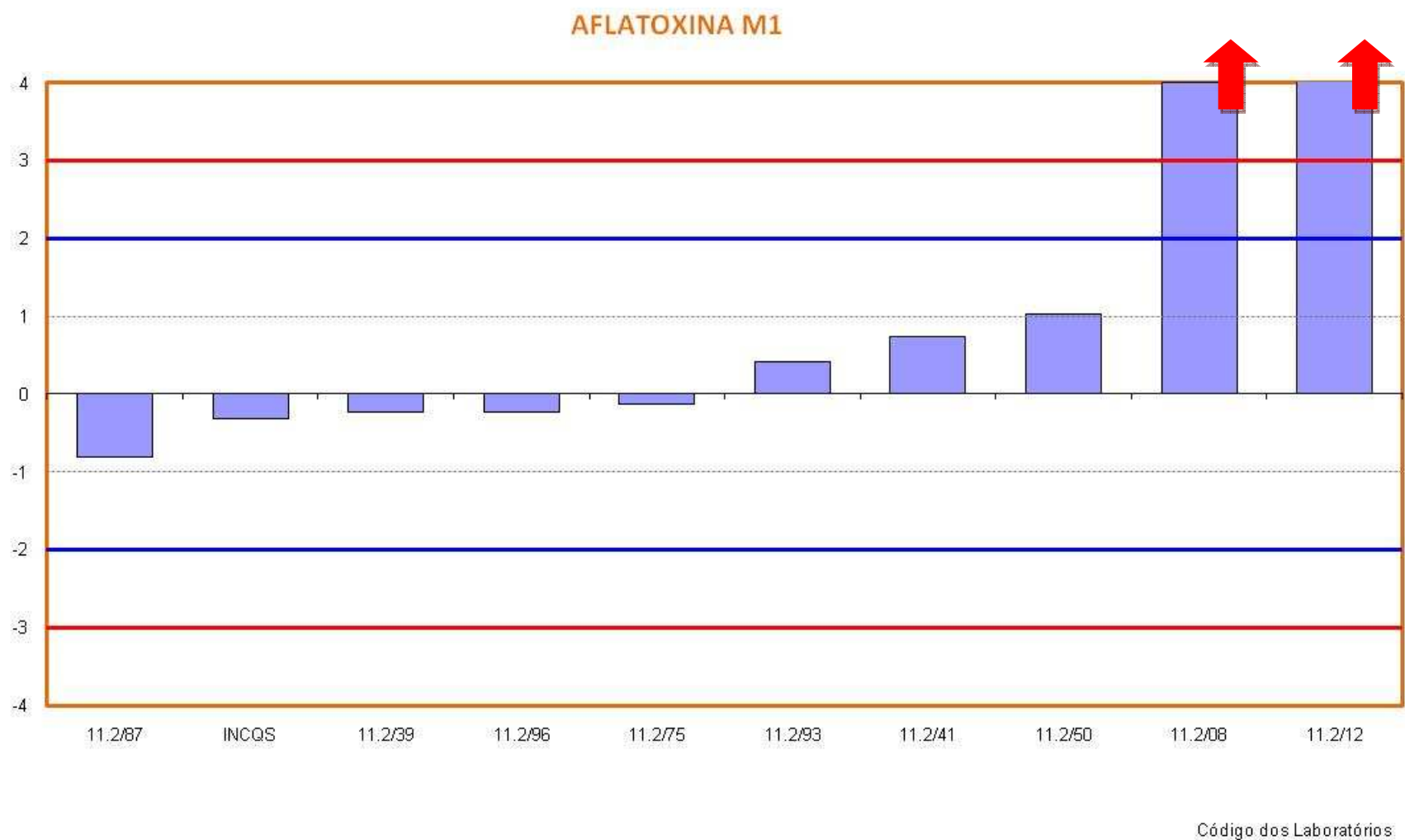


Figura 2: Gráfico de índice z dos laboratórios participantes para Aflatoxina M1

De acordo com os resultados obtidos, dois (20 %) laboratórios participantes obtiveram resultados insatisfatórios para a Aflatoxina M1. Um laboratório (PEP11.2/71) utilizou uma metodologia pouco sensível para a concentração de micotoxina deste EP.

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.

## **8. Conclusões**

A organização do ensaio de proficiência para determinação de micotoxinas em alimento se constituiu num 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:

Sete (70 %) dos dez laboratórios que enviaram resultados obtiveram resultados satisfatórios, apesar da concentração de Aflatoxina M1 na amostra ser bem inferior ao estabelecido na legislação brasileira (0,5 ppb em leite fluído e 5 ppb em leite em pó; RDC nº 274). Isto, junto aos baixos limites de quantificação reportados por alguns dos laboratórios, evidencia uma adequação dos métodos a concentrações estabelecidas pela Comunidade Européia.

Para os laboratórios que obtiveram resultados insatisfatórios, 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.

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. Referências Bibliográficas**

- Associação Brasileira de Normas Técnicas ISO/IEC GUIDE 43-1: Ensaio de proficiência por comparações interlaboratoriais – Parte 1. Desenvolvimento e operação de programas de ensaios de proficiência, 1999.
- 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 (06), 993-1003, 2004.
- CODEX ALIMENTARIUS. Guidelines on Good Laboratory Practice in Residue Analysis: CAC/GL 40-1993, Rev. 1-2003. Rome: FAO/WHO Joint Publications, 2003. Vol.
- 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 2008). Rio de Janeiro, 2008.
- International Laboratory Accreditation Cooperation - ILAC G13. Guidelines for the requirements for the competence of providers of proficiency testing schemes, 2007
- International Organization for Standardization – ISO GUIDE 35 - Reference materials – General and statistical principles for certification. Geneva, 2006
- International Organization for Standardization – ISO 13528 - Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. 2005.
- RDC no 274, de 15 de outubro de 2002, ANVISA, DOU 16/10/2002.
- 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. (DOI: 10.1039/b000282h)*Analyst*, 125, 385-386, 2000.

## 10. Laboratórios participantes

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 na CI, não estando, em hipótese alguma, associada à identificação dos laboratórios na apresentação dos resultados.

Tabela 9: Laboratórios participantes da 2ª Rodada do Ensaio de Proficiência para Determinação de Micotoxinas em Alimentos.

<b>Instituição</b>	
1.	A3Q Laboratórios Ltda
2.	Core Pesquisas Clínicas Ltda
3.	Embrapa Agroindústria de Alimentos
4.	Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP LABMIC-LAN/ESALQ
5.	Eurofins do Brasil Análises de Alimentos Ltda
6.	Fundação Ezequiel Dias Laboratório de Micotoxinas
7.	Instituto Adolfo Lutz Seção de Química Biológica – Núcleo de Contaminantes Orgânicos
8.	Instituto de Tecnologia do Paraná Laboratório de Alimentos
9.	Nestlé Brasil Ltda Nestlé Quality Assurance Center – NQAC/SP
10.	SFDK LABORATÓRIO DE ANÁLISE DE PRODUTOS LTDA

- Total de participantes: 10 laboratórios