

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**

**RENAN MARTINS DOS SANTOS**

**ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA DETERMINAÇÃO DE  
DIOXINAS E FURANOS EM GORDURA DE AVES**

Belo Horizonte, MG

2017

**RENAN MARTINS DOS SANTOS**

**ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA DETERMINAÇÃO DE  
DIOXINAS E FURANOS EM GORDURA DE AVES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Scheilla Vitorino  
Carvalho de Souza

Coorientador: Prof. Dr. Roberto Gonçalves  
Junqueira

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Belo Horizonte, MG

2017

S237e Santos, Renan Martins dos.  
Ensaio de proficiência para determinação de dioxinas e furanos em gordura de aves / Renan Martins dos Santos. – 2017.  
183 f. : il.

Orientadora: Scheilla Vitorino Carvalho de Souza.  
Coorientador: Roberto Gonçalves Junqueira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Poluentes orgânicos persistentes – Teses. 2. Dioxinas – Teses. 3. Furanos – Teses. 4. Carne de frango – Qualidade – Teses. 5. Gordura – Teses. 6. Ensaio de proficiência – Teses. 7. Laboratórios – Avaliação – Teses. I. Souza, Scheilla Vitorino Carvalho de. II. Junqueira, Roberto Gonçalves. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 636.085

## FOLHA DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPGCA

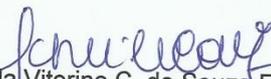
### FOLHA DE APROVAÇÃO

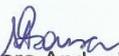
#### ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA DETERMINAÇÃO DE DIOXINAS E FURANOS EM GORDURA DE AVES

**RENAN MARTINS DOS SANTOS**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 31 de julho de 2017, pela banca constituída pelos membros:

  
Profa. Dra. Scheilla Vitorino C. de Souza Ferreira (Orientadora)  
Faculdade de Farmácia - UFMG

  
Dra. Maíara Andrade de Carvalho Sousa  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA/LANAGRO

  
Profa. Dra. Renata Franca Cassimiro Bello  
Faculdade Ciências da Vida - FCV

Belo Horizonte, 31 de julho de 2017.

## **AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS**

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (PPGCA) da Faculdade de Farmácia (FAFAR) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Ao Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO-MG) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pela infraestrutura e treinamentos recebidos.

Ao Laboratório de Dioxinas e PCB (LDP), ao Setor de Programas Interlaboratoriais e Materiais de Referência (PRIMAR) e a Unidade Instrumental de Cromatografia Gasosa (UI/CGEM) do LANAGRO-MG, pelo apoio dos colaboradores e disponibilização da infraestrutura.

À Biblioteca da FAFAR e Secretaria do PPGCA, pela assistência nas pesquisas bibliográficas e resolução de questões administrativas.

## AGRADECIMENTOS PESSOAIS

A Deus por tanta graça recebida e por ser meu sustento.

À professora Scheilla Vitorino Carvalho de Souza, pela brilhante orientação, ensinamentos, dedicação, disposição, confiança e disponibilidade.

Ao Professor Roberto Gonçalves Junqueira, pela coorientação, por toda colaboração e disponibilidade.

Aos membros da Comissão Examinadora Dra. Maiara Andrade de Carvalho Sousa, Dra. Renata França Cassimiro Belo e Dra. Scheilla Vitorino Carvalho de Souza pelas considerações e sugestões que muito contribuíram para a melhoria da qualidade do presente trabalho.

Aos todos os colegas do LANAGRO-MG envolvidos neste trabalho, em especial a Andreia Melo Garcia de Oliveira, Patrícia Ferreira e Silva, Rafael Pissinati e Viviane Michele Corrêa de Souza Mendes, pelo apoio, presteza e dedicação.

Ao EJC João Pinheiro por todo carinho, apoio e torcida.

Ao BDM pela amizade e companheirismo.

Aos meus pais, pelo apoio, incentivo e amor.

Aos meus familiares, por sempre acreditarem e torcerem por mim.

Ao Dr. Marcus Vinícius Dias Souza por tantos ensinamentos e pela amizade. Por ter sido o *start* deste mestrado.

Aos amigos Neiber Júnio, Danilo Oliveira e Joelson Geovane Santos pela compreensão da minha ausência nesse período e por toda ajuda.

As amigas Flavianne Cristinne da Silva, Luciana Silva e Karoline L. C. Ferreira por serem verdadeiros anjos na minha vida.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>24</b>
<b>2.1 OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>24</b>
<b>2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>24</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>25</b>
<b>3.1. CARNE DE FRANGO.....</b>	<b>29</b>
3.1.1. <i>Aspectos econômicos</i> .....	25
3.1.2 <i>Aspectos nutricionais</i> .....	26
3.1.3 <i>Contaminação por dioxinas e furanos</i> .....	27
<b>3.2 ASPECTOS GERAIS DAS DIOXINAS E FURANOS.....</b>	<b>29</b>
3.2.1. <i>Propriedades químicas</i> .....	30
3.2.2. <i>Propriedades toxicológicas</i> .....	32
<b>3.3 LEGISLAÇÃO PARA ALIMENTOS .....</b>	<b>35</b>
<b>3.4 CONTAMINAÇÃO DE ALIMENTOS POR DIOXINAS E FURANOS</b> <b>.....</b>	<b>37</b>
<b>3.5 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE DIOXINAS EM</b> <b>ALIMENTOS .....</b>	<b>40</b>
<b>3.6. ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA .....</b>	<b>42</b>
3.6.1 <i>Definição e importância</i> .....	42

3.6.2 Normas e Documentos de Referência .....	42
3.6.3 Organização.....	43
3.6.3.1 Preparo e avaliação dos itens de ensaio .....	44
3.6.3.2 Determinação do valor designado e sua incerteza .....	44
3.6.3.3 Determinação do desvio padrão alvo .....	45
3.6.3.4 Avaliação do desempenho dos participantes.....	45
3.6.4 EP nacionais e internacionais para dioxinas e furanos .....	46
<b>4 MATERIAS E MÉTODOS.....</b>	<b>49</b>
<b>4.1. EQUIPAMENTOS.....</b>	<b>49</b>
<b>4.2 MATERIAIS .....</b>	<b>50</b>
<b>4.3 REAGENTES.....</b>	<b>51</b>
<b>4.4 SOLUÇÕES E MISTURAS.....</b>	<b>51</b>
<b>4.5 AMOSTRAS .....</b>	<b>52</b>
<b>4.6 MÉTODO ANALÍTICO.....</b>	<b>53</b>
4.6.1 Extração.....	53
4.6.1.1 Solubilização das amostras de gordura.....	53
4.6.1.2 Tratamento com sílica ácida .....	53
4.6.1.3 Purificação com coluna de sílica ácida.....	54
4.6.1.4 Purificação com coluna de florisil .....	54
4.6.2 Concentração.....	55
4.6.3 Determinação.....	55

<b>4.7 PRODUÇÃO DO MATERIAL .....</b>	<b>55</b>
4.7.1 <i>Experimento piloto</i> .....	55
4.7.2 <i>Preparo do material</i> .....	57
4.7.3 <i>Teste de homogeneidade</i> .....	60
4.7.4 <i>Teste de estabilidade</i> .....	61
4.7.4.1 Estabilidade em condições de transporte (curto prazo) – modelo isócrono .....	61
4.7.4.2 Estabilidade em longo prazo – modelo clássico .....	63
<b>4.8 ORGANIZAÇÃO DO EP .....</b>	<b>65</b>
4.8.1 <i>Convite e adesão</i> .....	66
4.8.2 <i>Distribuição dos itens e envio de documentos</i> .....	67
4.8.3 <i>Avaliação de desempenho</i> .....	68
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>70</b>
<b>5.1 EXPERIMENTO PILOTO .....</b>	<b>70</b>
<b>5.2 TESTE DE HOMOGENEIDADE .....</b>	<b>74</b>
<b>5.3 TESTE DE ESTABILIDADE EM CONDIÇÕES DE TRANSPORTE</b>	<b>78</b>
<b>5.4 TESTE DE ESTABILIDADE EM LONGO PRAZO – MODELO     CLÁSSICO .....</b>	<b>83</b>
<b>5.5 RESULTADOS DOS PARTICIPANTES.....</b>	<b>89</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>103</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>104</b>

<b>FIGURA 1. ESTRUTURA GERAL DE DIOXINAS E FURANOS. ....</b>	<b>32</b>
<b>FIGURA 2. FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE PREPARO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA DE GORDURA DE AVES, SOB CONDIÇÕES OTIMIZADAS.....</b>	<b>59</b>
<b>FIGURA 3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PARA O TESTE DE HOMOGENEIDADE DOS MATERIAIS DE REFERÊNCIA PRODUZIDOS.....</b>	<b>61</b>
<b>FIGURA 4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PARA O TESTE DE ESTABILIDADE DOS MATERIAIS DE REFERÊNCIA PRODUZIDOS EM CONDIÇÕES DE TRANSPORTE – MODELO ISÓCRONO.....</b>	<b>63</b>
<b>FIGURA 5. DELINEAMENTO PARA TESTE DE ESTABILIDADE DOS MATERIAIS DE REFERÊNCIA PRODUZIDOS – MODELO CLÁSSICO.....</b>	<b>65</b>
<b>FIGURA 6. FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE ORGANIZAÇÃO DO ENSAIO DE PROFICIÊNCIA.....</b>	<b>66</b>
<b>FIGURA 7. MATERIAIS DE REFERÊNCIA PRONTOS PARA DESPACHO AOS LABORATÓRIOS PARTICIPANTES.....</b>	<b>67</b>
<b>FIGURA 8. GRÁFICO DE PROBABILIDADE NORMAL DOS RESULTADOS DE VISCOSIDADE OBTIDOS PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS AOS QUAIS A GORDURA DE FRANGO FOI SUBMETIDA. ....</b>	<b>70</b>
<b>FIGURA 9. GRÁFICOS DE EFEITOS PRINCIPAIS POR RESPOSTA.</b>	<b>72</b>

**FIGURA 10. PERFIL DE COR DAS AMOSTRAS DE GORDURA DE FRANGO FUNDIDAS, SUBMETIDAS AOS DIFERENTES TRATAMENTOS DO DELINEAMENTO FATORIAL. .... 74**

**FIGURA 11. REPRESENTAÇÃO DO PERFIL DE ESTABILIDADE OBSERVADO NO ESTUDO EM CURTO PRAZO (MODELO ISÓCRONO) PARA O SOMATÓRIO TEQ DOS CONGÊNERES..... 83**

**FIGURA 12. REPRESENTAÇÃO DO PERFIL DE ESTABILIDADE OBSERVADO NO ESTUDO EM LONGO PRAZO (MODELO CLÁSSICO) PARA OS CONGÊNERES 2,3,7,8-TCDF; 2,3,7,8-TCDD; 1,2,3,7,8-PECDF; 2,3,4,7,8-PECDF; E 1,2,3,7,8-PECDD, POR ANÁLISE DE REGRESSÃO..... 87**

**FIGURA 13. REPRESENTAÇÃO DO PERFIL DE ESTABILIDADE OBSERVADO NO ESTUDO EM LONGO PRAZO (MODELO CLÁSSICO) PARA OS CONGÊNERES 1,2,3,4,7,8-HXCDF; 1,2,3,6,7,8-HXCDD; 2,3,4,6,7,8-HXCDF; 1,2,3,6,7,8-HXCDD; E SOMATÓRIO TEQ, POR ANÁLISE DE REGRESSÃO. .... 88**

**FIGURA 14. REPRESENTAÇÃO DO GRÁFICO DE PONTOS PARA O SOMATÓRIO TEQ DOS CONGÊNERES..... 95**

**FIGURA 15. REPRESENTAÇÃO DO GRÁFICO DE KERNEL PARA O SOMATÓRIO TEQ DOS CONGÊNERES..... 96**

**FIGURA 16. Z-SCORES ESTIMADOS PARA LABORATÓRIOS PARTICIPANTES PARA OS ANALITOS 2,3,7,8-TCDD; 2,3,7,8-TCDF; 1,2,3,7,8-PECDD; 1,2,3,7,8-PECDF, EMPREGANDO O DESVIO PADRÃO DA PROFICIÊNCIA REGULAMENTADO PELA UNIÃO EUROPEIA (UE, 2014). 98**

**FIGURA 17. Z-SCORES ESTIMADOS PARA LABORATÓRIOS PARTICIPANTES PARA OS ANALITOS 2,3,4,7,8-PECDF; 1,2,3,6,7,8-HXCDD; 1,2,3,6,7,8-HXCDF; 1,2,3,4,7,8-HXCDS, EMPREGANDO O DESVIO**

<b>PADRÃO DA PROFICIÊNCIA REGULAMENTADO PELA UNIÃO EUROPEIA (UE, 2014).....</b>	<b>98</b>
---	-----------

<b>FIGURA 18. Z-SCORES ESTIMADO PARA LABORATÓRIOS PARTICIPANTES PARA O SOMATÓRIO TEQ, EMPREGANDO O DESVIO PADRÃO DA PROFICIÊNCIA REGULAMENTADO PELA UNIÃO EUROPEIA (UE, 2014).....</b>	<b>100</b>
--	------------

<b>TABELA 1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE CORTES DE FRANGO. ....</b>	<b>27</b>
--	-----------

<b>TABELA 2. LIMITES DE CONTAMINAÇÃO DE DIOXINAS E FURANOS PARA DIFERENTES INGREDIENTES DESTINADOS À NUTRIÇÃO ANIMAL. ....</b>	<b>36</b>
--	-----------

<b>TABELA 3. PROTOCOLOS HARMONIZADOS, GUIAS E NORMAS RELACIONADOS A ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA. ....</b>	<b>43</b>
---	-----------

<b>TABELA 4. ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA PARA ESCOPOS DE DETERMINAÇÃO DE DIOXINAS E FURANOS EM DIFERENTES MATRIZES..</b>	<b>48</b>
--	-----------

<b>TABELA 5. TRATAMENTOS AVALIADOS NA OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE PRODUÇÃO DO MATERIAL DE GORDURA DE AVES....</b>	<b>56</b>
---	-----------

<b>TABELA 6. ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS DE VISCOSIDADE DA GORDURA DE AVES FUNDIDA NOS DIFERENTES TRATAMENTOS DO DELINEAMENTO FATORIAL.....</b>	<b>71</b>
---	-----------

<b>TABELA 7. COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS ESTIMADAS PARA OS DIFERENTES TRATAMENTOS AOS QUAIS A GORDURA DE FRANGO FOI SUBMETIDA.....</b>	<b>71</b>
--	-----------

<b>TABELA 8. DETECÇÃO DE OUTLIERS NA AVALIAÇÃO DA HOMOGENEIDADE PELO TESTE DE COCHRAN, SEGUNDO CRITÉRIOS</b>	
--	--

DA NORMA ISO 13528 E DO PROTOCOLO HARMONIZADO PELA IUPAC. .....	73
--	----

TABELA 9. AVALIAÇÃO DA REPETIBILIDADE DO MÉTODO EMPREGADO NA AVALIAÇÃO DA HOMOGENEIDADE, SEGUNDO CRITÉRIOS DA NORMA ISO 13528 E DO PROTOCOLO HARMONIZADO PELA IUPAC.....	76
--	----

TABELA 10. TESTE DA HOMOGENEIDADE DOS MATERIAIS PRODUZIDOS, SEGUNDO CRITÉRIOS DA NORMA ISO 13528 E DO PROTOCOLO HARMONIZADO PELA IUPAC .....	77
--	----

TABELA 11. TESTE DA ESTABILIDADE DO MATERIAL EM CONDIÇÕES DE TRANSPORTE, SEGUNDO CRITÉRIOS DA NORMA ISO 13528 .....	80
---	----

TABELA 12. TESTE DA ESTABILIDADE DO MATERIAL EM CONDIÇÕES DE TRANSPORTE, SEGUNDO CRITÉRIOS DO PROTOCOLO HARMONIZADO PELA IUPAC .....	81
--	----

TABELA 13. TESTE DE ESTABILIDADE DO MATERIAL EM CONDIÇÕES DE TRANSPORTES POR ANÁLISE DE VARIÂNCIA .....	82
---	----

TABELA 14. TESTE DE ESTABILIDADE DO MATERIAL, SEGUNDO CRITÉRIOS DA NORMA ISO 13528, COMPARANDO-SE OS TEMPOS 0 E 12 DIAS.....	85
--	----

TABELA 15. TESTE DE ESTABILIDADE DO MATERIAL, SEGUNDO CRITÉRIOS DO PROTOCOLO HARMONIZADOS PELA IUPAC, COMPARANDO-SE OS TEMPOS 0 E 120 DIAS.....	86
---	----

TABELA 16. INFORMAÇÕES RELATIVAS AOS MÉTODOS REPORTADOS PELOS LABORATÓRIOS PARTICIPANTES. ....	90
--	----

**TABELA 17. INFORMAÇÕES RELATIVAS AO DESEMPENHO ANALÍTICO REPORTADAS PELOS LABORATÓRIOS PARTICIPANTES... 91**

**TABELA 18. DETECÇÃO DE OUTLIERS ENTRE OS RESULTADOS DOS PARTICIPANTES PARA DETERMINAÇÃO DO VALOR DESIGNADO PELA MÉDIA CONSENSUAL, SEGUNDO CRITÉRIOS DA NORMA ISO 13528 E DO PROTOCOLO HARMONIZADO PELA IUPAC..... 94**

**TABELA 19. Z-SCORE CAUCULADO PARA OS PARTICIPANTES, EMPREGANDO O DESVIO PADRÃO DE REPRODUTIBILIDADE ESTIMADO PELA FUNÇÃO DE HORWITZ E REGULAMENTADO PELA UNIÃO EUROPÉIA ..... 97**

## LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CG	Cromatografia gasosa
CG-EMAR	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de alta resolução
CG-EM/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em modo <i>tandem</i>
EC	<i>European Commission</i>
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
EI	Impacto de elétrons
EM	Espectrometria de massas
EP	Ensaio de proficiência
EURL	European Union Reference Laboratory
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISSO	<i>International Organization for Standardization</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LANAGRO-MG	Laboratório Nacional de Agropecuário em Minas Gerais
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MR	Material de referência
MRC	Material de referência certificado
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Para análise
PAR	Para análise de resíduo
PCB	Bifenilas policloradas
PCDD	Dibenzo-p-dioxinas policloradas
PCDF	Dibenzo-furanos policlorados
PNCRC	Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes

POPs	Poluentes orgânicos persistentes
RGB	<i>Red Green Blue</i>
SIF	Serviço de Inspeção Federal
TEF	Fator de equivalência de toxicidade
TEQ	Toxicidade equivalente
EU	União Europeia
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
1,2,3,4-TCDD	1,2,3,4-Tetraclorodibenzo-p-dioxina
2,3,7,8-TCDD	2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-p-dioxina
2,3,7,8-TCDF	2,3,7,8-Tetraclorodibenzofurano
1,2,3,7,8-PeCDD	1,2,3,7,8-Pentaclorodibenzo-p-dioxina
1,2,3,7,8-PeCDF	1,2,3,7,8-Pentaclorodibenzofurano
2,3,4,7,8-PeCDF	2,3,4,7,8-Pentaclorodibenzofurano
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1,2,3,4,7,8-Hexaclorodibenzo-p-dioxina
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1,2,3,4,7,8-Hexaclorodibenzofurano
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1,2,3,6,7,8-Hexaclorodibenzo-p-dioxina
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1,2,3,6,7,8-Hexaclorodibenzofurano
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1,2,3,7,8,9-Hexaclorodibenzo-p-dioxina
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1,2,3,7,8,9-Hexaclorodibenzofurano
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2,3,4,6,7,8-Hexaclorodibenzofurano
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1,2,3,4,6,7,8-Heptaclorodibenzo-p-dioxina
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1,2,3,4,6,7,8-Heptaclorodibenzofurano
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1,2,3,4,7,8,9-Heptaclorodibenzofurano
OCDD	Octaclorodibenzo-p-dioxina
OCDF	Octaclorodibenzofurano

## RESUMO

Dioxinas e furanos são contaminantes classificados como poluentes orgânicos persistentes e altamente lipofílicos. A presença em alimentos é tóxico de saúde pública em função dos efeitos tóxicos, incluindo propriedades carcinogênicas mesmo em concentrações muito baixas. Incidentes recentes envolvendo a carne de frango brasileira incluíram a gordura de aves dentre as matrizes prioritárias para monitoramento. Contudo, o controle desses compostos depende da confiabilidade de métodos analíticos, sendo os ensaios de proficiência (EP) ferramentas importantes para a qualidade analítica, ainda que raros. Os objetivos do presente estudo foram a produção de um material de referência a partir de gordura de aves naturalmente contaminada, avaliação de sua homogeneidade e estabilidade e a organização de um EP para determinação de dioxinas e furanos. As condições de preparo dos materiais foram otimizadas em um delineamento do tipo fatorial, envolvendo as variáveis potência e tempo de fusão no micro-ondas, temperatura do banho termostático e velocidade de agitação, visando a obtenção de um material de menor viscosidade. A velocidade de agitação foi um fator não significativo ( $p > 0,05$ ) enquanto os demais fatores foram significativos ( $p < 0,05$ ). As amostras foram, então, fundidas em micro-ondas, envazadas sob aquecimento e homogeneização em frascos de 80 g, e armazenadas sob refrigeração. Na avaliação da homogeneidade, dez frascos foram analisados, em duplicata, por cromatografia gasosa (CG) acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (EMAR). O lote foi considerado homogêneo para os dez analitos quantificados pelo método adotado, segundo critérios estabelecidos pela norma ISO 13528 e IUPAC. Na avaliação da estabilidade em curto prazo, simulando condições de estresse no transporte dos materiais, por meio da exposição dos mesmos a temperaturas de  $45\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ , por 3, 6 e 9 dias, foram tomados três frascos por tratamento, os quais foram analisados em duplicata. Não foram notadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos ( $p > 0,05$ ) para todos os analitos, indicando estabilidade do material. A estabilidade em longo prazo foi monitorada por meio da análise de três itens, em duplicata, em cinco diferentes tempos, durante 120 dias. Tal característica foi demonstrada por análise de regressão ( $p > 0,05$ ) para nove analitos. Os critérios recomendados no documento da IUPAC mostraram mais restritivos que os da norma ISO 13528, em relação à estabilidade. Foram convidados 14 laboratórios, dos quais 12 aceitaram e 10, de quatro diferentes países, efetivamente participaram do EP. A CG-EMAR foi a técnica mais empregada, seguida de CG com espectrometria de massas em modo *tandem* (CG-EM/EM) e dos bioensaios, que somente reportaram resultados para o somatório TEQ. Valores designados foram estimados pela média dos resultados dos participantes, após tratamento de *outliers*. A estatística de desempenho foi o z-escore, sendo que o desvio

padrão alvo foi estimado pelo modelo de Horwitz e pelo desvio máximo permitido pela Legislação Europeia. Para cinco dos oito analitos avaliados, todos os laboratórios apresentaram desempenho satisfatório em ambos os critérios de desvio alvo. Para os congêneres 1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDF foram encontrados um, dois e dois laboratórios com resultados insatisfatórios, respectivamente. Para o somatório TEQ, dois dos quatro resultados insatisfatórios corresponderam aos laboratórios que empregaram bioensaio. Desta forma, desempenho adequado dos participantes foi demonstrado para determinação dos congêneres de dioxinas e furanos de maior relevância toxicológica.

**Palavras-chave:** Poluente Orgânico Persistente. Material de referência. Programa interlaboratorial. Desempenho analítico.

## ABSTRACT

Dioxins and furans are highly lipophilic contaminants classified as persistent organic pollutants. Their presence in food is a public health topic due to toxic effects, including carcinogenic properties even at very low concentrations. Recent incidents involving Brazilian chicken meat included chicken fat among the priority matrices for monitoring. However, the control of these compounds depends on the reliability of analytical methods. Proficiency test (PT) are important tools for analytical quality, although rare. The objectives of the present study were the production of a reference material from naturally contaminated chicken fat, the evaluation of homogeneity and stability of the produced material and the organization of a PT for the determination of dioxins and furans. The conditions for the production of the material were optimized in a factorial design, involving potency and time of melting in the microwave, temperature of the thermostatic bath and speed of agitation, aiming to obtain a material of lower viscosity. The agitation speed was a non-significant factor ( $p > 0.05$ ), while the other factors were significant ( $p < 0.05$ ). The samples were then melted, packed under heating and homogeneization in 80 g flasks, and stored under refrigeration. In the evaluation of homogeneity, ten flasks were analyzed in duplicate by gas chromatography (GC) coupled to high resolution mass spectrometry (HRMS). The batch was considered homogeneous for the ten analytes quantified, according to criteria established by ISO 13528 and IUPAC. In the evaluation of short-term stability, simulating stress conditions in the transport, the materials were exposed to temperatures of  $45\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$  for 3, 6 and 9 days. Three samples were taken per treatment, which were analyzed in duplicate. No significant differences between the different treatments ( $p > 0.05$ ) were observed for all the analytes, indicating stability of the material. The long-term stability was monitored by analyzing three samples, in duplicate, at five different times, for 120 days. This characteristic was demonstrated by regression analysis ( $p > 0.05$ ) for nine analytes. The criteria recommended in the IUPAC document were more restrictive than those of ISO 13528 in relation to stability. Fourteen laboratories were invited, 12 reported interest in participating and 10 from four different countries effectively participated in the PT. CG-HRMS was the most used technique, followed by CG tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) and bioassays, which only reported results for the sum TEQ. Designated values were estimated by the mean of the participants' results, after outliers treatment. The performance statistic was the z-score, and the target standard deviation was estimated by the Horwitz model and by the maximum deviation allowed by the European Legislation. For five of the eight analytes evaluated, all laboratories presented satisfactory performance in both target standard deviation criteria. For the congeners 1,2,3,7,8-PeCDF,

1,2,3,6,7,8-HxCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDF were found one, two and two laboratories with unsatisfactory results, respectively. For the TEQ summation, two of the four unsatisfactory results corresponded to laboratories that used bioassay. In this way, adequate performance of the participants was demonstrated for the determination of dioxins and furans congeners of greater toxicological relevance.

**Keywords:** Persistent Organic Pollutants. Reference material. Interlaboratory comparison. Analytical performance.

## 1 INTRODUÇÃO

As dioxinas e furanos, dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDD- *polychlorinated-p-dibenzodioxins*, em inglês) e dibenzo-furanospoliclorados (PCDF - *polychlorinated-p-dibenzofurans*, em inglês), respectivamente, representam um grave risco à saúde humana devido as suas propriedades tóxicas, mesmo em concentrações muito baixas. Segundo a IARC (*International Agency for Research on Cancer*), alguns desses compostos apresentam evidências suficientes de carcinogenicidade em humanos e animais (IARC, 2012).

A principal forma de contaminação de humanos é pelo consumo de alimentos, sendo necessário o monitoramento desses contaminantes por métodos analíticos. As dioxinas e furanos são formados em processos de combustão e liberadas nas descargas industriais. Esses compostos podem, ao longo da cadeia alimentar, passar por processos de bioconcentração e biomagnificação, sendo imprescindível que órgãos públicos trabalhem em prol da segurança alimentar controlando a contaminação de alimentos por dioxinas e furanos (PENTEADO; VAZ, 2001; BASTOS *et al.*, 2011; FURST, 2011; UHLIG; EICHLER, 2011; FRAWLEY *et al.*, 2014).

A carne de frango é, atualmente, a segunda carne mais consumida no mundo tendo projeções para assumir a primeira posição em um futuro breve. A produção, em 2014, chegou a mais de 86 milhões de toneladas, sendo o Brasil o terceiro maior produtor no *ranking* mundial. Logo, esse produto contribui de forma significativa para a economia nacional e internacional (ABPA, 2016).

Um dos fatores que contribuem para o alto consumo da carne de frango, além de um custo baixo quando comparado às carnes de outras espécies, é o fato dessa carne ser considerada uma alternativa saudável por consumidores e profissionais de saúde, devido às características nutricionais desejáveis como alto teor proteico e baixo teor de ácidos graxos saturados e colesterol, sendo de fácil digestão e podendo ser indicada em dietas de diferentes faixas etárias (CENTENARO *et al.*, 2008; MILICEVIC *et al.*, 2015).

Contudo, existem relatos que descreveram a contaminação de produtos alimentícios de origem animal por dioxinas e furanos como carne bovina, suína e de aves. Dentre esses, destaca-se um incidente ocorrido na Bélgica no qual gordura reciclada contaminada foi utilizada na fabricação de produtos para nutrição animal, causando envenenamento de aves além de contaminação de produtos de origem animal como leite, carne bovina, suína e de frango, o que contribuiu para a instalação de uma crise no país que poderia ser facilmente evitada por programas de monitoramento desses contaminantes (BERNARD *et al.*, 2002).

Em 2015, no Brasil, duas unidades exportadoras de carne de frango tiveram suas licenças de exportação suspensas devido à identificação de dioxinas e furanos. As cargas contaminadas por dioxinas foram identificadas pela China que, desde este acontecimento, começou a exigir dos exportadores de proteína animal laudos para comprovação da segurança alimentar em relação às dioxinas (MARTINS, 2015).

Desta forma, um rigoroso controle desses contaminantes se faz necessário, empregando ferramentas de análise rápidas e confiáveis de maneira que seja possível detectar e quantificar tais compostos, além de conter a contaminação ao longo da cadeia alimentar. No entanto, a quantificação desses compostos é um grande desafio, visto que existem inúmeras matrizes alimentares que podem ser contaminadas, os limites máximos regulamentados para contaminação são muito baixos e podem ocorrer interferências de outros compostos orgânicos nas diferentes metodologias analíticas empregadas (REINER, 2010; CHOBTANG *et al.*, 2011; SCHOFFER *et al.*, 2011).

Algumas ferramentas são fundamentais na garantia da qualidade analítica, como a validação de métodos, o emprego de controles de qualidade internos e externos. Estes últimos incluem o uso de materiais de referência certificados (MRCs) e a participação em ensaios de proficiência (EPs), quando disponíveis. Num EP, o desempenho de um laboratório participante para a realização de um ensaio específico é avaliado contra critérios pré-estabelecidos, por meio de comparações interlaboratoriais. Contudo, esses ensaios têm sua oferta bastante restrita na área de alimentos, ainda que

considerados como ferramentas de qualidade importantes no contexto de sistemas de gestão da qualidade laboratoriais. Como razões para tal fato pode-se citar a ampla diversidade e complexidade de matrizes e analitos, dificuldades para manutenção das características de qualidade dos materiais e a escassez de provedores, principalmente daqueles acreditados (ISO, 2015; THOMPSON *et al.*, 2006; ROSAS *et al.*, 2010; ABNT, 2011; INMETRO, 2016; SANTOS, SOUZA, 2016).

O provimento de EPs envolvendo determinação de dioxinas e furanos em matrizes alimentares, especificamente, é bastante limitado, tanto no âmbito internacional no qual poucos provedores e escopos são encontrados, quanto na esfera nacional que não possui nenhum provedor. Neste contexto, existe ainda uma carência de ensaios para dioxinas e furanos em uma diversidade de alimentos destinados ao consumo humano, como o frango, sendo necessária a organização de estudos comparativos para este grupo de produtos alimentícios (BECHER *et al.*, 2004; KOTZ *et al.*, 2014; SANTOS, SOUZA, 2016; EPTIS, 2016; INMETRO, 2016).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Produção e avaliação de materiais de referência (MR) e organização de EP para determinação de dioxinas e furanos em gordura de aves.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Produzir um MR de gordura de aves a partir de amostras naturalmente contaminadas.

Avaliar o lote de MR produzido quanto à homogeneidade, seguindo critérios estabelecidos em normas internacionais, empregando método por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (CG-EMAR).

Avaliar os MR produzidos quanto à estabilidade, em modelos isócrono e clássico, seguindo critérios estabelecidos em normas internacionais, empregando método por CG-EMAR.

Organizar um EP para o escopo analítico de determinação de dioxinas e furanos em gordura de aves envolvendo laboratórios nacionais e internacionais.

Analisar possíveis relações entre os resultados reportados e o desempenho dos laboratórios participantes com aspectos de garantia de qualidade e abordagens analíticas dos diferentes laboratórios.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CARNE DE FRANGO

##### 3.1.1 Aspectos econômicos

A produção mundial de carne de frango atingiu 96 milhões de toneladas no ano de 2013, segundo a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO). No referido ano, o Brasil ocupou a terceira posição no *ranking*, com uma produção superior a 12 milhões de toneladas, correspondente a 12,9 % do montante mundial, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China que produziram 18,1 % e 13,3 %, respectivamente. O Brasil se destaca, ainda, dentre os países exportadores de carne, ocupando a primeira posição no *ranking* mundial em 2015, com 35 % do total exportado. Dentre os países importadores de carne de frango sobressaem o Japão, Arábia Saudita, Iraque, México e países da União Europeia (MINAS GERAIS, 2014; FAO STAT, 2015).

De uma forma geral, o consumo de carnes teve um aumento significativo a partir da década de 90, sendo que a carne de frango teve o aumento mais significativo. Vários são os motivos para o aumento do consumo de carnes de frango, podendo ser elencados: i) os preços inferiores aos das carnes de outras espécies animais; ii) aumento da oferta e diversidade de produtos que utilizam carne de frango como matéria-prima; e iii) características nutricionais que fazem da carne de frango uma opção mais saudável (MINAS GERAIS, 2014; OLIVEIRA; FRANZEN; TERRA, 2014).

Atualmente, a carne de frango é a segunda mais consumida pela população mundial, ficando atrás apenas da carne de suínos. Projeções indicam que na próxima década a carne de frango ocupará a primeira posição neste *ranking*. O consumo médio de carne de frango per capita, em 2013, foi de 13,2 kg e as projeções para 2023 chegam a 15 kg per capita (FAO, 2003; EVANS, 2015).

A produção aviária no Brasil, além do abastecimento de mercado interno e externo, é responsável pela geração de mais de 3,5 milhões de empregos e

uma receita aproximada de 8 bilhões de dólares. Essa produção é sustentada por avanços tecnológicos relacionados às inovações no manejo e genética das aves, além de investimentos e novas tecnologias relacionadas à nutrição e o ambiente de criação das aves. Além desses fatores, a relação estabelecida entre abatedouros e produtores rurais tornou mais dinâmica a produção na cadeia aviária, sendo que modelos de integração são responsáveis por 90 % da produção nacional (CALDAS, 2014).

### 3.1.2 Aspectos nutricionais

Embora alguns estudos atribuam o consumo da carne como fator de risco para o desenvolvimento de várias doenças cardiovasculares, metabólicas, crônicas e tipos de câncer, a carne é uma importante fonte de nutrientes dentre os quais vários são considerados essenciais para o desenvolvimento humano (MILICEVIC *et al.*, 2015).

Consideradas saudáveis por consumidores e profissionais de saúde, as carnes de aves têm características nutricionais desejáveis, podendo-se destacar o alto teor proteico, baixo teor de ácidos graxos saturados e colesterol, além de ser um alimento de fácil digestão, o que aumenta sua indicação especialmente para a alimentação infantil e de idosos (CENTENARO; FURLAN; SOUZA-SOARES, 2008; MILICEVIC *et al.*, 2015).

Com os processos de cruzamento entre diferentes raças e a seleção cada vez mais aprimorada, linhagens específicas com características próprias têm sido originadas. Frangos destinados à produção de carne, denominados frangos de corte são selecionados de acordo com algumas características que proporcionam aumento na taxa de crescimento dessas aves, contudo, esta seleção implica também em alterações no tamanho, formato e funcionamento de órgãos e massa de gordura nessas aves (CENTENARO; FURLAN; SOUZA-SOARES, 2008).

Nos abatedouros de aves, o descarte de materiais como sangue, penas, intestinos, cabeças e em alguns casos pés e peles podem chegar até 30% da massa corpórea do animal. Os teores de lipídeos, proteínas, umidade, cinzas

de uma amostra de carne de frango podem ser influenciados por fatores como espécie ou raça, dieta da ave, idade da ave, sexo (considerando que as fêmeas apresentam maiores percentuais de gordura), parte do frango analisada e até a técnica analítica utilizada na determinação (RODRIGUES *et al.*, 2005; CENTENARO; FURLAN; SOUZA-SOARES, 2008; ASSIS *et al.*, 2010; HAUTRIVE; MARQUES; KUNOTA, 2012).

Os valores médios dos teores de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas para diferentes cortes de frango encontram-se descritos na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Composição centesimal de cortes de frango.

Corte	Umidade	Proteína	Lipídeos	Cinzas	Colesterol	Energia
	g/100g				mg/100g	(kcal/100g)
Coração cru	69,1	12,6	18,6	0,8	159	222
Peito com pele cru	71,9	20,8	6,7	0,9	80	149
Peito sem pele cru	74,8	21,5	3,0	1,0	59	119
Sobrecoxa com pele crua	63,6	15,5	20,9	0,8	88	255
Sobrecoxa sem pele crua	72,7	17,6	9,6	0,9	84	162
Frango inteiro com pele cru	66,5	16,4	17,3	0,7	85	226

Fonte: adaptado de NEPA (2006).

### 3.1.3 Contaminação por dioxinas e furanos

As dioxinas entram na cadeia alimentar nos menores níveis e são capazes de se acumularem ao longo dessa. Sua persistência faz com que esses compostos contaminem solos, rações, animais e, conseqüentemente, os humanos os quais, assim como animais, estão expostos às dioxinas principalmente pela alimentação (CHOBTANG *et al.*, 2011; SCHOFFER *et al.*, 2011).

Há diversos relatos sobre a contaminação de produtos alimentícios de origem animal por dioxinas, podendo ser usados como exemplos: i) os casos de contaminação da carne bovina e de aves, nos Estados Unidos; ii) a crise das bifenilas policloradas (PCBs), que são substâncias que podem apresentar semelhança às dioxinas e se enquadram no mesmo grupo de poluentes, e dioxinas, ocorrida em 1999 na Bélgica; iii) a ocorrência de dioxinas em carne de porco no Chile, em 2008; e iv) em 2010, carnes de aves e suínos em fazendas alemãs (SCHOFFER *et al.*, 2011).

Uma pesquisa desenvolvida com carnes de frangos do Chile utilizando bioensaio EROD-H4IIE indicou níveis de contaminação que variaram de 0,73 a 0,83 pg TEQ-OMS/g de gordura analisada (SCHOFFER *et al.*, 2011).

Amostras de rações para frango produzidas na Bélgica, no ano de 1999, apresentaram altos níveis de contaminação por dioxinas e PCBs. Amostras de produtos de aves de fazendas suspeitas, que incluíram cortes e fígado, apresentaram valores entre 0,84 e 8,2 ng/g de gordura. A concentração de PCDD/F média em cortes e amostras de aves variou de 3,8 a 255 pg (TEQ-OMS)/g de gordura, sendo as maiores concentrações encontradas em frangos que apresentavam sinais de intoxicação (GHIMPETEANU; MILITARU; SCIPPO, 2014).

Em 2004, houve uma crise de segurança alimentar envolvendo resíduos de dioxinas que contaminaram ovos e carne de aves, em Taiwan. Posteriormente, estudos foram conduzidos administrando-se cápsulas contendo PCDD e PCDF em aves, que após o tempo de estudo foram sacrificadas e tiveram amostras de gordura de diferentes sítios anatômicos analisados. A maior concentração foi detectada na gordura proveniente do fígado e de tecido adiposo do peito das aves, sendo que os patos estudados mostraram ter uma taxa de metabolismo reduzida para estes compostos se comparados aos frangos (WU *et al.*, 2014).

Impulsionada pelo aumento populacional, a otimização da produção de alimentos se fez necessária. Uma alternativa para os fabricantes de rações é a utilização de resíduos orgânicos de origem agro-vegetal gerados cada vez em maior quantidade, que acabam sendo destinados a aterros. A utilização desses

resíduos favorece a redução do impacto ambiental causado pelo descarte de resíduos nestes ambientes e torna as rações mais competitivas no mercado (SAN MARTIN; RAMOS; ZUFÍA, 2015). Contudo, a utilização de tais resíduos orgânicos vegetais pode gerar riscos. Diversos contaminantes, incluindo os compostos da classe das dioxinas e das PCBs, podem estar presentes e contaminar outros ingredientes de origem animal como farinhas de ossos, gorduras e óleos, e de origem mineral, utilizados como aditivos. Em um estudo realizado com diversas amostras de ingredientes de origem animal e mineral utilizados na fabricação de produtos para nutrição animal foi detectada contaminação por dioxinas, furanos e PCBs em todas as amostras analisadas, sendo que os resultados variaram de 0,5 a 461 pg PCDD/F (TEQ-OMS)/g. A farinha de carne e de peixe e o caulim (utilizado como aglutinantes na fabricação de rações ) foram os ingredientes animal e mineral respectivamente, com os maiores níveis desses contaminantes (ELJARRAT; CAIXACH; RIVERA, 2002).

Ainda, os contaminantes encontram-se cada vez mais onipresentes no ambiente, sendo capazes assim de contaminar alimentos para animais, causando agravos na saúde destes ou de humanos (KAN; MEIJER, 2007).

### 3.2 ASPECTOS GERAIS DAS DIOXINAS E FURANOS

O avanço industrial ampliou-se e impulsionou a demanda por novos produtos industrializados a partir do século XX, havendo, assim, um aumento da quantidade e variedade de produtos químicos ofertados ao mercado. Como consequência desse avanço, novos compostos orgânicos com uma ampla faixa de grupos funcionais, foram liberados ao meio ambiente nos resíduos industriais, causando a contaminação do ar, solos, água e alimentos, originando problemas ao meio ambiente e à saúde pública devido às altas taxas de poluição (ASSUNÇÃO; PESQUERO, 1999; ALMEIDA *et al.*, 2007).

Dentre tais poluentes, um grupo particular de compostos inseridos na categoria de Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) chamou a atenção de pesquisadores e das organizações de saúde e meio ambiente devido às suas

propriedades toxicológicas, persistência no meio ambiente e resistência à degradação química, biológica e fotolítica. Esses compostos incluem as dioxinas e furanos, que são originados durante as atividades de incineração de resíduos, combustão de madeira e outros combustíveis, processos de fundições e fabricação de produtos químicos (WIKOFF *et al.*, 2012; WONG *et al.*, 2012; RELVAS *et al.*, 2013).

As dioxinas representam um grave risco à saúde humana, ainda que em concentrações muito baixas, pela capacidade de se acumularem no organismo e produzirem efeitos tóxicos, discutidos detalhadamente na seção 3.1.2. A contaminação ocorre principalmente por meio da ingestão de alimentos e, em alguns casos, por exposição ocupacional, estando propícios à contaminação produtos alimentícios de origem animal como carnes, ovos, peixes e laticínios e, conseqüentemente, indivíduos que habitualmente consomem esses alimentos. Com isso faz-se necessário o monitoramento e garantia de qualidade nas diversas etapas da cadeia produtiva de alimentos, envolvendo análise de águas, solos, produtos *in natura* e processados (UHLIG; EICHLER, 2011; FRAWLEY *et al.*, 2014).

### 3.2.1 Propriedades químicas

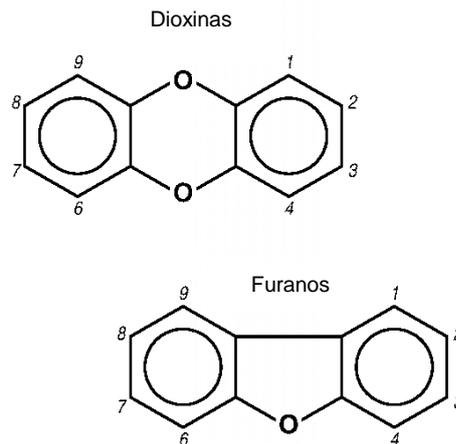
As dioxinas e furanos são compostos aromáticos, planares e tricíclicos caracterizados pela presença de dois anéis benzênicos unidos por um par de átomos de oxigênio (**Figura 1**). Cada um dos átomos de carbono presentes nos anéis aromáticos que não estão ligados ao oxigênio são numerados de 1 a 4 e de 6 a 9, sendo as dioxinas mais tóxicas as que apresentam átomos de cloro nas posições 2, 3, 7 e 8. Elas podem ser obtidas durante a síntese de vários compostos orgânicos, dentre eles, o 2,4,5-triclorofenol, que serve como matéria-prima para a produção de herbicidas, desinfetantes e agente antibacteriano anteriormente utilizado em sabonetes e desodorantes. As dioxinas e furanos apresentam-se na forma pura como sólidos incolores com aspecto de cristais, são praticamente insolúveis em água e em solventes orgânicos polares, mas bastante solúveis em óleos e solventes apolares.

Devido a essas propriedades, as dioxinas e furanos resistem à lixiviação e permanecem no solo. Se absorvidas por vegetais, esses compostos entram na cadeia alimentar e pode haver bioacumulação em tecidos adiposos de animais e humanos após serem absorvidas (CABRITA *et al.*, 2003; MARINKOVIĆ *et al.*, 2010; HITES, 2011).

As dioxinas e os furanos não ocorrem naturalmente (exceto em queimadas e erupções vulcânicas), sendo subprodutos obtidos em processos industriais que envolvem combustão na presença de compostos clorados. A formação de dioxinas foi, inicialmente, relacionada à produção de papel e celulose; contudo, os processos térmicos que envolvem combustão são os principais geradores desses poluentes (GHISELLI; JARDIM, 2007).

A classe das dioxinas e furanos, incluindo seus congêneres, compreende cerca de 210 compostos e podem ser obtidos a partir da combustão incompleta de compostos clorados, catalisadores e de pelo menos uma fonte de carbono, em temperaturas de 200 a 600 °C. A presença de compostos orgânicos como o fenol, precursores clorados e o cobre, que atua como catalizador, favorecem a formação de dioxinas e furanos (CABRITA *et al.*, 2003; MARINKOVIĆ *et al.*, 2010).

As estruturas e propriedades químicas das dioxinas e furanos são semelhantes, sendo a característica que os difere, o número e a posição dos átomos de cloro que se ligam aos anéis benzênicos e a estrutura cíclica central. São descritos 75 congêneres para as dioxinas e 135 para os furanos (ASSUNÇÃO; PESQUERO, 1999; EFSA, 2012).



**Figura 1.** Estrutura geral de dioxinas e furanos.

Fonte: USGS (1998).

### 3.2.2 Propriedades toxicológicas

O envenenamento com dioxinas e furanos pode ocorrer por via oral por meio da ingestão de alimentos contaminados, exposição dérmica ou inalatória, sendo a primeira via a mais prevalente e a última a menos prevalente (SCHECTER et al., 2011).

A toxicidade das dioxinas e de seus análogos é conhecida desde os primórdios da caracterização química desses compostos. Pesticidas, herbicidas e outros produtos químicos contendo altos níveis de dioxinas causaram graves reações tóxicas em trabalhadores de indústrias químicas, como lesões cutâneas, otológicas e renais. Além de produtos domésticos como formulações de higienização de superfícies com características hidrofóbicas e inseticidas, contendo dioxinas, um herbicida usado pelo exército americano entre as décadas de 60 e 70, na guerra do Vietnã, para destruir a cobertura vegetal de inimigos e, conseqüentemente, os suprimentos alimentares, ficou conhecido como “agente laranja”. Esse produto continha altos níveis de dioxinas, o que resultou em graves conseqüências aos vietnamitas e até mesmo aos soldados americanos que o manusearam (LE; JOHANSSON, 2001; MARINKOVIĆ et al., 2010).

Dente os 210 compostos, apenas 17 apresentam toxicidade. 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (2,3,7,8-TCDD) é conhecido como o composto mais tóxico das dioxinas, de forma que os demais 16 compostos têm seu potencial tóxico definido em relação a ele (MARINKOVIĆ *et al.*, 2010). Visando quantificar a toxicidade desses compostos, a Organização Mundial de Saúde (OMS) atribuiu fatores de equivalência de toxicidade (TEFs). Os TEFs expressam a toxicidade de cada composto quando comparada com o 2,3,7,8-TCDD, de mais alto potencial tóxico, para o qual é atribuído valor 1. Desta forma, a toxicidade equivalente (TEQ) para o somatório de dioxinas, furanos e PCBs é definida com base nos OMS-TEF de cada congêneres, ou seja, por meio da soma da concentração de cada composto multiplicada pelo respectivo TEF (DEMOND *et al.*, 2012).

Os TEFs definidos pela OMS, em 2005, incluíram fatores de 1 para 2,3,7,8-TCDD e 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina (1,2,3,7,8-PeCDD); fator de 0,3 para 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano (2,3,4,7,8-PeCDF); fatores de 0,1 para 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano (2,3,7,8-TCDF), 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano (1,2,3,4,7,8-HxCDF), 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano (1,2,3,6,7,8-HxCDF), 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano (2,3,4,6,7,8-HxCDF), 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina (1,2,3,4,7,8-HxCDD), 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina (1,2,3,6,7,8-HxCDD), 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina (1,2,3,7,8,9-HxCDD) e 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano (1,2,3,7,8,9-HxCDF); fator de 0,03 para 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano (1,2,3,7,8-PeCDF); fatores de 0,01 para 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano (1,2,3,4,6,7,8-HpCDF), 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina (1,2,3,4,6,7,8-HpCDD) e 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano (1,2,3,4,7,8,9-HpCDF); e fatores de 0,0003 para octaclorodibenzo-p-dioxina (OCDD) e octaclorodibenzofurano (OCDF) (VAN DER BERG *et al.*, 2006; USEPA, 2010).

O 2,3,7,8-TCDD apresentou o mais baixo valor de dose letal para 50 % da população (DL<sub>50</sub>) conhecido, sendo necessário apenas 0,6 mg/kg de peso corporal para dizimar 50 % dos cobais machos (porquinhos da Índia). Ou outros compostos congêneres de dioxinas e furanos, ainda que em menor

proporção, também apresentaram considerável toxicidade e muitos deles produzem efeitos agudos e crônicos (HITES, 2011).

Ao entrar no organismo humano, parte das dioxinas pode ser metabolizada no fígado e outra parte se acumula nos tecidos adiposos. Para serem eliminadas do organismo, tais substâncias necessitam ser biotransformadas por mecanismos bioquímicos que envolvem o complexo enzimático citocromo P450, para que se tornem mais polares, sendo que cada análogo tem uma meia-vida diferente e bastante extensa, sendo que para o 2,3,7,8-TCDD esse tempo varia entre cinco e 11 anos. De modo geral, a eficiência da eliminação de dioxinas é dependente da dose, idade, teor de gordura corporal e capacidade renal, sendo que homens mais jovens demonstraram uma melhor capacidade de eliminação (AYLWARD *et al.*, 2005; MARINKOVIĆ *et al.*, 2010).

A exposição às dioxinas e a compostos relacionados a elas resulta em vários agravos à saúde. Entre 1968 e 1971, em Yusho, no Japão, a população foi exposta a óleo de arroz contaminado com dioxinas e furanos. Estudos mostraram que a exposição às dioxinas interferiu no metabolismo ósseo prejudicando a mineralização. Tal mecanismo explicou alterações na densidade mineral óssea de pacientes expostos no referido acidente (FUKUSHI *et al.*, 2016).

Ao se avaliar células dos epitélios nasal e bucal de cidadãos residentes nas áreas rurais do Vietnã, 40 anos depois da aplicação do “agente laranja”, que continha altos níveis de dioxinas, foram constatadas células com membranas danificadas e algumas alterações no processo de apoptose, indicando que a exposição a esses compostos contendo dioxinas afetou o perfil morfológico das células dos habitantes daquela região (SYCHEVAA *et al.*, 2016).

Existem variações na exposição e na sensibilidade dos seres humanos às dioxinas. Fetos e recém-nascidos são mais sensíveis, sendo que podem desenvolver teratogênese, quando expostos. Recém-nascidos também podem ser expostos às dioxinas por meio do leite materno quando o contaminante estiver presente, causando agravos à saúde desses neonatos. Em jovens e

adultos, níveis elevados de dioxinas são capazes de causar intoxicação aguda, que inclui danos nas funções hepáticas e doenças inflamatórias de pele, caracterizadas por erupções, cistos escuros e hiperpigmentação (cloroacne), as quais prevalecem na face, ombros e tórax (SORG *et al.*, 2009; MARINKOVIĆ *et al.*, 2010).

A exposição às dioxinas em longo prazo está associada a distúrbios imunológicos, do sistema endócrino, transtornos da tireoide, distúrbios broncopulmonares, doenças neurológicas, e distúrbios no sistema reprodutor, podendo alterar a espermatogênese e reduzir o tamanho da próstata e testículos em homens. O acúmulo destes compostos no organismo humano pode contribuir para o desenvolvimento de aterosclerose, hipertensão e diabetes (MARINKOVIĆ *et al.*, 2010).

Classificado como um carcinógeno humano conhecido pela IARC, a 2,3,7,8-TCDD é pertencente ao grupo 1 assim como 2,3,4,7,8-PeCDF, que apresenta evidências suficientes de carcinogenicidade em humanos e animais. As PCBs semelhantes às dioxinas, como a PCB 126 possuem esta mesma propriedade e também estão inseridas nesse grupo. Esses compostos e seus congêneres são capazes de aumentar a incidência de câncer gastrointestinal, neoplasias linfáticas e hematopoiéticas, dentre outros tecidos. Outras dioxinas e furanos pertencem ao grupo 3, devido ao fato de apresentarem evidências inadequadas de carcinogenicidade em humanos e limitada em animais. (BERTAZZI *et al.*, 1998; SCHOFFER *et al.*, 2011; IARC, 2012).

A USEPA (*United States Environmental Protection Agency*), propôs como dose segura considerando a exposição oral crônica o valor de  $7 \times 10^{-10}$  mg/kg de peso corporal diário (EPA, 2012).

### 3.3 LEGISLAÇÃO PARA ALIMENTOS

Visando assegurar a verificação do cumprimento da legislação referente a gêneros alimentícios, a União Europeia estabeleceu dentre outros parâmetros, critérios para controle dos teores dioxinas, furanos e PCBs em alimentos. Para esse controle, devem ser observados todos os critérios de

amostragem, requisitos de qualidade aplicados aos laboratórios e aos métodos. (UE, 2014).

Os valores de dioxinas estabelecidos pela União Europeia variam de 0,75 a 4,5 pg de PCDD/F(TEQ-OMS)/g para diferentes matrizes alimentares que incluem óleos vegetais, ovos, leite, gordura animal e os seus subprodutos. Se forem consideradas as somas das dioxinas e dos PCBs na avaliação esses valores podem variar entre 1,25 até 20 pg de PCDD/F-PCBs (TEQ-OMS)/g nessas mesmas matrizes. Especificamente, para gordura de aves o limite regulamentado é de 1,75 pg de PCDD/F(TEQ-OMS)/g de gordura (UE, 2011). No Brasil, os limites estabelecidos para produtos destinados à alimentação animal encontram-se relacionados na **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Limites de contaminação de dioxinas e furanos para diferentes ingredientes destinados à nutrição animal.

Analito	Matriz	Limite máximo em ng PCDD/F (TEQ-OMS)/kg de alimento ou pg/g (1) para um teor de umidade de 12 %
Dioxinas - soma das dibenzo-para-dioxinas policloradas (PCDD) e dos dibenzofuranos (PCDF), expressa em equivalente tóxico OMS com base nos fatores de equivalência tóxica da OMS (TEF-OMS) de 2005	Óleos vegetais, seus subprodutos e ingredientes de origem mineral	0,50
	Gordura animal (incluindo gordura de leite e ovos)	1,5
	Produtos de animais terrestres como subprodutos de leite e ovos, rações para animais e aditivos para alimentação animal (como caulim, vermiculita, aluminossilicatos, etc.)	0,75
	Óleo de peixe	5,0
	Peixes, outros animais aquáticos e seus derivados	1,25
	Proteína hidrolisada de peixe e farinha de crustáceos, alimentos completos para animais e rações para peixes	1,75
	Aditivos para alimentação animal pertencentes ao grupo dos oligoelementos	1,0

Fonte: BRASIL (2016).

No Brasil, no âmbito do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) em Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) são realizadas análises para dioxinas e furanos desde 2012, sendo previsto, anualmente, o monitoramento de 60 amostras de gordura de aves tendo como limite máximo para a soma dos compostos de 1,75 ng de PCDD/F (TEQ-OMS)/kg de gordura. No ano de 2013, a matriz músculo de pescado foi incluída no Plano, sendo programadas análises de dioxinas, furanos e PCBs em cerca de 60 amostras de pescado de cultivo e 60 (75 no ano de 2015) de pescado de captura, por ano (BRASIL, 2012; BRASIL, 2013a; BRASIL, 2014a; BRASIL, 2015a).

### 3.4 CONTAMINAÇÃO DE ALIMENTOS POR DIOXINAS E FURANOS

Os alimentos são vulneráveis a vários tipos de contaminação como: i) químicas, que incluem vários grupos de substâncias; ii) biológicas, que além de micro-organismos podem incluir proteínas, toxinas e outros materiais biológicos; e iii) físicas, que compreendem radiações e corpos estranhos que podem ser incorporados antes ou durante o beneficiamento dos alimentos. Os contaminantes podem ser provenientes de diferentes fontes, sendo alguns transmitidos ao longo da cadeia alimentar. Em especial, vários contaminantes químicos são capazes de apresentar toxicidade aos humanos e animais mesmo em baixos níveis, produzindo efeitos crônicos ou agudos, de acordo com o tempo e nível de exposição (BASTOS *et al.*, 2011).

A presença de dioxinas nos alimentos está relacionada à contaminação ambiental, entretanto, elas também podem contaminar os alimentos durante o processamento, como por exemplo em alguns processos de desidratação quando aplicadas temperaturas superiores a 210 °C. Um estudo sobre a contaminação de alimentos caracterizou as dioxinas entre os mais perigosos contaminantes produzidos pelo ser humano. Este estudo apontou que a presença de dioxinas em óleos e gorduras para fins culinários pode ter sido responsável pela contaminação de 1 % a 3 % do total utilizado para fabricação

de produtos alimentícios comercializados na Europa destinados a seres humanos e animais (FURST, 2011; CODEX ALIMENTARIUS, 2012).

Outro aspecto relacionado às contaminações por dioxinas e furanos é que elas não são capazes de causar alterações sensoriais como sabor ou odor em concentrações de picogramas. A divulgação nos meios de comunicação acerca dos alimentos orgânicos é voltada para a garantia de segurança alimentar pelo fato de serem considerados mais saudáveis que alimentos convencionais, isto é, possivelmente expostos a agrotóxicos. Contudo, as dioxinas podem contaminar alimentos orgânicos ou não pelo ar. Sendo assim, ovos e vegetais oriundos de áreas rurais abertas podem conter quantidades significativas de dioxinas, especialmente se comparados a ovos de aves obtidos de ambientes como granjas fechadas ou de vegetais cultivados em estufas. Por outro lado, a carne ou os subprodutos de animais criados confinados também podem ser contaminados por dioxinas e furanos se estes receberem uma alimentação de má procedência que contenha tais contaminantes. Contudo, é esperado que os órgãos públicos estaduais e federais trabalhem em prol da segurança alimentar, visando o controle da contaminação por dioxinas (FURST, 2011).

A principal fonte da exposição humana às dioxinas e furanos são os alimentos de origem animal. Estima-se que 80 % a 90 % da exposição seja proveniente do consumo de carne, gorduras de peixe e produtos lácteos contaminados (CODEX ALIMENTARIUS, 2012).

Consideradas bons indicadores biológicos, as aves marinhas podem ser focos de estudo para a poluição nos ecossistemas aquáticos. O aumento considerável das descargas de produtos químicos no ambiente marinho tem proporcionado contaminantes químicos persistentes capazes de se acumular em organismos e serem transmitidos ao longo da cadeia alimentar afetando outras espécies. Dentre esses contaminantes, as dioxinas e furanos podem ser usados como exemplos. Em estudo feito com aves coletadas na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil, as medições desses compostos não apresentaram níveis críticos, entretanto, o controle é imprescindível e desejável

para que esses valores não tangenciem níveis tóxicos (FERREIRA; WERMELINGER, 2013).

Visando diminuir os custos com a nutrição animal, especialmente bovinos, e melhorar o aproveitamento de resíduos, a polpa cítrica proveniente do processamento de citrinos, principalmente laranja, vem sendo amplamente utilizada em uma proporção que pode chegar a mais de 3 kg/dia para cada animal. Pesquisas nacionais atribuem a lotes de polpas cítricas contaminados com dioxinas enfermidades que afetaram vacas leiteiras. As alterações de saúde dos animais se caracterizavam por febre, dermatites e alterações sanguíneas, como anemias e hemorragias, culminando em aumento da mortalidade. A situação estendeu-se para fora do Brasil, uma vez que o país é exportador de farelo de polpas cítricas, amplamente utilizado como parte da nutrição do gado europeu. A descoberta ocorreu devido aos altos níveis de dioxinas presentes em amostras de leite na Alemanha, que a União Europeia atribuiu à contaminação das polpas cítricas, embargando as importações. Tempos depois, constatou-se que as polpas realmente estavam contaminadas, entretanto, as dioxinas eram provenientes da matéria-prima óxido de cálcio, utilizada como neutralizante no processamento destes produtos (GREENPEACE, 1999; TOKARNIA *et al.*, 2001).

Resultados do PNCRC do MAPA do período de 2012 a 2014 indicaram que todas as amostras de gordura de aves analisadas (60 no ano de 2012, 64 no ano de 2013 e 14 no ano de 2014) apresentaram resultados menores que os limites regulamentados e, portanto, foram consideradas conformes. Mesmo perfil de resultados foi evidenciado para amostras de pescado de captura (20 em 2012, 59 em 2013 e 38 em 2014) e de cultivo (28 em 2012, 62 em 2013 e 62 em 2014) (BRASIL, 2013b; BRASIL, 2014b; BRASIL, 2015b).

Um relatório da União Europeia, contendo dados do monitoramento de dioxinas, furanos e PCBs em alimentos e matérias-primas para fabricação de produtos para alimentação animal, envolvendo 13.797 amostras, compreendidas entre 1995 e 2010, permitiu concluir que ao menos um congêneres foi identificado e pôde ser quantificado em todas as amostras, sendo que as amostras de origem animal possuíam níveis mais elevados

comparados às de origem vegetal, com destaque para peixes e derivados (EFSA, 2012).

Os níveis de dioxinas, furanos e PCBs excederam os limites regulamentados em 9,7 % das amostras de alimentos e 2,3 % das amostras de produtos para nutrição animal. No geral, amostras de ovos de produtos de granja ou espécies de peixes criados em viveiros apresentaram menores teores de contaminação quando comparados aos produtos orgânicos ou caipiras e peixes selvagens, respectivamente. Também foi possível observar uma diminuição nos níveis de contaminantes ao longo do tempo do monitoramento, que provavelmente foi consequência das medidas europeias para gestão de risco visando reduzir a exposição da população, mas também do aumento na sensibilidade dos métodos analíticos, o que permitiu a detecção de níveis mais baixos (EFSA, 2012).

### 3.5 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE DIOXINAS EM ALIMENTOS

As dioxinas, os PCB e seus congêneres tóxicos devem ser detectados em tempo real em que seja aplicado um método de rápida detecção capaz de conter a contaminação ao longo da cadeia alimentar. Os métodos utilizados dependem de equipamentos e reagentes de alto custo e mão-de-obra qualificada. A quantificação desses compostos é um grande desafio, visto que existem inúmeras matrizes alimentares que podem ser contaminadas, os níveis permitidos para contaminação são muito baixos e podem ocorrer interferências de outros compostos orgânicos em diferentes metodologias analíticas (REINER, 2010; CHOBTANG *et al.*, 2011).

Os trabalhos mais recentes têm a CG-EMAR como técnica mais frequentemente utilizada (ANEXO I), devido aos baixos limites de detecção e a confiabilidade dos resultados. A análise de dioxinas, furanos e PCBs por esta técnica é mais indicada para quantificar e confirmar a presença de congêneres mesmo em níveis muito baixos, no entanto, a técnica de CG acoplada à espectrometria de massas em modo *tandem* (CG-EM/EM) tem se mostrado uma alternativa promissora. Esses métodos apresentam como fator limitante a

taxa de transferência de amostra, além de ser de alto custo. Como alternativas disponíveis, existem técnicas de triagem que incluem os bioensaios, Tais técnicas também exigem preparações sofisticadas, laboratórios bem equipados e requerem tempo de alguns dias para fornecerem resultados (HOOGENBOOM *et al.*, 2006; HOOGENBOOM *et al.*, 2015).

Os bioensaios destinados à detecção de dioxinas geralmente utilizam células modificadas capazes de reagirem à presença de substâncias tóxicas, sendo o grau da contaminação medido pela resposta celular, que ocorre mediante a ligação de compostos a um receptor intracelular de hidrocarbonetos aromáticos. O aumento da resposta pode ser promovido pela adição de substratos específicos. Uma das metodologias já utilizadas em pesquisa consiste na inserção de genes, como o da luciferase, capazes de emitir luz quando expresso. O princípio destes ensaios é quantificar a fluorescência, correlacionada à produção de biomoléculas pelas células que são marcadores específicos, após a exposição às dioxinas em diferentes concentrações (GARRISON *et al.*, 1996; HOOGENBOOM *et al.*, 2006; CHOBTANG *et al.*, 2011).

Uma das alternativas existentes para a detecção de dioxinas consiste no uso de anticorpos em ensaios imunológicos. É necessário ressaltar, porém, que a incapacidade de diferenciar outros contaminantes de dioxinas e a sensibilidade a solventes orgânicos usados no preparo das amostras representam desvantagens para o uso em larga escala. O uso de imunoenaios ainda requer otimização e validação, a fim de permitir sua aplicação para mensuração dos níveis de contaminantes em alimentos e rações mais rapidamente que os métodos analíticos convencionais (CHOBTANG *et al.*, 2011).

De maneira geral, os métodos analíticos para análise de contaminantes orgânicos em alimentos, possuem como características comuns uma complexa etapa de extração que emprega grandes volumes de solventes, além da etapa purificação (*clean-up*), visto que as matrizes analisadas são muito complexas. Os métodos podem ser considerados de alto custo também devido ao emprego da técnica de CG-EMAR (PRESTES, ADAIME, ZANELLA, 2011).

As etapas de extração e purificação são importantes para remoção de substâncias interferentes durante análise de dioxinas e furanos, tais como alguns PCBs e outros compostos orgânicos como éteres difenílicos clorados. Em função disso, emprega-se o uso de colunas de diferentes materiais sendo mais comumente utilizado sílica ácida e básica para oxidação da matéria orgânica e técnicas cromatográficas que utilizam colunas de carbono, alumina ou florisil. As etapas de purificação e extração tradicionais são caracterizadas por longos tempos e um grande consumo de reagentes e solventes, uma tendência tem sido a miniaturização de alguns processos e automatização de algumas etapas (ZULOAGA *et al.*, 2012; UE, 2014).

### 3.6. ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA

#### 3.6.1 *Definição e importância*

Os ensaios de proficiência são avaliações de desempenho de laboratórios participantes contra critérios pré-estabelecidos por meio de comparações interlaboratoriais. Esses ensaios têm dentre seus objetivos monitorar individualmente os resultados dos laboratórios e utilizar esses dados para o monitoramento da qualidade da execução das metodologias analíticas (ISO, 2015; INMETRO, 2016).

Na área de alimentos, a oferta de ensaios de proficiência ainda é bastante restrita, especialmente no Brasil. Entretanto, esses ensaios são de grande importância, pois são ferramentas de qualidade que permitem avaliar a habilidade dos laboratórios participantes em obter resultados com precisão e veracidade (ROSAS *et al.*, 2010).

#### 3.6.2 *Normas e Documentos de Referência*

Diversos documentos foram elaborados no sentido de orientar e de normalizar o processo de provimento de EPs, bem como as análises

estatísticas aplicáveis a tais comparações interlaboratoriais. Na **Tabela 3**, a seguir, foram relacionadas as principais normas e guias publicados sobre o tema, em ordem cronológica.

**Tabela 3.** Protocolos harmonizados, guias e normas relacionados a ensaios de proficiência

Ano	Documento		
	Código	Título	Edição
1984	ISO/IEC Guide 43	Development and operation of laboratory proficiency testing	1 <sup>a</sup>
1993	IUPAC	The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories	1 <sup>a</sup>
1997	ISO/IEC Guide 43-1 e 43-2	Proficiency testing by interlaboratory comparisons: Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes Part 2: Selection and use of proficiency testing schemes by laboratory accreditation bodies	2 <sup>a</sup>
2005	ISO 13528	Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons	1 <sup>a</sup>
2006	IUPAC	The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories	2 <sup>a</sup>
2010	ISO/IEC 17043	General requirements for proficiency testing	1 <sup>a</sup>
2011	ABNT ISO/IEC 17043	Requisitos gerais para os ensaios de proficiência	1 <sup>a</sup>
2015	ISO 13528	Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison	2 <sup>a</sup>

### 3.6.3 Organização

A responsabilidade da ininterrupta confiança no desempenho dos laboratórios é fundamental não só para estes, mas para seus clientes, órgãos de acreditação e órgãos reguladores. Nas avaliações interlaboratoriais, contemplam-se diversos propósitos como o monitoramento do desempenho contínuo, a avaliação de desempenho para medições e ensaios específicos, o levantamento de problemas e propostas de ações corretivas, a avaliação das características de precisão de um ou mais métodos, atribuição de valores para MRs, e embasamento nas declarações de organizações associadas. Desta forma, os provedores responsáveis por conduzir os EPs, devem possuir competências técnicas para realizar as comparações entre laboratórios, além

de fornecer as amostras padronizadas entre os participantes de uma forma simultânea. Na conclusão, os provedores devem fornecer indicações do desempenho dos participantes individualmente e perante o grupo participante, sendo que orientações devem ser propostas com objetivos de promover melhorias (ABNT, 2011).

#### 3.6.3.1 Preparo e avaliação dos itens de ensaio

Para que os projetos de certificação e avaliação de EPs sejam conduzidos de maneira segura e confiável, é necessário que as amostras distribuídas atendam a quesitos de homogeneidade e estabilidade. Além de ser representativo do lote produzido, o material deve atender dois importantes pontos que envolvem a homogeneidade: homogeneidade dentro de cada recipiente e entre as unidades analíticas. A estabilidade deve ser considerada, pois diversas matrizes alimentares são misturas complexas, devendo ser avaliadas também as condições de transporte, preparo e armazenamento. Tratamentos como secagem, congelamento e irradiação são alternativas que devem ser estudadas a fim de detectar o melhor método a ser empregado (ABNT, 2012; NUNES, 2015).

Tanto os testes de homogeneidade quanto os de estabilidade nos EPs baseiam-se em requisitos da norma ISO 13528 e em um documento da IUPAC, devendo ser empregados testes estatísticos adequados (ISO, 2015; THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006).

#### 3.6.3.2 Determinação do valor designado e sua incerteza

O valor designado é definido por uma estimativa do valor mensurado que é utilizada para calcular os índices. A determinação desse pode ser realizada de diferentes maneiras: o valor é definido a partir de um valor de um material de referência; a determinação é feita por um laboratório de referência capacitado para o escopo em questão; o valor é calculado a partir da média e

desvio padrão dos resultados dos participantes após o tratamento de *outliers*. (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006; ISO, 2015).

A incerteza deve ser a menor possível, pois incertezas maiores ampliam chances de decisões incorretas e dispendiosas baseada em dados analíticos. Custos, necessidade de valores designados independentes, requisitos legais de consistência em relação a alguns laboratórios e outros requisitos específicos, são fatores a serem considerados na escolha do método para determinação do valor designado e sua incerteza (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006; ISO, 2015).

#### 3.6.3.3 Determinação do desvio padrão alvo

Nos EPs, o desvio padrão que avalia o desempenho dos laboratórios geralmente é calculado baseando-se na norma ISO 13528, que se fundamenta em modelos já estabelecidos, e tem a precisão interlaboratorial expressa em termos de um desvio padrão de reprodutibilidade (INMETRO, 2010). Esse desvio pode ser estimado de algumas formas, incluindo: modelo proposto por Horwitz em que a precisão interlaboratorial é estimada em termos de desvio padrão de reprodutibilidade. Modificações foram pospostas a esse modelo, levando-se em consideração os níveis de concentração do analito, expressos em fração mássica (THOMPSON, 2000); ii) valores previstos pela legislação. Por exemplo, a União Europeia adota, para o escopo dioxinas e furanos, desvios de 20 % para os congêneres individuais e de 10 % para o somatório TEQ (UE, 2014); e iii) incerteza declarada para MRC, nos casos de EPs conduzidos com estes tipo de materiais (INMETRO, 2010).

O desvio padrão analítico é capaz de interferir na variação analítica. Estas podem mascarar importantes variações nas amostras se este desvio não é pequeno (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006).

#### 3.6.3.4 Avaliação do desempenho dos participantes

Os laboratórios são avaliados baseando-se na diferença apresentada entre seu resultado e o valor designado. Um esquema estatístico detalhado é utilizado para calcular o índice de desempenho para cada laboratório (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006).

#### *3.6.4 EP nacionais e internacionais para dioxinas e furanos*

Um ensaio de proficiência na área de dioxinas foi realizado na Europa, em 1991, envolvendo oito países, contou com a participação de setenta laboratórios que deveriam determinar dezessete compostos congêneres das dioxinas e seu somatório TEQ, usando método analítico quantitativo de sua preferência em matrizes obtidas de lodo contaminado. A avaliação do desempenho desses laboratórios revelou que algumas amostras exigiram dos laboratórios algumas adaptações do método e que erros sistemáticos foram resultantes da metodologia analítica empregada. A maioria dos laboratórios exibiu alto nível de competência para análise das dioxinas (LINDIG, 1998).

Em 2003, um EP envolveu 77 laboratórios de 24 países com matrizes alimentares contaminadas com diferentes níveis de dioxinas. Mais que oferecer um instrumento de garantia de qualidade ao laboratório participante, o objetivo do estudo era, sobretudo, avaliar a capacidade dos laboratórios em obter resultados confiáveis através de métodos analíticos para níveis de dioxinas em alimentos regulares, usando três matrizes: carne de peru, filé de salmão e queijo (HAUG; BROADWELL; BECHER, 2003). Foram analisados em cada amostra 29 analitos com atribuições de TEQ. A maioria dos laboratórios apresentou resultados com veracidade satisfatória, alta similaridade nas técnicas analíticas de separação e detecção (CG e EM), contudo, houve significativa variação nos métodos de preparo das amostras. O estudo permitiu concluir que os laboratórios apresentaram desempenho adequado para determinação de dioxinas em alimentos quando essas estavam em níveis de contaminação elevados como as amostras de filé de salmão que apresentavam níveis de 167 pg (TEQ-OMS)/g de gordura. Entretanto, devido a limites muito baixos de detecção ou a provável contaminação de amostras em branco, o

autor atribuiu a alguns laboratórios apresentaram dificuldades para quantificação em níveis mais baixos como as amostras de queijo nas quais os valores eram de apenas 0,37 pg (TEQ-OMS)/g de gordura (HAUG; BROADWELL; BECHER, 2003).

Embora existam alguns estudos internacionais de avaliação interlaboratorial envolvendo a determinação de dioxinas e furanos em diferentes matrizes alimentares, como diferentes tipos de leite e pescado, existe ainda uma carência de ensaios para o referido escopo em uma diversidade de alimentos para consumo humano e animal (podendo ser citados carne de frango e alguns vegetais) (BECHER; HAUG; THOMSEN, 2004).

Na **Tabela 4** encontram-se relacionados os EP disponibilizados para dioxinas e furanos em diferentes matrizes, os quais foram registrados nas bases de dados EPTIS e *European Union Reference Laboratory* até o ano de 2016. Embora nenhum EP provido no Brasil, tenha sido reportado na base EPTIS e na literatura para o escopo dioxinas e furanos em alimentos, o MAPA realizou, em 2014, um EP destinado à determinação de dioxinas e furanos em filé de pescado contaminado com dioxinas e furanos de relevância toxicológica, numa faixa entre 1 e 500 pg/g, envolvendo 11 laboratórios participantes de cinco diferentes países. Dentre esses, nove reportaram resultados dentro do prazo (MAPA, 2014).

**Tabela 4.** Ensaios de proficiência para escopos de determinação de dioxinas e furanos em diferentes matrizes

<b>Matriz</b>	<b>Ano</b>	<b>Provedor</b>	<b>País</b>	<b>Base de Dados</b>
Sepiolita (mineral)	2006	NI	NI	EU-RL
Amostras de alimentos	2007	Norwegian Institute of Public Health	Noruega	EU-RL
Argila	2007	NI	NI	EU-RL
Goma Guar	2008	NI	NI	EU-RL
Óleo de peixe	2008	NI	NI	EU-RL
Salsicha em conserva	2009	NI	NI	EU-RL
CEN PT	2010	RIKILT	Holanda	EU-RL
Gordura animal	2010	NI	NI	EU-RL
Gramma	2011	NI	NI	EU-RL
Peixe e óleo de peixe	2011	NI	NI	EU-RL
Água potável	2012	Sigma-Aldrich RTC, Inc.	Estados Unidos	EPTIS
Salsicha e banha de porco	2012	NI	NI	EU-RL
Ovos de galinha	2012	NI	NI	EU-RL
Água potável	2013	ERA	Estados Unidos	EPTIS
Gordura animal	2013	NI	NI	EU-RL
Leite	2013	NI	NI	EU-RL
Sepiolita (mineral)	2014	NI	NI	EU-RL
Alimentos para animais e matérias-primas utilizadas na fabricação destes	2015	DUCARES BV	Holanda	EPTIS
Ovos	2016	DRRR - Deutsches Referenzbüro für Lebensmittel-und Ringversuche Referenzmaterialien GmbH	Alemanha	EPTIS
Solo, lodo	2016	LABSERVICE ANALYTICA Srl - div. INTERCIND	Itália	EPTIS
Leite em pó, peixe, carne defumada, chouriço, cereais e óleos.	2016	BIPEA Proficiency Testing	França	EPTIS

Fonte: KOTZ *et al.*, 2014; EPTIS, 2016. NI – Não informado

## 4. MATERIAS E MÉTODOS

### 4.1.EQUIPAMENTOS

- Agitadores de tubos tipo Vortex (Ika, MS 3 basic).
- Agitador mecânico (Fisatom, 713 T).
- Balança analítica com resolução 0,0001 g e capacidade máxima de 220,0000 g, calibrada (Shimadzu, AUX 220).
- Balança analítica com resolução de 0,01 g e capacidade máxima de 620,00 g, calibrada (Shimadzu, UX 620H).
- Banho aquecedor com fluxo de nitrogênio (Caliper, Turbo Vap).
- Banho termostático (Fanem 116B).
- Bloco aquecedor com fluxo de nitrogênio (Pierce, React-Therm).
- Bomba peristáltica (Watson-Marlow 520Di/L 350 rpm US IP31).
- Congelador Biomedical -30 °C/-20 °C (Sanyo, MDF-U537D).
- Cromatógrafo (Agilent, 6890N) com injetor split/splitless (Agilent, 7683B).
- Espectrômetro de massas de alta resolução (Waters, AutoSpec Premier Dioxin System).
- Estufa para secagem (Heraeus Vacutherm, VT 6000).
- Forno de micro-ondas (Eletrolux ME18S).
- Micropipetas automáticas de 10 µL a 1000 µL calibradas (Nichiryo, Nichipet Ex e Gilson, P1000).
- Micropipeta eletrônica monocanal de 20 µL a 300 µL calibradas (Eppendorf, Eppendorf Research®pro 20-300 µL).
- Mufla (Thermolyne Furnace, 30400).
- Refrigeradores (Consul, CRC24CBANA e Eletrolux, DFF37 Premium).
- Sistema de evaporação a vácuo com banho aquecedor (Buchi, Multivapor P6).
- Sistema de purificação de água (Millipore, Direct Q 3UV).
- Termômetros digitais tipo cabo sensor, com memória de máxima e mínima, calibrados (Incotherm).
- Viscosímetro (Brookfield RVDVE).

## 4.2 MATERIAIS

- Algodão hidrófilo.
- Balões volumétricos de 5 mL e 10 mL calibrados.
- Bandejas de aço inox.
- Béqueres de 100 e 600 mL.
- Cápsulas de porcelana.
- Coluna cromatográfica capilar para GC-MS, tipo HP-5MS baixo sangramento de 60 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura do filme Agilent J&W Columns.
- Coluna de vidro (25 mm de diâmetro e altura mínima de 25 cm) com torneira e reservatório.
- Coluna de vidro (10,5 mm de diâmetro e altura mínima de 20 cm) com torneira e reservatório.
- Dessecador de vidro com sílica dessecante.
- Facas de inox.
- Frasco de Turbo Vap.
- Frasco de vidro âmbar de 150 g com tampa de rosca metálica.
- Frasco Scotth Duran®.
- Frasco de multievaporador.
- Frascos de vidro para guarda de solução padrão de 20 mL.
- Funil de haste de vidro.
- Luvas de nitrila descartáveis.
- Máscaras descartáveis.
- Papel de filtro de fibra de vidro ou de celulose de 30 mm (Dionex Corporation).
- Pêra de borracha para pipeta de Pasteur.
- Pipeta de Pasteur, de vidro boro silicato, de 150 mm.
- Pinça de inox.
- Ponteiras para micropipetas automáticas.
- Provetas de 25, 50 e 100 mL.

- Vial de 2 mL com insert de 200 µL para injetor automático.

#### 4.3 REAGENTES

- Ácido Sulfúrico 95-97 % grau para análise (PA) Sigma-Aldrich.
- Celite (terra diatomácea) ácida para cromatografia (grau reagente) Supelco.
- Diclorometano grau para análise de resíduos (PAR) Scharlau.
- Florisil, tamanho de partícula 0,15 mm a 0,25 mm (60 mesh a 100 mesh) Sorbline.
- Gás hélio 5.0 analítico, com sistema de fornecimento – White Martins.
- Gás nitrogênio industrial, com sistema de fornecimento – White Martins.
- Hexano PAR Scharlau.
- Nonano PAR Scharlau.
- Sílica gel 60 para cromatografia em coluna 0,063 mm a 0,2 mm (70 mesh a 230 mesh) Macherey-Nagel.
- Sulfato de sódio anidro PA Sigma-Aldrich.

#### 4.4 SOLUÇÕES E MISTURAS

- Soluções de padrões nativos de dioxinas e furanos (EPA1613 Stock ou EDF7999-10x) para os congêneres 2,3,7,8-TCDF, 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8-PeCDD, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 2,3,4,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDD, 1,2,3,7,8,9-HxCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD, 1,2,3,7,8,9-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF, OCDD e OCDF: 400 pg/µL para tetras, 2.000 pg/µL para pentas, hexas e heptas, e 4.000 pg/µL para octas – Welington Laboratories 98% de pureza.
- Soluções estoque de dioxinas e furanos foram preparadas por diluição de alíquotas de 1000 µL das soluções de padrões nativos de dioxinas e

furanos em 10 mL de nonano: 40 pg/μL para tetras, 200 pg/μL para pentas, hexas e heptas e 400 pg/μL para octas (preparada internamente).

- Soluções intermediárias de dioxinas e furanos foram preparadas por diluição de alíquotas de 500 μL das soluções estoque de dioxinas e furanos para 10 mL, de nonano: 2 pg/μL para tetras, 10 pg/μL para pentas, hexas e heptas e 20 pg/μL para octas (preparada internamente).
- Soluções de padrões internos isotopicamente marcados para dioxinas e furanos (EPA1613LCS ou EDF8999), congêneres <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-2,3,7,8-TCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-2,3,7,8-TCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,7,8-PeCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,7,8-PeCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-2,3,4,7,8-PeCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,4,7,8-HxCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,7,8,9-HxCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-2,3,4,6,7,8-HxCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,4,7,8-HxCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,6,7,8-HxCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF e <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-OCDD: 100 pg/μL para tetras, pentas, hexas e heptas, e 200 pg/μL para octas – Wellington Laboratories 98% de pureza.
- Soluções de padrões de seringa isotopicamente marcados para dioxinas (EPA-1613ISS ou EDF5999), congêneres <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,4-TCDD e <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-1,2,3,7,8,9-HxCDD: 200 ng/mL – Wellington Laboratories 98% de pureza química e 99% de pureza isotópica.

#### 4.5 AMOSTRAS

As amostras de gordura de aves (frango) não contaminadas (aproximadamente 20 kg) e naturalmente contaminadas (aproximadamente 10 kg) em níveis quantificáveis de 0,94 até 7,85 pg PCDD/F(TEQ-OMS)/g foram obtidas em parceria com o Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO-MG), situado em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brasil. Tais amostras foram coletadas no decorrer dos anos de 2015 e 2016, pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) e mantidas embaladas com papel alumínio, sob congelamento entre -16 °C e -20 °C, até o momento do preparo do material.

## 4.6 MÉTODO ANALÍTICO

O método de análise de dioxinas e furanos em gordura de aves foi baseado no publicado por AUGUSTI *et al.* (2014), com algumas adaptações. Tal método foi validado para a matriz pescado sendo acreditado segundo requisitos da norma ISO 17025 (ABNT, 2005).

### 4.6.1 Extração

#### 4.6.1.1 Solubilização das amostras de gordura

Uma alíquota da amostra (80 g) foi aquecida em micro-ondas (potência máxima 100%), por 30 s. Em caso de formação de crosta na superfície da amostra, a mesma foi removida e descartada e o processo de aquecimento seguido de remoção da crosta foi repetido mais uma vez. Foram pesados 12 g do resíduo de gordura límpida e fundida em um frasco Scotth Duran® 250 mL, seguido de adição de 50,00  $\mu\text{L} \pm 1 \mu\text{L}$  de solução de padrão interno ( $^{13}\text{C}$ ) de dioxinas e furanos.

#### 4.6.1.2 Tratamento com sílica ácida

40 mL de hexano foram adicionados no frasco com a amostra e homogeneizados manualmente por cerca de 2 a 5 minutos. Em seguida, 30 g de sílica ácida foram adicionados e homogeneizados em agitador do tipo Vortex, com repouso até a completa oxidação da matéria orgânica (a sílica adquiriu coloração marrom escuro quase preto e se separou de um sobrenadante límpido). Se necessário (para os casos em que a matéria orgânica não foi completamente oxidada), o processo de homogeneização foi repetido.

O sobrenadante foi recolhido em um frasco de multievaporador e o processo foi repetido com 40 mL de hexano por três vezes. O extrato obtido foi

concentrado em sistema de evaporação a vácuo com banho aquecedor, a  $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  e 180 a 200 psi, até obtenção de um resíduo de cerca de 10 mL.

#### 4.6.1.3 Purificação com coluna de sílica ácida

Para a purificação do extrato, previamente concentrado, foi empregada uma coluna de vidro (25 mm de diâmetro e altura mínima de 25 cm) empacotada com algodão, 50 mL de hexano, 30 g de sílica ácida, 2 g de sílica gel lavada (com diclorometano e hexano) e ativada em estufa entre  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

O excesso de hexano foi eluído até aproximadamente 1 cm acima do topo da camada de sílica e descartado. O extrato foi transferido, quantitativamente, para a coluna, adicionando 150 mL de hexano e recolhendo o eluato. O eluato (extrato purificado) foi concentrado no sistema de evaporação a vácuo com banho aquecedor até um resíduo de aproximadamente 10 mL, sob as mesmas condições descritas anteriormente.

#### 4.6.1.4 Purificação com coluna de florisil

Uma coluna de vidro (10,5 mm de diâmetro e altura mínima de 20 cm) foi empacotada com algodão, 1 g de sulfato de sódio anidro na parte inferior e superior da coluna e 1,5 g de florisil ativado em mufla a  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ , por cerca de 12 h. Para o condicionamento dos adsorventes foram eluídos e descartados 15 mL de solução de diclorometano:hexano (5:95) v/v. Em seguida, o eluato da purificação anterior foi acrescentado, eluído até aproximadamente 1 cm acima do florisil, eluído com 20 mL de hexano e descartado. Posteriormente, foram transferidos 35 mL de diclorometano para a coluna, os quais foram recolhidos em frasco de Turbo Vap<sup>®</sup>.

#### 4.6.2 Concentração

O extrato purificado foi concentrado no Turbo Vap® até obtenção de um resíduo de 0,5 mL, à temperatura de 40 °C ± 4 °C e pressão 7 bar ou 12 psi, utilizando banho aquecedor com fluxo de nitrogênio. O resíduo foi transferido, quantitativamente, para um insert previamente inserido num vial. Em seguida, foi realizada evaporação suave no bloco aquecedor, sob fluxo de nitrogênio, à temperatura de 40 °C ± 4 °C, até quase *secura*. Foram adicionados 20 µL ± 1 µL de padrão de seringa, homogeneizados em agitador tipo Vortex e o vial foi fechado.

#### 4.6.3 Determinação

A detecção e quantificação foram realizadas por CG-EMAR. O EM foi operado no modo impacto de elétrons (EI), com ionização positiva, nas condições descritas a seguir: i) coluna para GC HP-5 MS (60 m x 25 mm x 0,25 µm); ii) rampa de temperatura do forno - temperatura inicial de 140°C por 4 min, taxa de aquecimento de 8 °C/min até 220 °C, taxa de aquecimento de 1,4 °C/min até 260 °C, taxa de aquecimento de 7 °C/min até 285 °C, por 6 min, e taxa de aquecimento de 25 °C/min até 315 °C; iii) fluxo de gás hélio 1 mL/min; iv) temperatura do injetor 280 °C; v) temperaturas do *inlet*, dos capilares 1 e 2, e do *re-entrant* 310 °C (com opção de septo a 160 °C); vi) tempo de corrida 53 min; vii) modo de injeção *splitless*; e viii) volume de injeção 2 µL.

### 4.7 PRODUÇÃO DO MATERIAL

#### 4.7.1 Experimento piloto

Amostras não contaminadas de gordura de aves (frango) foram processadas sob diferentes condições para otimização da etapa de preparo dos materiais.

Foi realizado um planejamento fatorial com a escolha de quatro parâmetros, sendo dois na etapa de fusão do material em micro-ondas (potência e tempo) e dois relacionados ao envase sob aquecimento e homogeneização constante (temperatura do banho termostático e velocidade de agitação), e cada parâmetro foi avaliado em dois níveis. Foi delineado, então, um experimento fatorial 4 x 2, totalizando 16 tratamentos, conforme ilustrado na **Tabela 5**, que foram estudados em triplicata.

**Tabela 5.** Tratamentos avaliados na otimização das condições de produção do material de gordura de aves

Tratamento	Fusão em micro-ondas		Envase sob aquecimento e homogeneização	
	Potência (W)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Velocidade (rpm)
P1t1T1V1	350	7	45 ± 2	750
P1t1T1V2	350	7	45 ± 2	1500
P1t1T2V1	350	7	50 ± 2	750
P1t1T2V2	350	7	50 ± 2	1500
P1t2T1V1	350	14	45 ± 2	750
P1t2T1V2	350	14	45 ± 2	1500
P1t2T2V1	350	14	50 ± 2	750
P1t2T2V2	350	14	50 ± 2	1500
P2t1T1V1	700	7	45 ± 2	750
P2t1T1V2	700	7	45 ± 2	1500
P2t1T2V1	700	7	50 ± 2	750
P2t1T2V2	700	7	50 ± 2	1500
P2t2T1V1	700	14	45 ± 2	750
P2t2T1V2	700	14	45 ± 2	1500
P2t2T2V1	700	14	50 ± 2	750
P2t2T2V2	700	14	50 ± 2	1500

P: potência de fusão em micro-ondas; t: tempo de fusão em micro-ondas; T: temperatura do banho termostático, V: velocidade de homogeneização. 1: menor valor do parâmetro em questão; 2: maior valor do parâmetro em questão.

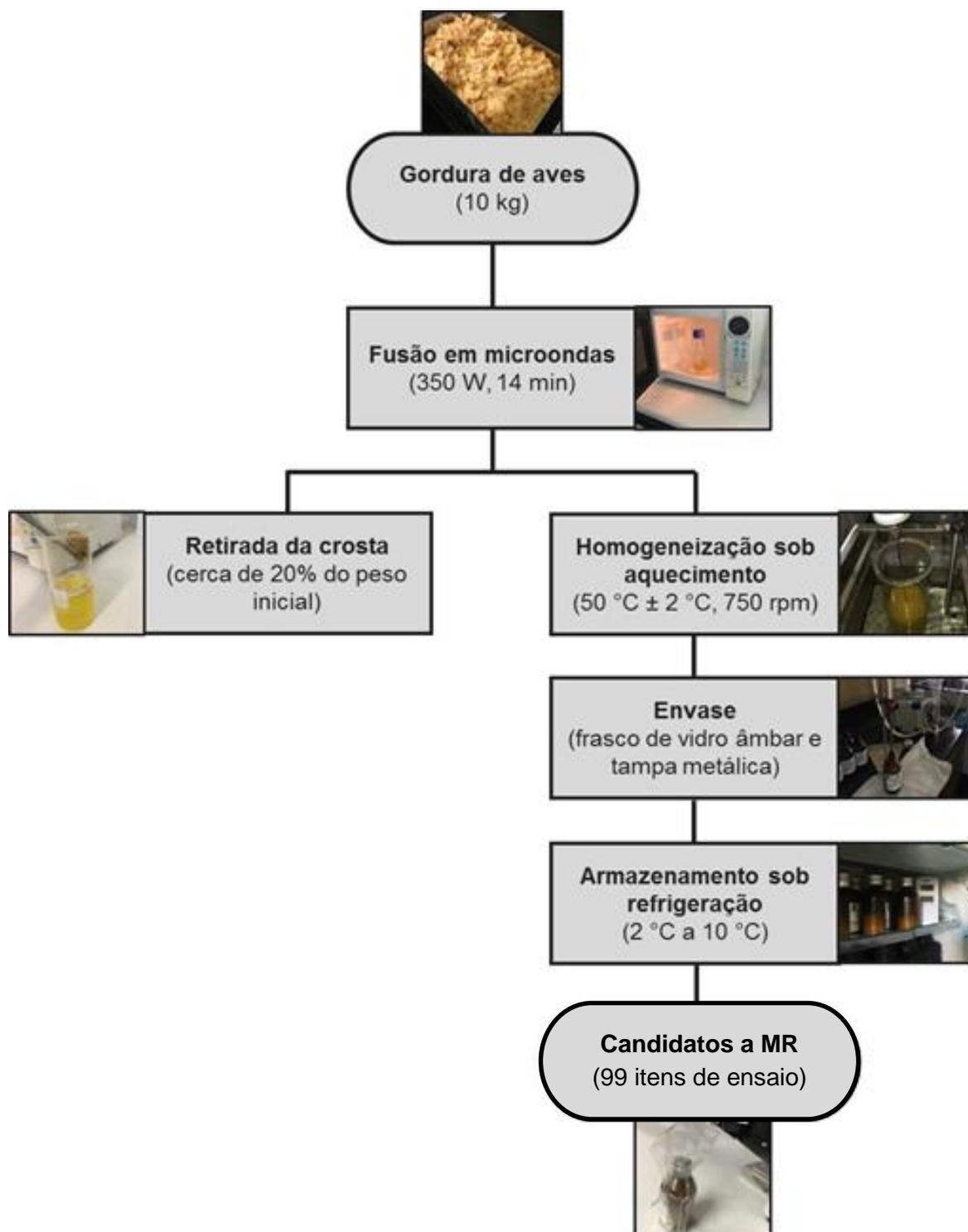
20 kg de amostras de gordura de aves não contaminadas foram descongeladas em temperatura ambiente, cortados, homogeneizados e divididos em porções de aproximadamente 0,4 kg, que foram transferidas para recipientes de vidro refratário e fundidas em micro-ondas. A crosta formada na superfície de cada amostra foi removida e descartada e a gordura remanescente foi levada a banho termostático, sob homogeneização constante, para envase em frascos de vidro de 80 g, com tampa metálica. As massas de material antes da fusão e após a fusão e remoção da crosta foram medidas para estimativa do rendimento do processo em cada tratamento, assim como a viscosidade dos materiais fundidos no momento do envase. Tal parâmetro foi selecionado para a otimização, visto que materiais de menor viscosidade, ou seja, menos resistentes ao escoamento, seriam avaliados como mais homogêneos (NETO, 2006). As cores das amostras fundidas foram avaliadas, visualmente, e comparadas com aquelas descritas no sistema RGB (*Red*, *Green* e *Blue*) para estabelecimento de padrão de cor dos resultados (KRAUSE, 2010). A coloração foi adotada como indicador do processo de oxidação das amostras durante o processamento (RIOS; PEREIRA; ABREU, 2013).

Os resultados de viscosidade foram analisados empregando *softwares* Minitab e Microsoft Excel quanto à sua distribuição e submetidos à análise de variância. As médias estimadas para os diferentes tratamentos foram discriminadas pelo teste de Tukey. Nível de significância  $\alpha = 0,05$  foi adotado nos testes de hipóteses.

#### *4.7.2 Preparo do material*

Amostras de gordura de aves (frango) contaminadas (10 kg) foram descongeladas em temperatura ambiente, cortadas, homogeneizadas e divididas em porções de aproximadamente 0,5 kg, que foram transferidas para recipientes de vidro refratário e fundidas em micro-ondas em potência de 350 W durante 14 minutos, ou seja, nas condições otimizadas no experimento piloto. A crosta formada na superfície da amostra foi removida e descartada (cerca de 20 % da massa inicial de cada porção). As porções fundidas, ainda

quentes, foram transferidas para um recipiente de vidro inserido num banho termostático a  $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  e homogeneizadas a 750 rpm, continuamente, em agitador mecânico. A gordura total fundida foi porcionada em frascos de vidro âmbar de 80 g, empregando uma bomba peristáltica. Os frascos foram fechados com tampas de rosca metálicas e identificados com etiquetas auto-adesivas contendo codificação gerada aleatoriamente. Todos os materiais foram mantidos sob refrigeração entre  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O número de frascos preparados (n=99) foi suficiente para realização dos testes de homogeneidade, de estabilidade e dos ensaios do EP, além de um excedente, em caso de necessidade de substituição dos materiais (**Figura 2**).



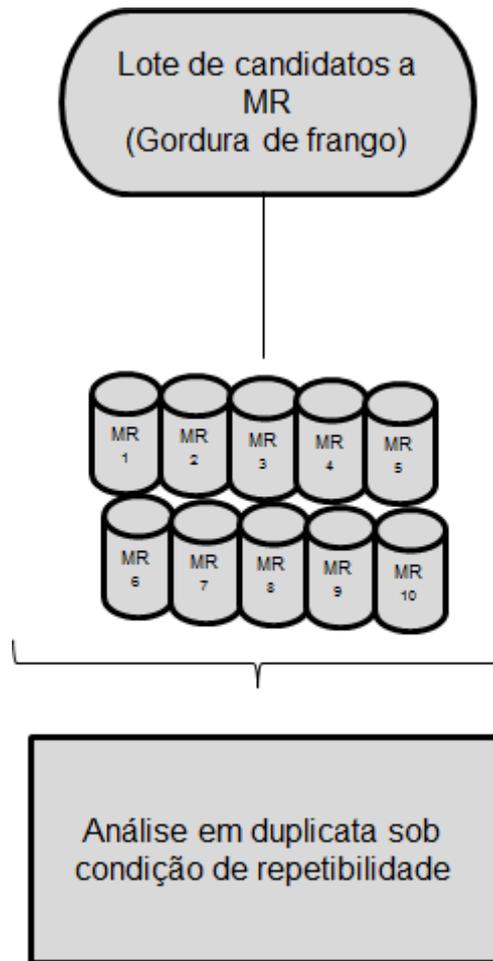
**Figura 2.** Fluxograma do processo de preparo do material de referência de gordura de aves, sob condições otimizadas.

#### 4.7.3 Teste de homogeneidade

Imediatamente após o preparo do material, foram tomadas, aleatoriamente, dez unidades dos itens de ensaio do lote produzido, as quais foram analisadas em duplicata, por CG-EMAR, sob condições de repetibilidade (**Figura 3**). A avaliação da homogeneidade foi conduzida, para todos os analitos quantificados, após tratamento de *outliers* pelo teste de Cochran (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006; ISO, 2015); segundo dois critérios:

- i) o desvio padrão entre amostras ( $s_s$ ) foi comparado com desvio padrão da proficiência ( $\sigma_p$ ), de forma que o lote do material foi considerado homogêneo quando  $s_s \leq 0,3\sigma_p$  (ISO, 2015); e
- ii) o  $s_s$  foi comparado a um valor crítico ( $c$ ), sendo o lote do MR considerado homogêneo quando  $s_s \leq c$  (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006; ISO, 2015).

A repetibilidade do método foi avaliada, comparando-se o desvio padrão de repetibilidade ou analítico ( $s_{an}$ ) com o  $\sigma_p$ , de forma que o método foi considerado suficientemente preciso para fornecer estimativa do  $s_s$  quando  $s_{an} \leq 0,5\sigma_p$  (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006; ISO, 2015).



**Figura 3.** Delineamento experimental para o teste de homogeneidade dos materiais de referência produzidos.

MR: material de referência.

#### 4.7.4 Teste de estabilidade

##### 4.7.4.1 Estabilidade em condições de transporte (curto prazo) – modelo isócrono

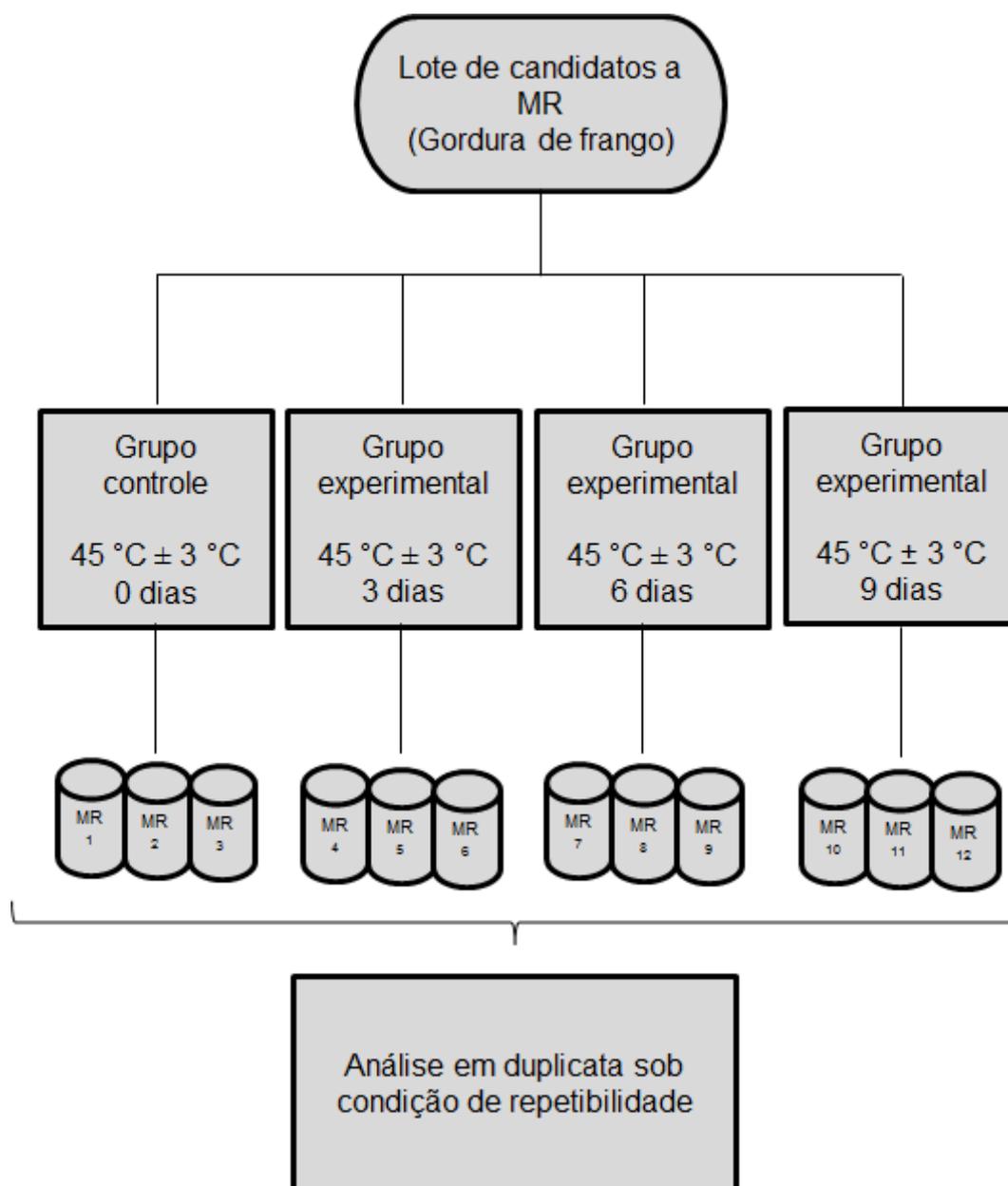
Do lote produzido de gordura de aves contaminada, foram tomadas, aleatoriamente, 12 unidades dos itens de ensaio, das quais três foram mantidas nas condições de armazenamento prescritas (2 °C a 10 °C) e não submetidas ao estresse sendo, portanto, consideradas como grupo controle, enquanto as demais foram armazenadas sob temperatura de 45 °C ± 3 °C, simulando estresse durante o transporte. Três dias após, três unidades foram retiradas da condição crítica e retornadas para a condição prescrita. Este

procedimento foi repetido para as demais unidades em seis e nove dias. Tais materiais foram analisados, em duplicata, por CG-EMAR (**Figura 4**). O período de nove dias foi selecionado, por corresponder ao tempo de transporte máximo estimado para os prováveis laboratórios participantes do EP, de diferentes países.

Os resultados obtidos para cada analito foram analisados frente aos requisitos prescritos na norma ISO 13528 (ISO, 2015) e no documento da IUPAC (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006):

- i) os módulos das diferenças entre as médias dos resultados obtidos para o grupo controle não submetido às condições de estresse ( $y_c$ ) e as médias dos resultados obtidos para o grupo experimental submetido às condições de estresse por diferentes tempos ( $y_{ei}$ ) foram estimados, de forma que o lote do material foi considerado estável, nas condições avaliadas, quando  $|y_c - y_{ei}| \leq 0,3\sigma_p$  (ISO 13528, 2015); e
- ii) o material foi considerado estável, nas condições testadas, quando  $|y_c - y_{ei}| \leq 0,1\sigma_p$  (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006).

Como as comparações foram feitas para cada tratamento, individualmente, foi realizada também a análise de variância dos resultados, envolvendo todos os tratamentos, simultaneamente, empregando nível de significância  $\alpha = 0,05$ . Quando necessário, as médias foram discriminadas pelo teste de Tukey.



**Figura 4.** Delineamento experimental para o teste de estabilidade dos materiais de referência produzidos em condições de transporte – modelo isócrono.  
MR: material de referência.

#### 4.7.4.2 Estabilidade em longo prazo – modelo clássico

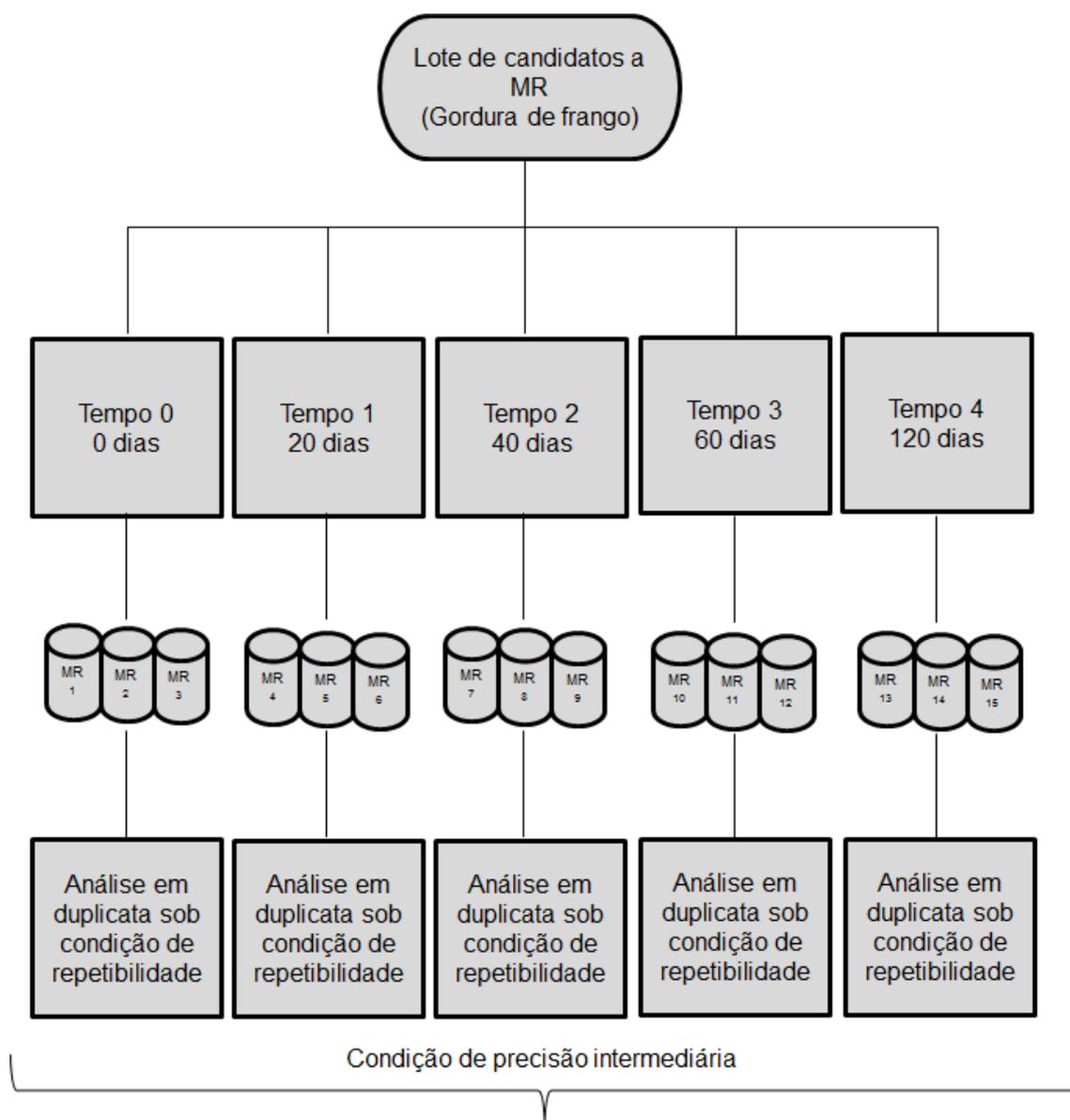
Do lote de gordura de aves produzido foram tomadas, aleatoriamente, três unidades dos itens de ensaio, que foram analisadas em duplicata por CG-EMAR, imediatamente após a preparação (tempo zero) e nos tempos 20, 40,

60 e 120 dias após, sendo este último coincidente com o prazo estabelecido para envio dos resultados pelos participantes (**Figura 5**).

Os resultados dos analitos quantificados foram analisados da seguinte forma:

- i) os módulos das diferenças entre as médias dos resultados obtidos para o grupo controle, o qual representou a fase preparação do material ( $y_c$ ) e as médias dos resultados obtidos para o grupo experimental, que representou os MR no *deadline* para retorno dos resultados pelos participantes, ou seja, 120 dias após o preparo ( $y_e$ ) foram estimados, de forma que o lote material foi considerado estável durante o EP quando  $|y_c - y_e| \leq 0,3\sigma_p$  (ISO, 2015); e
- ii) o lote do MR foi considerado estável no decorrer do ensaio quando  $|y_c - y_e| \leq 0,1\sigma_p$  (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006).

A estabilidade foi investigada de maneira mais completa, por análise de regressão dos resultados obtidos nos diferentes tempos entre a preparação do MR e o prazo final para envio dos resultados (ISO, 2015).



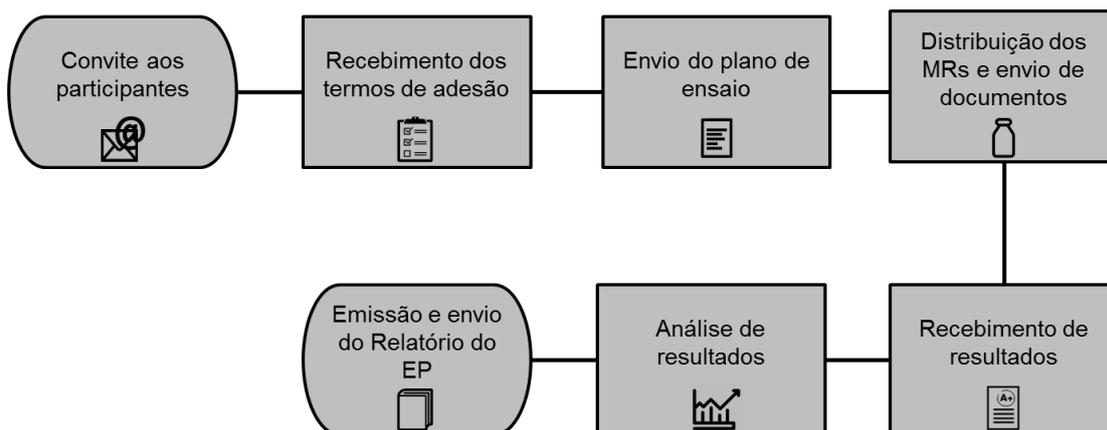
**Figura 5.** Delineamento para teste de estabilidade dos materiais de referência produzidos – modelo clássico.

MR: material de referência.

#### 4.8 ORGANIZAÇÃO DO EP

Foram convidados 14 laboratórios nacionais e internacionais que realizam análises de dioxinas e furanos em alimentos, os quais foram informados do escopo do EP, cronograma e planejamento estatístico. Aos 12 laboratórios que aderiram ao EP, foram encaminhados os materiais elaborados via empresas prestadoras de serviços para envio de encomendas expressas

internacionais. Também foram encaminhados os formulários nos quais os resultados deveriam ser reportados, assim como um questionário para levantamento de informações acerca do sistema de gestão da qualidade e dos métodos analíticos empregados pelos laboratórios participantes. Os resultados recebidos dos laboratórios participantes foram analisados e o relatório do ensaio foi emitido e reportado aos mesmos (**Figura 6**).



**Figura 6.** Fluxograma do processo de organização do Ensaio de Proficiência.  
MR: material de referência.

#### 4.8.1 Convite e adesão

Foram convidados a participarem do EP 14 laboratórios públicos e privados, nacionais e internacionais (Argentina, Brasil, Canadá, Chile, Holanda e México), que realizam análise de dioxinas e furanos em matrizes alimentares.

Os laboratórios foram contatados por e-mail, no qual foi enviado um Convite e um Termo de Adesão. No primeiro, foi descrita a identificação do EP, a apresentação de seu objetivo e a data prevista para envio dos itens e recebimento de resultados, sendo informado que este ensaio seguiria as diretrizes estabelecidas na norma ABNT 17043 (ABNT, 2011) e que a participação seria gratuita.

Os Convites foram enviados em data pré-estabelecida e citavam um prazo máximo para o aceite dos participantes, por meio do preenchimento e

envio do Termo de Adesão. Os documentos de Convite e Termo de Adesão encontram-se representados nos Anexos II e III.

#### 4.8.2 Distribuição dos itens de ensaio e envio de documentos

Aos 12 laboratórios convidados, que aderiram ao EP, foi enviado o Plano do Ensaio de Proficiência (PLANEP) (Anexo IV), documento que continha: i) dados dos organizadores; ii) objetivos; iii) informações acerca da preparação, manuseio e distribuição do material; iv) métodos e procedimentos estatísticos usados para avaliar a homogeneidade e estabilidade; v) cronograma do EP; dentre outras informações.

Os materiais produzidos e avaliados quanto à homogeneidade e estabilidade foram distribuídos aos 12 laboratórios, em data previamente estabelecida, no Plano. Os MRs foram devidamente acondicionados, envolvendo-se cada frasco em saco plástico, que posteriormente foi selado. Em seguida, os frascos embalados foram acondicionados em caixas de poliestireno com capacidade para 2 L e o volume das caixas foi completado com flocos de isopor de forma a preservar a integridade dos mesmos durante o transporte (**Figura 7**). Após as caixas serem tampadas e seladas, uma cópia do Certificado de Origem, emitido para o laboratório e país ao qual a caixa de destinava, foi anexado na parte externa das mesmas.



**Figura 7.** Materiais de referência prontos para despacho aos laboratórios participantes.

A emissão dos Certificados de Origem foi feita pelo Serviço de Saúde Animal do MAPA. Para cada laboratório foi montado um processo no Serviço Eletrônico de Informação (SEI). Desta forma, foram elaborados os seguintes documentos: i) declaração de origem, ii) requerimento para exportação, e iii) declaração de doação. Também foi solicitado um *import permit* do país ao qual o cada MR se destinou. Todo este processo foi necessário para assegurar a segurança sanitária e a comprovação de que as amostras enviadas estavam livres de doenças (Anexos V, VI, VII, VIII e IX).

O transporte foi realizado em temperatura ambiente, evitando-se a exposição a fontes de calor excessivo.

Após o despacho dos itens, foi enviado, por e-mail, aos laboratórios participantes o Formulário para Confirmação de Recebimento de Amostras, juntamente com orientações aos laboratórios para inspecionarem os itens de ensaio e registrarem as condições de recebimento (Anexo IX). Os participantes foram orientados, ainda, a informar o organizador sobre qualquer anormalidade quando do recebimento dos itens. No mesmo e-mail também foi enviado um Formulário para Registro de Resultados (Anexo X).

Os laboratórios foram orientados a tratar a amostra recebida como uma amostra de rotina. A fusão, homogeneização, tamanho da alíquota e metodologia de análise deveriam ser realizadas conforme os procedimentos internos adotados pelo participante. As análises deveriam ser feitas em duplicata e ambos os resultados deveriam ser reportados. Os participantes foram orientados a determinarem as concentrações individuais dos 17 congêneres tóxicos de dioxinas e furanos expressos em pg/g e do somatório TEQ (expresso em pgTEQ-OMS/g).

#### *4.8.3 Avaliação de desempenho*

A avaliação dos resultados analíticos reportados pelos laboratórios participantes foi realizada usando a estatística z-score, conforme descrito nas normas ISO 17043, ISO 13528 e no documento da IUPAC (THOMPSON; ELLISSON; WOOD, 2006; ABNT, 2011; ISO, 2015).

A função z-escore foi dada por:

$$z = \frac{x - \check{X}}{\sigma_p}$$

sendo:

x: o resultado analítico do laboratório;

$\check{X}$ : o valor (concentração) designado como verdadeiro, média de consenso dos participantes (devido ao número pequeno de participantes), após tratamento de *outliers* (sendo considerados *outliers* os valores fora do intervalo de  $\pm 50\%$  da mediana dos resultados);

$\sigma_p$ : o desvio padrão alvo, estimado pelos modelos de Horwitz e Thompson e também pelos valores regulamentados pela União Europeia (THOMPSON, 2000; UE, 2014).

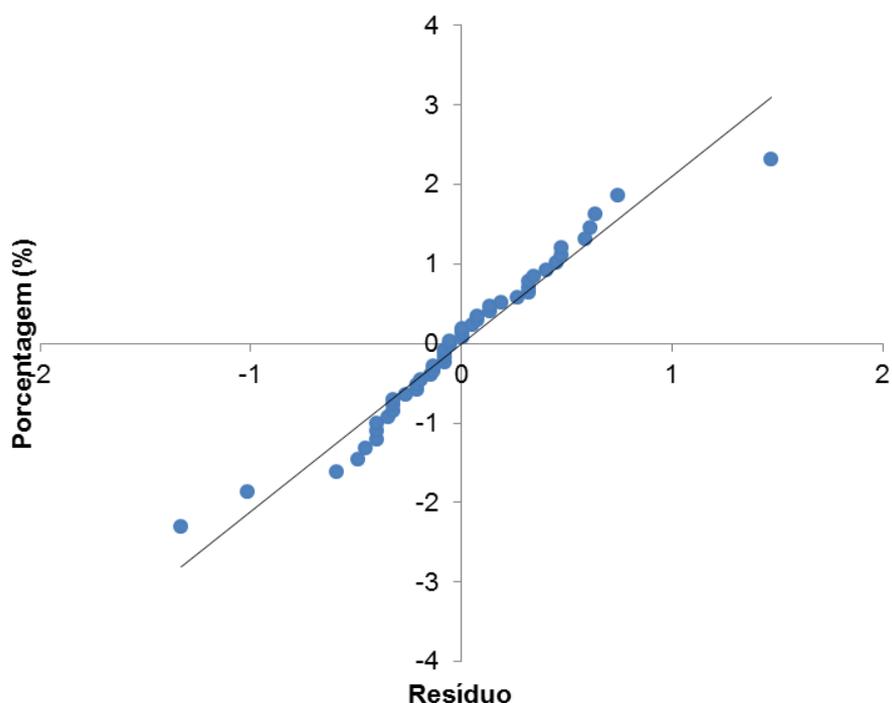
O desempenho dos participantes foi considerado satisfatório quando  $|z| \leq 2$ .

Uma cópia do relatório com os resultados e avaliação de desempenho dos participantes foi enviada aos mesmos, via e-mail.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 EXPERIMENTO PILOTO

Os resultados de viscosidade (cP), medidos em viscosímetro, para as amostras preparadas nos diferentes tratamentos, seguiram a distribuição normal (**Figura 8**) que é uma premissa para a análise de variância. Na análise de variância (**Tabela 6**), foram identificados como fatores significativos a potência e o tempo de fusão no micro-ondas e a temperatura do banho termostático ( $p < 0,05$ ). Para a velocidade de agitação, diferença significativa não foi observada ( $p > 0,05$ ). Interações duplas significativas foram evidenciadas para potência e tempo de fusão, tempo de fusão e temperatura do banho termostático, tempo de fusão e velocidade de homogeneização, e triplas foram observadas para potência e tempo de fusão e temperatura do banho termostático e tempo de fusão, temperatura do banho e velocidade de homogeneização ( $p < 0,05$ ).



**Figura 8.** Gráfico de probabilidade normal dos resultados de viscosidade obtidos para os diferentes tratamentos aos quais a gordura de aves foi submetida.

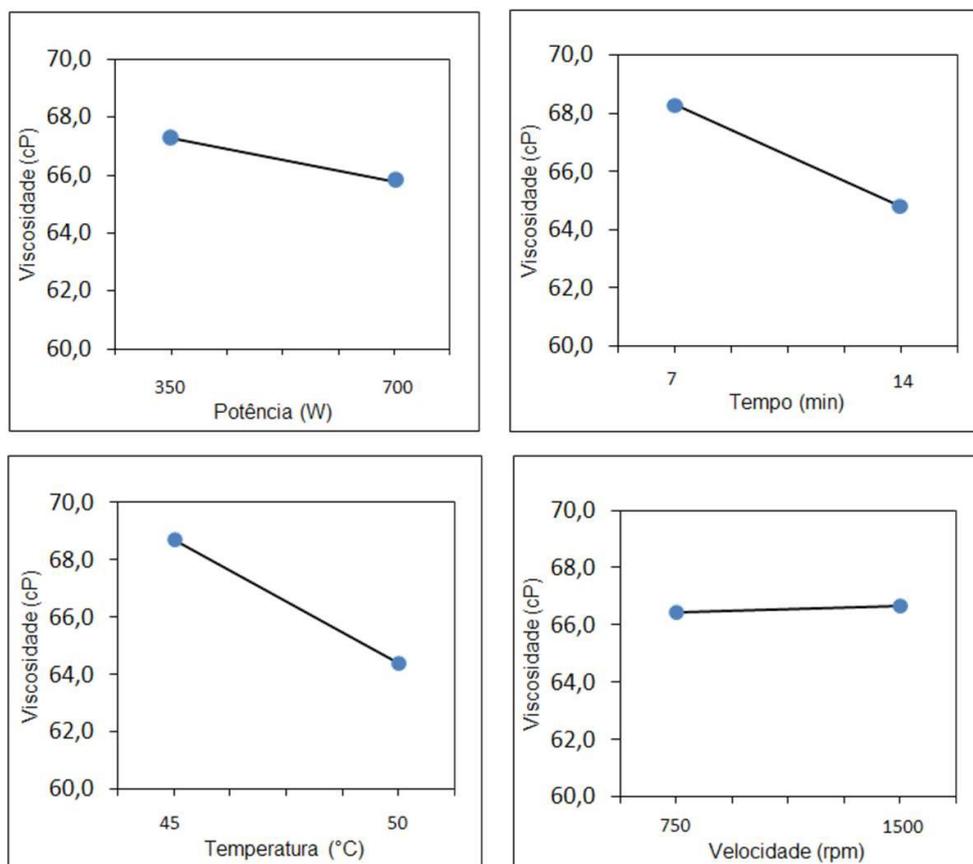
**Tabela 6.** Análise de variância dos resultados de viscosidade da gordura de aves fundida nos diferentes tratamentos do delineamento fatorial.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	17	488	29	86	9,2 x 10 <sup>-21</sup>
Blocos	2	34	17	65	1,3 x 10 <sup>-11</sup>
<i>Linear</i>	4	402	100	301	9,8 x 10 <sup>-24</sup>
Potência	1	27	27	80	5,5 x 10 <sup>-10</sup>
Tempo	1	149	149	447	1,4 x 10 <sup>-19</sup>
Temperatura	1	225	225	673	4,2 x 10 <sup>-22</sup>
Velocidade	1	0,50	0,50	1,5	0,23
<i>Interações duplas</i>	6	35	5,9	18	1,2 x 10 <sup>-8</sup>
Potência x Tempo	1	21	21	64	6,0 x 10 <sup>-9</sup>
Potência x Temperatura	1	0,060	0,060	0,18	0,67
Potência x Velocidade	1	0,88	0,88	2,6	0,12
Tempo x Temperatura	1	5,8	5,8	17	2,4 x 10 <sup>-4</sup>
Tempo x Velocidade	1	7,1	7,1	21	6,8 x 10 <sup>-5</sup>
Temperatura x Velocidade	1	0,110	0,11	0,33	0,57
<i>Interações triplas</i>	4	0,11	1,7	5,0	3,2 x 10 <sup>-3</sup>
Potência x Tempo x Temperatura	1	6,7	1,7	4,9	0,034
Potência x Tempo x Velocidade	1	1,7	0,35	1,0	0,31
Potência x Temperatura x Velocidade	1	0,35	0,35	1,0	0,31
Tempo x Temperatura x Velocidade	1	0,35	4,4	13	1,1 x 10 <sup>-3</sup>
<i>Interações quadruplas</i>	1	0,46	0,46	1,4	0,25
Potência x Tempo x Temperatura x Velocidade	1	0,46	0,46	1,4	0,25
Resíduo	30	10	0,33		
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>498</b>			

GL: graus de liberdade ; SQ: soma de quadrados ; QM: quadrado médio; F: estatística de F; p: probabilidade; Delineamento fatorial 4 x 2, em triplicata; Marcadas em cinza as fontes significativas (p < 0,05).

Gráficos de efeitos principais foram gerados, conforme ilustrado na **Figura 9**, confirmando que potência do micro-ondas, tempo de fusão no micro-ondas e temperatura do banho termostático foram fatores significativos (p < 0,05), os quais contribuíram para a redução da viscosidade. Observou-se,

ainda, que a velocidade de homogeneização foi um fator que não afetou a viscosidade, nas condições avaliadas.



**Figura 9.** Gráficos de efeitos principais por resposta.

Considerando que a velocidade de agitação não foi fator significativo, a discriminação das médias foi feita para oito tratamentos, sendo combinados os tratamentos que diferiram somente no parâmetro velocidade de homogeneização (**Tabela 7**).

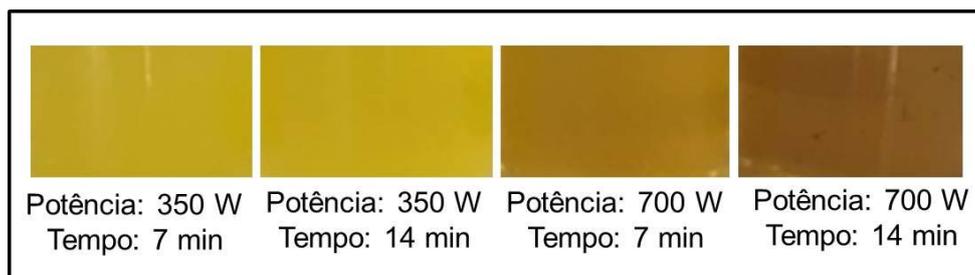
**Tabela 7.** Comparação das médias estimadas para os diferentes tratamentos aos quais a gordura de aves foi submetida.

Tratamento	Viscosidade (cP)	Discriminação
P1t1T1	69 ± 0,82	b
P1t1T2	65 ± 1,3	d
P1t2T1	67 ± 1,7	c
P1t2T2	62 ± 1,5	e
P2t1T1	71 ± 1,3	a
P2t1T2	68 ± 1,3	bc
P2t2T1	68 ± 1,1	c
P2t2T2	62 ± 1,3	e

P: potência de fusão em micro-ondas, avaliada nos níveis 350 W e 750 W; t: tempo de fusão em micro-ondas, avaliado nos níveis 7 minutos e 14 minutos; T: temperatura do banho termostático, avaliado nos níveis 45 °C± 2 °C e 50 °C± 2 °C. Médias indicadas pela mesma letra minúscula, na vertical, não diferiram entre si, pelo Teste de Tukey (p > 0,05). Número de observações: 3; 1: menor valor do parâmetro em questão; 2: maior valor do parâmetro em questão.

O tempo foi avaliado como crítico visto que no tratamento P2t1T1 (potência 700 W, tempo de fusão no micro-ondas de 7 minutos e temperatura do banho de 50 °C± 2 °C), a média de viscosidade foi significativamente maior (p < 0,05) que a observada para os demais tratamentos, incluindo o tratamento P2t2T1 (potência 700 W, tempo de fusão no micro-ondas de 14 minutos e temperatura do banho de 50 °C± 2 °C).

Valores de viscosidade significativamente menores (p < 0,05) foram evidenciados para os tratamentos P1t2T2 e P2t2T2. Desta forma, as condições estabelecidas no tratamento P1t2T2 (potência de 350 W, tempo de fusão no micro-ondas de 14 minutos e temperatura do banho termostático de 50 °C ± 2 °C) foram as otimizadas para o produção do MR, visto que o referido tratamento não diferiu (p > 0,05) do P2t2T2 (potência de 700 W, tempo de fusão no micro-ondas de 14 minutos e temperatura do banho termostático de 50 °C ± 2 °C), além de ter correspondido a uma condição menos drástica, conforme ilustrado na **Figura 10**.



**Figura 10.** Perfil de cor das amostras de gordura de aves fundidas, submetidas aos diferentes tratamentos do delineamento fatorial.

P1t1: amarelo mostarda claro (índice de cor 210r 172g 43b); P1t2: amarelo mostarda escuro (índice de cor 188r 104g 61b); P2t1: marrom claro (índice de cor 149r 100g 56b); P2t2: marrom escuro (índice de cor 168r 123g 76b).

Nos tratamentos em que foram usadas potências de 700 W, foi identificada uma maior oxidação da matéria orgânica em relação aqueles que empregaram 350 W, uma vez que a coloração apresentada foi mais intensa (RIOS; PEREIRA; ABREU, 2013). Ainda, para tratamentos que adotaram uma mesma potência, a oxidação foi visivelmente mais intensa quanto maior o tempo de fusão. Os fatores temperatura do banho termostático e velocidade de homogeneização, não contribuíram para variações na coloração das amostras fundidas.

A menor velocidade de homogeneização, correspondente a 750 rpm, foi adotada, uma vez que o fator não foi considerado crítico para o processo.

## 5.2 TESTE DE HOMOGENEIDADE

Para os analitos 1,2,3,7,8,9-HxCDD; 1,2,3,7,8,9-HxCDF; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF; OCDD e OCDF as concentrações em pg/g foram inferiores ao limite de quantificação do método adotado e, portanto, não foram estimadas. Cumpre destacar que os analitos quantificados cobriram as dioxinas e furanos de maior relevância toxicológica, ou seja, todos os analitos de TEF 1 e 0,3 e a maioria daqueles de TEF 0,1.

Houve detecção de um *outlier*, pelo teste de Cochran ( $p < 0,05$ ), para os analitos 2,3,7,8-TCDF; 1,2,3,7,8-PeCDF; 2,3,4,7,8-PeCDF; 1,2,3,4,7,8-HxCDF; 1,2,3,6,7,8-HxCDF e para o somatório TEQ dos congêneres. Após remoção

das duplicatas de resultados indicadas como dispersas e repetição do teste, não houve identificação de novos *outliers*, conforme ilustrado na **Tabela 8**.

**Tabela 8.** Detecção de *outliers* na avaliação da homogeneidade, pelo teste de Cochran, segundo critérios da norma ISO 13528 e do protocolo harmonizado pela IUPAC

Analito	1ª Análise		2ª Análise	
	C <sub>Calc</sub>	Resultado	C <sub>Calc</sub>	Resultado
2,3,7,8-TCDF	0,94	Há <i>outlier</i>	0,58	Não há <i>outlier</i>
2,3,7,8-TCDD	0,37	Não há <i>outlier</i>	-	-
1,2,3,7,8-PeCDF	0,99	Há <i>outlier</i>	0,38	Não há <i>outlier</i>
2,3,4,7,8-PeCDF	0,93	Há <i>outlier</i>	0,62	Não há <i>outlier</i>
1,2,3,7,8-PeCDD	0,35	Não há <i>outlier</i>	-	-
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,97	Há <i>outlier</i>	0,54	Não há <i>outlier</i>
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,90	Há <i>outlier</i>	0,35	Não há <i>outlier</i>
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,39	Não há <i>outlier</i>	-	-
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,35	Não há <i>outlier</i>	-	-
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,58	Não há <i>outlier</i>	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-
Σ Total PCDD/F (TEQ)	0,91	Há <i>outlier</i>	0,40	Não há <i>outlier</i>

2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.

C<sub>Calc</sub>: estatística de Cochran calculada; C<sub>Crit</sub>: valor crítico para a estatística de Cochran, sendo 0,602 para 10 duplicatas e 0,638 para nove duplicatas, com  $\alpha=0,05$ ; critério para detecção de *outlier*: quando  $C_{Calc} \geq C_{Crit}$  a duplicata de maior diferença é considerada *outlier*.

Os resultados foram analisados considerando-se o  $\sigma_{pH}$  de 22 %, estimado pelos modelos de Horwitz e Thompson (THOMPSON, 2000), e  $\sigma_{pUE}$  de 20 % para congêneres individuais e de 10 % para o somatório TEQ, conforme regulamentado pela União Europeia (UE, 2014). Repetibilidade do método foi demonstrada para todos os analitos quantificados e somatório TEQ, uma vez que  $s_{an} \leq 0,5 \sigma_p$ . Desta forma, o método empregado foi considerado

suficientemente preciso para permitir uma estimativa satisfatória da variância entre amostras (**Tabela 9**).

**Tabela 9.** Avaliação da repetibilidade do método empregado na avaliação da homogeneidade, segundo critérios da norma ISO 13528 e do protocolo harmonizado pela IUPAC

Analito	Média	$S_{an}$	$0,5\sigma_{pH}$	$0,5\sigma_{Pue}$	Resultado
2,3,7,8-TCDF	6,3	0,14	0,70	0,65	Repetibilidade aceitável
2,3,7,8-TCDD	0,69	0,023	0,075	0,070	Repetibilidade aceitável
1,2,3,7,8-PeCDF	2,5	0,075	0,28	0,25	Repetibilidade aceitável
2,3,4,7,8-PeCDF	3,3	0,059	0,37	0,33	Repetibilidade aceitável
1,2,3,7,8-PeCDD	0,70	0,021	0,075	0,070	Repetibilidade aceitável
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1,3	0,048	0,14	0,13	Repetibilidade aceitável
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,84	0,027	0,095	0,085	Repetibilidade aceitável
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,52	0,023	0,060	0,055	Repetibilidade aceitável
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,18	0,0093	0,020	0,018	Repetibilidade aceitável
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,26	0,0083	0,029	0,026	Repetibilidade aceitável
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-
$\Sigma$ Total PCDD/F (TEQ)	3,5	0,060	0,38	0,18	Repetibilidade aceitável

2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.

$s_{an}$ : desvio padrão de repetibilidade ou analítico;  $\sigma_{pH}$ : desvio padrão da proficiência estimado pelos modelos de Horwitz e Thompson (Thompson, 2000);  $\sigma_{PUE}$ : desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014); critério para avaliação da repetibilidade do método: se  $s_{an} \leq 0,5\sigma_p$  o método é suficientemente preciso para permitir uma estimativa satisfatória da variância entre amostras.

Conforme representado na **Tabela 10**, o lote de MR preparado foi considerado homogêneo para os dez analitos quantificados e somatório TEQ destes congêneres, independentemente do critério de avaliação (THOMPSON; ELLISON, WOOD, 2006; ISO 13528, 2015) e da referência de  $\sigma_p$  considerada, tendo como alíquota analítica uma massa de amostra de, no mínimo, 12 g.

**Tabela 10.** Teste da homogeneidade dos materiais produzidos, segundo critérios da norma ISO 13528 e do protocolo harmonizado pela IUPAC

Analito	n	Média	s <sub>s</sub>	1º Critério		2º Critério		Resultado
				0,3σ <sub>pH</sub>	0,3σ <sub>pUE</sub>	c <sub>H</sub>	c <sub>UE</sub>	
<b>pg/g</b>								
2,3,7,8-TCDF	18	6,3	0,0	0,42	0,38	0,60	0,55	Homogêneo
2,3,7,8-TCDD	20	0,69	0,015	0,045	0,041	0,066	0,061	Homogêneo
1,2,3,7,8-PeCDF	18	2,5	0,0	0,17	0,15	0,24	0,22	Homogêneo
2,3,4,7,8-PeCDF	18	3,3	0,0044	0,22	0,20	0,31	0,28	Homogêneo
1,2,3,7,8-PeCDD	20	0,70	0,024	0,047	0,042	0,067	0,062	Homogêneo
1,2,3,4,7,8-HxCDF	18	1,3	0,021	0,085	0,077	0,13	0,12	Homogêneo
1,2,3,6,7,8-HxCDF	18	0,84	0,0	0,056	0,050	0,082	0,076	Homogêneo
2,3,4,6,7,8-HxCDF	20	0,52	0,0	0,035	0,032	0,053	0,049	Homogêneo
1,2,3,4,7,8-HxCDD	20	0,18	0,0062	0,012	0,011	0,018	0,017	Homogêneo
1,2,3,6,7,8-HxCDD	20	0,26	0,0081	0,017	0,016	0,025	0,023	Homogêneo
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-	-	-
Σ Total PCDD/F (TEQ)	18	3,5	0,044	0,29	0,10	0,32	0,16	Homogêneo

2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.

n: número de observações após tratamento de *outliers* pelo teste de Cochran; s<sub>s</sub>: desvio padrão entre amostras; σ<sub>pH</sub>: desvio padrão da proficiência estimado pelos modelos de Horwitz e Thompson (Thompson, 2000); σ<sub>pUE</sub>: desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014); primeiro critério para avaliação da homogeneidade: se s<sub>s</sub> ≤ 0,3σ<sub>p</sub>, o lote do material é homogêneo; segundo critério para avaliação da homogeneidade: se s<sub>s</sub> ≤ c, o lote do material é homogêneo.

No estudo que envolveu amostras de lodo, a homogeneidade não foi comprovada com análises múltiplas de dioxinas e furanos, mas sim analisando-se a concentração de metais pesados presentes na amostra. Estas análises foram apresentadas como uma alternativa econômica, visto que envolvem custos menores quando comparados aos investimentos necessários às

análises de dioxinas e furanos. Sendo assim, foram analisados sete metais pesados em sete amostras de cada lodo. Coeficientes de variação inferiores a 3 %, na grande maioria dos casos, foram os indicativos de homogeneidade entre as amostras, segundo os autores (LINDIG, 1998).

No relatório da comparação interlaboratorial descrita por Haug *et al.* (2003) não foram reportados testes de homogeneidade, sendo citada somente a forma em que as amostras foram homogeneizadas, descrevendo processos contínuos de moagem e mistura.

No EP para determinação de 17 congêneres de dioxinas e furanos, utilizando GC-EMAR, em amostras naturalmente contaminadas de ingredientes para fabricação de ração (pós de origem vegetal liofilizados), no qual participaram 13 laboratórios de oito diferentes países da UE, a homogeneidade foi avaliada por um dos critérios (IUPAC) adotados no presente estudo, embora com um número inferior de amostras. Sete frascos do lote de material produzido foram selecionados, aleatoriamente, e analisados em duplicata em condições de repetibilidade. O congênere 1,2,3,7,8,9-HxCDF não foi detectado em nenhuma amostra e o congênere 2,3,7,8,-TCDD foi detectado somente em três das sete amostras avaliadas. Não foram identificados *outliers* pelo teste de Cochran e o método não foi considerado preciso para o congênere 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD. Para os demais 14 congêneres o material foi considerado homogêneo, visto que  $s_s \leq c$  (EPPE; CONFINO; PAUW, 2004).

No EP organizado pelo MAPA, para pesquisa de dioxinas e furanos em filé de pescado, a homogeneidade foi avaliada segundo os critérios descritos no protocolo da IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2006). Inicialmente, foi realizado o teste de Cochran para detecção de *outliers* a 95% de confiança. Uma das amostras não pode ser incluída no estudo devido a perda de material durante a análise laboratorial. O material foi considerado suficiente homogêneo para os 17 congêneres e também para o somatório TEQ (MAPA, 2014).

### 5.3 TESTE DE ESTABILIDADE EM CONDIÇÕES DE TRANSPORTE

No estudo de estabilidade em curto prazo que visou simular condições de estresse causadas durante o transporte, não foram notadas diferenças significativas entre os grupos controle e experimental para todos os analitos quantificados e respectivo somatório TEQ, nos três tempos avaliados, de acordo com os critérios da ISO 13528 (ISO 13528, 2015) (**Tabela 11**). Contudo, quando aplicados os critérios previstos no protocolo da IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2006), houve indicação de instabilidade em alguns casos, confirmando que os critérios do referido documento são mais restritivos (**Tabela 12**), como já observado em outros trabalhos deste mesmo grupo de pesquisa, como os desenvolvidos por GANDRA *et al.* (2015) e NUNES (2015), nos quais foram produzidos e avaliados MR para parâmetros da composição centesimal de leite em pó e dioxinas, furanos e PCBs em filé de tilápia liofilizado, respectivamente. Vale a pena destacar que critérios do documento da IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2006) foram incorporados na edição de 2015 da norma ISO 13528 (ISO 13528, 2015), como aqueles relativos aos testes de homogeneidade. No entanto, o mesmo não ocorreu para os critérios de estabilidade, provavelmente, devido ao rigor dos mesmos.

Assim como na avaliação da homogeneidade, os resultados deste estudo foram analisados considerando-se duas referências para estimativa do  $\sigma_p$ , sendo elas os valores estimados pelos modelos de Horwitz e Thompson (THOMPSON, 2000) e os valores regulamentados pela União Europeia (UE, 2014). Contudo, as conclusões não foram afetadas em função das diferentes referências adotadas, com exceção do somatório TEQ, na condição de nove dias de exposição ao estresse, para o critério da IUPAC.

**Tabela 11.** Teste da estabilidade do material em condições de transporte, segundo critérios da norma ISO 13528

Analito	$y_c - y_{ei}$			Critério		Resultado
	3 dias	6 dias	9 dias	$0,3\sigma_{pH}$	$0,3\sigma_{pUE}$	
	<b>pg/g</b>					
2,3,7,8-TCDF	0,019	0,046	0,18	0,44	0,40	Estável até 9 dias
2,3,7,8-TCDD	0,015	0,0077	0,037	0,044	0,040	Estável até 9 dias
1,2,3,7,8-PeCDF	0,013	0,016	0,018	0,18	0,16	Estável até 9 dias
2,3,4,7,8-PeCDF	0,027	0,038	0,082	0,23	0,21	Estável até 9 dias
1,2,3,7,8-PeCDD	0,023	0,016	0,019	0,048	0,043	Estável até 9 dias
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,0090	0,0045	0,013	0,087	0,079	Estável até 9 dias
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,0049	0,0097	0,013	0,058	0,053	Estável até 9 dias
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,0046	0,0099	0,0024	0,037	0,033	Estável até 9 dias
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,0011	0,00030	0,0084	0,013	0,011	Estável até 9 dias
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,015	0,0063	0,0061	0,018	0,016	Estável até 9 dias
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-
$\Sigma$ Total PCDD/F (TEQ)	0,020	0,0077	0,056	0,23	0,11	Estável até 9 dias

2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.

$\sigma_{pH}$ : desvio padrão da proficiência estimado pelos modelos de Horwitz e Thompson (Thompson, 2000);  $\sigma_{pUE}$ : desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014); critério para avaliação da estabilidade: se  $|y_c - y_{ei}| \leq 0,3\sigma_p$ , o lote do material é estável nas condições testadas, sendo  $y_c$  as médias dos resultados obtidos para o grupo controle não submetido às condições de estresse e  $y_{ei}$  as médias dos resultados obtidos para o grupo experimental submetido às condições de estresse.

**Tabela 12.** Teste da estabilidade do material em condições de transporte, segundo critérios do protocolo harmonizado pela IUPAC

Analito	$y_c - y_{ei}$			Critério		Resultado
	3 dias	6 dias	9 dias	0,1 $\sigma_{pH}$	0,1 $\sigma_{pUE}$	
	<b>pg/g</b>					
2,3,7,8-TCDF	0,019	0,046	0,18	0,15	0,13	Estável até 6 dias
2,3,7,8-TCDD	0,015	0,0077	0,037	0,015	0,013	Instável
1,2,3,7,8-PeCDF	0,013	0,016	0,018	0,060	0,054	Estável até 9 dias
2,3,4,7,8-PeCDF	0,027	0,038	0,082	0,075	0,069	Estável até 6 dias
1,2,3,7,8-PeCDD	0,023	0,016	0,019	0,016	0,014	Instável
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,0090	0,0045	0,013	0,029	0,026	Estável até 9 dias
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,0049	0,0097	0,013	0,019	0,018	Estável até 9 dias
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,0046	0,0099	0,0024	0,012	0,011	Estável até 9 dias
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,0011	0,00030	0,0084	0,0042	0,0038	Estável até 6 dias
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,015	0,0063	0,0061	0,0060	0,0055	Instável
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-
$\Sigma$ Total PCDD/F (TEQ)	0,020	0,0077	0,056	0,078	0,035	Estável até 9 dias Horwitz e até 6 dias EU

2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.

$\sigma_{pH}$ : desvio padrão da proficiência estimado pelos modelos de Horwitz e Thompson (Thompson, 2000);  $\sigma_{pUE}$ : desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014); critério para avaliação da estabilidade: se  $|y_c - y_{ei}| \leq 0,1\sigma_p$ , o lote do material é estável nas condições testadas, sendo  $y_c$  as médias dos resultados obtidos para o grupo controle não submetido às condições de estresse e  $y_{ei}$  as médias dos resultados obtidos para o grupo experimental submetido às condições de estresse

Quando os grupos foram comparados, simultaneamente, por análise de variância não foram notadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), para nove analitos quantificados e somatório TEQ de congêneres (**Tabela 13**). Para o analito 2,3,7,8-TCDD, significativo pela análise de variância ( $p < 0,05$ ), foi aplicado teste de Tukey, o qual não evidenciou diferenças significativas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). Desta forma, tal estudo permitiu concluir que, para as dioxinas e furanos analisados, a exposição à faixa de temperatura  $45\text{ }^\circ\text{C} \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ , por um período de até nove dias, não alterou a qualidade do MR

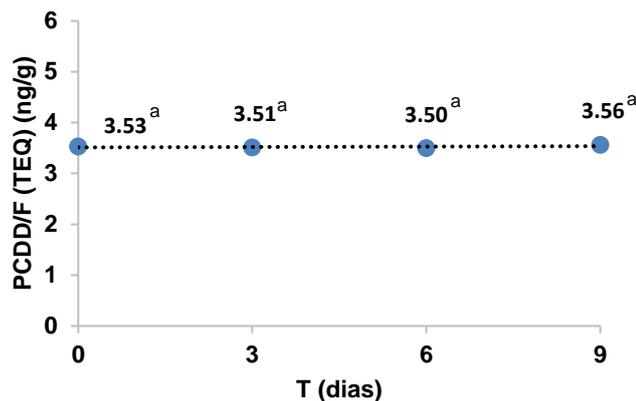
produzido, de forma que a distribuição do MRs aos participantes foi planejada em função destes resultados.

**Tabela 13.** Teste da estabilidade do material em condições de transporte por análise de variância

Analito	Média (pg/g)				F	P
	$y_c$		$y_{ei}$			
	0 dias	3 dias	6 dias	9 dias		
2,3,7,8-TCDF	6,6	6,6	6,5	6,7	1,5	0,25
2,3,7,8-TCDD	0,66 <sup>a</sup>	0,68 <sup>a</sup>	0,67 <sup>a</sup>	0,70 <sup>a</sup>	4,0	0,023
1,2,3,7,8-PeCDF	2,7	2,7	2,7	2,7	0,58	0,64
2,3,4,7,8-PeCDF	3,4	3,4	3,4	3,6	0,60	0,62
1,2,3,7,8-PeCDD	0,72	0,70	0,72	0,70	1,6	0,23
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1,3	1,3	1,3	1,3	0,085	0,97
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,88	0,87	0,88	0,87	0,085	0,97
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,56	0,55	0,54	0,54	1,4	0,28
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,19	0,19	0,19	0,18	0,30	0,83
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,27	0,26	0,26	0,26	0,97	0,43
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-
∑ Total PCDD/F (TEQ)	3,5	3,5	3,5	3,6	0,69	0,57

2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.  
F: estatística de F; p: probabilidade; Médias seguidas de mesma letra minúscula, na horizontal, não diferiram entre si, pelo Teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). Número de observações: 3.

Na **Figura 11** encontra-se ilustrado o perfil das respostas médias obtidas para o somatório TEQ dos congêneres de dioxinas e furanos quantificados no presente trabalho, nos MR expostos a  $45\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ , por períodos de três, seis e nove dias, demonstrando estabilidade nas condições simuladas de estresse durante o transporte.



**Figura 11.** Representação do perfil de estabilidade observado no estudo em curto prazo (modelo isócrono) para o somatório TEQ dos congêneres.

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

Lindig (1998), no EP realizado em 1998 para determinação de dioxinas e furanos em amostras de lodo, argumentou que os contaminantes PCDD/F eram muito estáveis dispensando, assim, estudos de conservação das amostras em condições de transporte e a longo prazo.

Outros EPs de escopo similar não descreveram o estudo de estabilidade simulando as condições de transporte (HAUG *et al.*, 2003; EPPE *et al.*, 2004; MAPA, 2014).

#### 5.4 TESTE DE ESTABILIDADE EM LONGO PRAZO – MODELO CLÁSSICO

No estudo de estabilidade clássica os MRs foram avaliados logo após sua preparação e no prazo estabelecido para que os laboratórios participantes reportassem os resultados, que correspondeu a 120 dias após a preparação. Esse estudo visou garantir que não fossem observadas variações no MR durante o período de distribuição e análise pelos participantes. Os resultados obtidos estão descritos nas **Tabelas 14 e 15**. Cumpre destacar que houve problemas analíticos que impediram a quantificação do analito 1,2,3,4,7,8-HxCDD. Assim como evidenciado no estudo de estabilidade em condições de transporte, os critérios definidos pela IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD,

2006), mais rigorosos, geraram conclusões mais restritivas ao material, indicando instabilidade de cinco dos nove analitos quantificados. Segundo a norma ISO 13528 (ISO 13528, 2015), o MR produzido foi considerado instável somente para o analito 1,2,3,4,7,8-HxCDF, se adotados os modelos de Horwitz e Thompson (THOMPSON, 2000) na estimativa do  $\sigma_p$ . Quando o desvio foi calculado em função dos valores regulamentados pela União Europeia (UE, 2014), instabilidade também foi indicada para o 1,2,3,7,8-PeCDD e o somatório TEQ dos congêneres.

Numa avaliação mais completa, envolvendo análise de regressão dos resultados obtidos na preparação do MR e em diferentes tempos no decorrer do prazo de vigência do EP de 120 dias, a estabilidade do material foi evidenciada, para as nove dioxinas e furanos quantificados e somatório TEQ destes congêneres. Em todos os casos, na análise de variância a regressão não foi significativa ( $p > 0,05$ ), conforme ilustrado nas **Figuras 12 e 13**.

**Tabela 14.** Teste de estabilidade do material, segundo critérios da norma ISO 13528, comparando-se os tempos 0 e 120 dias.

Analito	$y_c$	$y_{ei}$	$ y_c - y_{ei} $	Critério		Resultado
				$0,3\sigma_{pH}$	$0,3\sigma_{pUE}$	
			<b>pg/g</b>			
2,3,7,8-TCDF	6,4	6,3	0,12	0,42	0,38	Estável por 120 dias
2,3,7,8-TCDD	0,68	0,68	0,00029	0,045	0,041	Estável por 120 dias
1,2,3,7,8-PeCDF	2,5	2,5	0,034	0,16	0,15	Estável por 120 dias
2,3,4,7,8-PeCDF	3,3	3,1	0,20	0,22	0,20	Estável por 120 dias
1,2,3,7,8-PeCDD	0,69	0,65	0,045	0,046	0,042	Estável por 120 dias Horwitz e instável UE
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1,3	1,2	0,10	0,086	0,078	Instável
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,85	0,83	0,019	0,056	0,051	Estável por 120 dias
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,53	0,52	0,012	0,035	0,032	Estável por 120 dias
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,27	0,27	0,00090	0,018	0,016	Estável por 120 dias
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-
$\Sigma$ Total PCDD/F (TEQ)	3,45	3,32	0,13	0,23	0,10	Estável por 120 dias Horwitz e instável UE

2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.

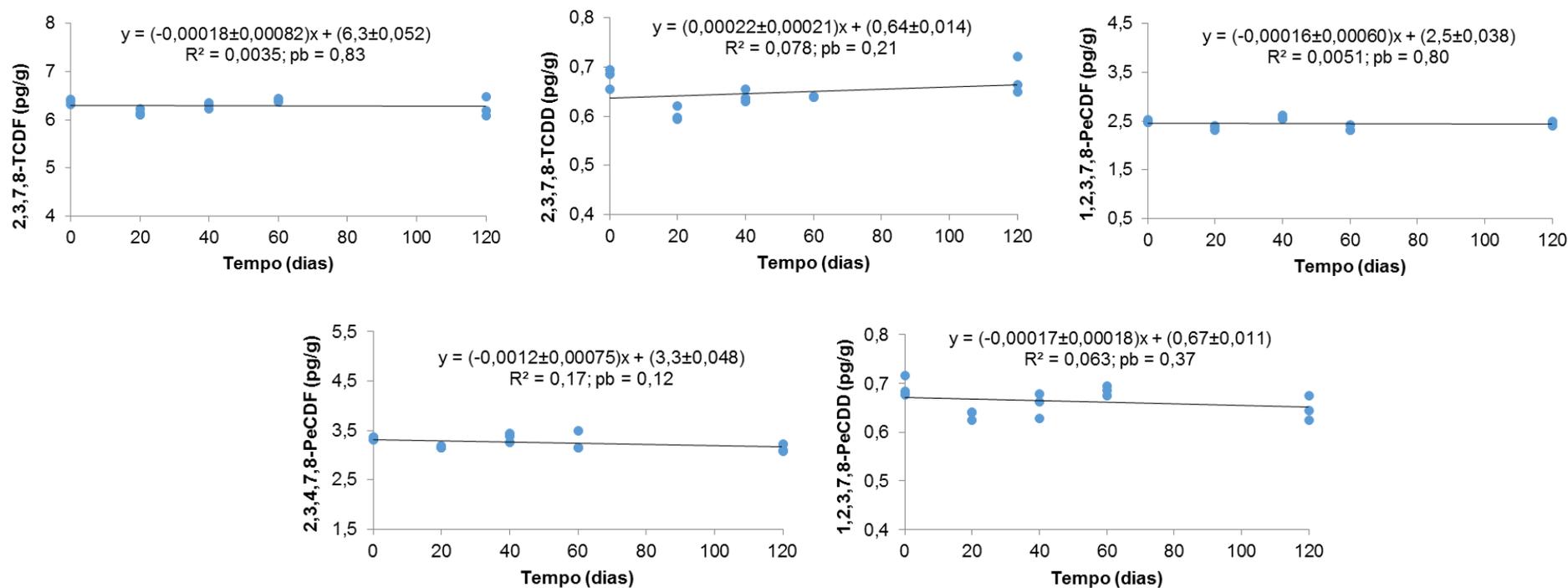
$\sigma_{pH}$ : desvio padrão da proficiência estimado pelos modelos de Horwitz e Thompson (Thompson, 2000);  $\sigma_{pUE}$ : desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014); critério para avaliação da estabilidade: se  $|y_c - y_{ei}| \leq 0,3\sigma_p$ , o lote do material é estável durante o período da proficiência, sendo  $y_c$  as médias dos resultados obtidos para o grupo controle não submetido às condições de estresse e  $y_{ei}$  as médias dos resultados obtidos para o grupo experimental submetido às condições de estresse

**Tabela 15.** Teste de estabilidade do material, segundo critérios do protocolo harmonizado pela IUPAC, comparando-se os tempos 0 e 120 dias.

Analito	$y_c$	$y_{ei}$	$ y_c - y_{ei} $	Critério		Resultado
				$0,1\sigma_{pH}$	$0,1\sigma_{pUE}$	
				<b>pg/g</b>		
2,3,7,8-TCDF	6,4	6,3	0,12	0,14	0,13	Estável por 120 dias
2,3,7,8-TCDD	0,68	0,68	0,00029	0,015	0,014	Estável por 120 dias
1,2,3,7,8-PeCDF	2,5	2,5	0,034	0,055	0,050	Estável por 120 dias
2,3,4,7,8-PeCDF	3,3	3,1	0,20	0,073	0,067	Instável
1,2,3,7,8-PeCDD	0,69	0,65	0,045	0,015	0,014	Instável
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1,3	1,2	0,10	0,029	0,026	Instável
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,85	0,83	0,019	0,019	0,017	Instável
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,53	0,52	0,012	0,012	0,011	Instável
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,27	0,27	0,00090	0,0059	0,0053	Estável por 120 dias
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-
$\Sigma$ Total PCDD/F (TEQ)	3,45	3,32	0,13	0,076	0,035	Instável

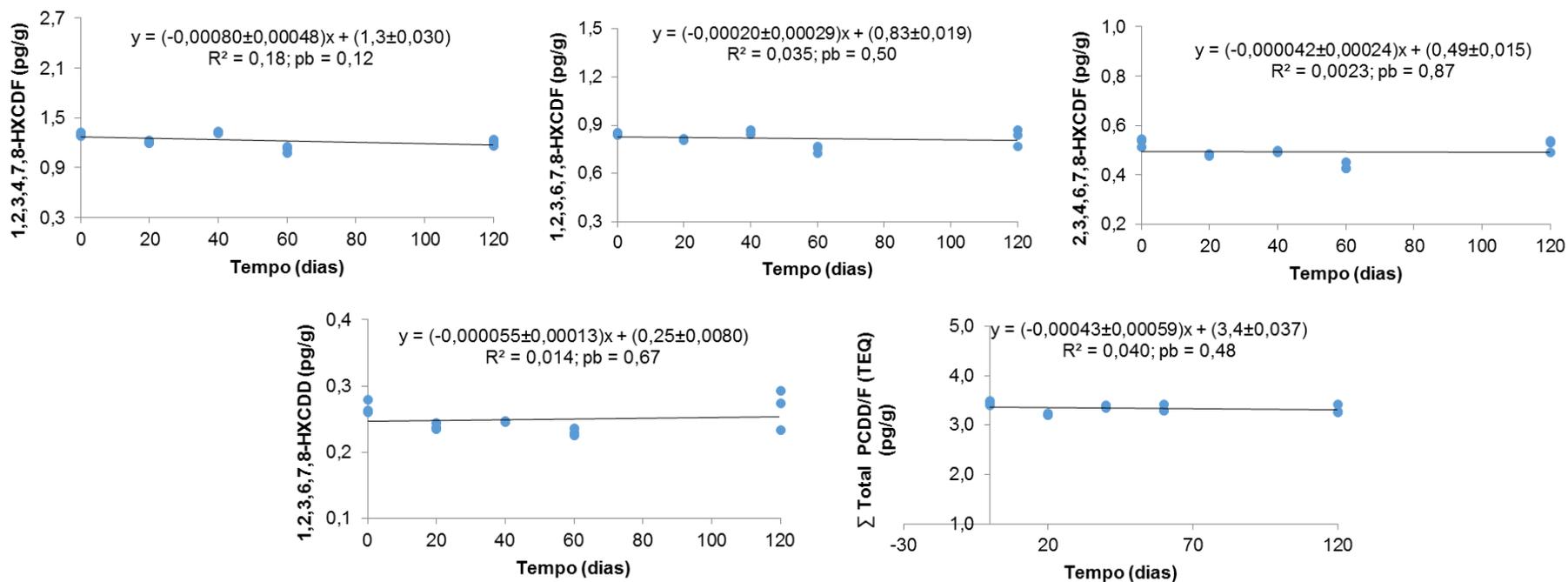
2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.

$\sigma_{pH}$ : desvio padrão da proficiência estimado pelos modelos de Horwitz e Thompson (Thompson, 2000);  $\sigma_{pUE}$ : desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014); critério para avaliação da estabilidade: se  $|y_c - y_{ei}| \leq 0,1\sigma_p$ , o lote do material é estável durante o período da proficiência, sendo  $y_c$  as médias dos resultados obtidos para o grupo controle não submetido às condições de estresse e  $y_{ei}$  as médias dos resultados obtidos para o grupo experimental submetido às condições de estresse



**Figura 12.** Representação do perfil de estabilidade observado no estudo em longo prazo (modelo clássico) para os congêneres 2,3,7,8-TCDF; 2,3,7,8-TCDD; 1,2,3,7,8-PeCDF; 2,3,4,7,8-PeCDF; e 1,2,3,7,8-PeCDD, por análise de regressão.

y = concentração do analito (pg/g), x = tempo em dias, R<sup>2</sup>= coeficiente de determinação, pb: probabilidade da significância da regressão ou inclinação; 2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina.



**Figura 13.** Representação do perfil de estabilidade observado no estudo em longo prazo (modelo clássico) para os congêneres 1,2,3,4,7,8-HxCDF; 1,2,3,6,7,8-HxCDD; 2,3,4,6,7,8-HxCDF; 1,2,3,6,7,8-HxCDD; e somatório TEQ, por análise de regressão.

y = concentração do analito (pg/g), x = tempo em dias,  $R^2$  = coeficiente de determinação, pb: probabilidade da significância da regressão ou inclinação; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina.

No EP organizado pelo MAPA (2014), a avaliação da estabilidade foi avaliada conforme os critérios descritos na norma ISO Guide 35 (ISO, 2006). Nesse estudo, como no presente estudo, foi realizado teste de regressão linear seguido de ANOVA. Todos os congêneres individuais e o somatório TEQ foram considerados estáveis até o final do ensaio.

Outros estudos conduzidos para determinação de dioxinas e furanos em matrizes de ração para nutrição animal, carne de peru, filé de salmão e queijo, não reportaram como a estabilidade foi avaliada (HAUG *et al.*, 2003; EPPE *et al.*, 2004).

## 5.5 RESULTADOS DOS PARTICIPANTES

Dez dos 12 laboratórios que aderiram ao estudo reportaram resultados, sendo dois desses somente para o somatório TEQ. Inicialmente, os dados foram compilados em uma planilha, contendo os resultados individuais das replicatas e as respectivas médias, por analito. Alguns laboratórios informaram, ainda, porcentagem de recuperação no controle, valores de incerteza e limite de quantificação, além de descreverem aspectos relacionados à marcha analítica do método escolhido para a análise, conforme detalhado na **Tabelas 16 e 17**.

**Tabela 16.** Informações relativas aos métodos reportadas pelos laboratórios participantes

Laboratório	Método analítico	Referência	Método validado	Tamanho da amostra	Método de Extração	Solvente da extração	Purificação	Deteção
L001	Bioensaio	NI	Sim	≥1 - <2 g	Extração com solvente	Hexano	Colunas de carvão e sílica	XDS-CALUX
L002	CG-EMAR	US-EPA 1613	Sim	≥5 - <10 g	Micro-ondas	Hexano	Coluna de florissil e sílica	EMAR
L003	CG-EMAR	NI	Sim	≥10 - <25 g	Extração com solvente	Hexano	Coluna de carvão, sílica, sílica ácida e sílica multicapa (AgNO <sub>3</sub> )	EMAR
L004	CG-EM/EM	NI	Não	≥2 - <5 g	Micro-ondas	Hexano	Coluna de florissil e sílica	EM/EM
L005	CG-EMAR	EPA 1613 (b)	Sim	≥5 - <10 g	Micro-ondas	Acetato de etila, diclorometano, hexano, tolueno	Coluna de alumina, carvão e FMS Power Prep	EMAR
L006	CG-EM/EM	NI	Sim	≥10 - <25 g	Extração com solvente	Diclorometano	Coluna de alumina e sílica	EM/EM
L009	CG-EMAR	EPA 1613 (b)	Sim	≥10 - <25 g	Extração líquida pressurizada	Acetona:hexano 3:1	Coluna de carvão e sílica	EMAR
L010	Bioensaio	NI	Sim	≥2 - <5 g	Banho ultra sônico	Hexano	Coluna de carvão, florissil e sílica ácida	DR-CALUX
L011	CG-EMAR	NI	Sim	≥1 - <2 g	NI	Hexano	Coluna de alumina, carvão e sílica	EMAR
L012	CG-EMAR	EPA 1613	Sim	≥10 - <25 g	Extração com solvente	Hexano	FMS Power Prep	EMAR

NI: Não informado pelo participante; CG-EMAR: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de alta resolução; EMAR: Espectrometria de massas de alta resolução; CG-EM/EM: Cromatografia gasosa com espectrometria de massas em modo *tandem*; EM/EM: espectrometria de massas em modo *tandem*.

**Tabela 17.** Informações relativas ao desempenho analítico reportadas pelos laboratórios participantes.

Analito	L001			L002			L003			L004			L005			L006			L009			L010			L011			L012		
	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ
2,3,7,8-TCDF	NI	NI	NI	65	0,10	0,025	55	0,19	0,083	72	NI	NI	83	0,02	0,01	83	0,89	0,021	51	1,8	0,090	NI	NI	NI	83	1,3	0,05	75	1,34	0,23
2,3,7,8-TCDD	NI	NI	NI	62	0,011	0,025	64	0,041	0,077	74	NI	NI	85	0,03	0,01	69	0,081	0,021	74	0,11	0,040	NI	NI	NI	86	0,13	0,05	75	0,23	0,08
1,2,3,7,8-PeCDF	NI	NI	NI	64	0,042	0,063	71	0,063	0,067	81	NI	NI	95	0,01	0,01	81	0,29	0,021	73	0,54	0,13	NI	NI	NI	88	0,54	0,05	61	0,53	0,42
2,3,4,7,8-PeCDF	NI	NI	NI	61	0,055	0,063	70	0,084	0,062	73	NI	NI	91	0,02	0,01	83	0,037	0,027	91	0,98	0,070	NI	NI	NI	85	0,69	0,05	61	0,66	0,17
1,2,3,7,8-PeCDD	NI	NI	NI	65	0,012	0,063	80	0,050	0,059	76	NI	NI	NI	0,03	0,01	90	0,067	0,021	97	0,23	0,060	NI	NI	NI	87	0,15	0,05	66	0,18	0,17
1,2,3,4,7,8-HxCDF	NI	NI	NI	61	0,014	0,063	63	0,063	0,045	80	NI	NI	60	0,03	0,01	82	0,084	0,048	72	0,30	0,090	NI	NI	NI	82	0,18	0,05	98	0,26	0,42
1,2,3,6,7,8-HxCDF	NI	NI	NI	60	0,015	0,063	67	0,046	0,042	83	NI	NI	57	0,02	0,01	74	0,12	0,026	73	0,25	0,080	NI	NI	NI	83	0,19	0,05	81	0,22	0,17
2,3,4,6,7,8-HxCDF	NI	NI	NI	63	0,0012	0,063	61	0,0054	0,054	77	NI	NI	78	0,02	0,01	80	0,008	0,025	77	0,17	0,12	NI	NI	NI	82	0,019	0,05	79	NI	0,17
1,2,3,4,7,8-HxCDD	NI	NI	NI	66	0,0036	0,063	65	0,015	0,062	79	NI	NI	79	0,02	0,01	109	0,017	0,021	74	0,057	0,11	NI	NI	NI	90	0,034	0,05	79	0,040	0,17
1,2,3,6,7,8-HxCDD	NI	NI	NI	66	0,0043	0,063	76	0,024	0,050	86	NI	NI	81	0,02	0,01	90	0,034	0,021	78	0,10	0,11	NI	NI	NI	85	0,046	0,05	89	0,060	0,17
1,2,3,7,8,9-HxCDD	NI	NI	NI	66	0,0015	0,063	71	0,020	0,058	84	NI	NI	89	0,02	0,01	63	0,013	0,021	NI	0,039	0,11	NI	NI	NI	86	0,019	0,05	89	NI	0,17
1,2,3,7,8,9-HxCDF	NI	NI	NI	65	0,010	0,063	65	0,033	0,042	84	NI	NI	89	0,03	0,01	92	0,066	0,021	75	0,12	0,090	NI	NI	NI	86	0,12	0,05	75	0,12	0,17
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	NI	NI	NI	69	0,0026	0,063	67	0,011	0,023	80	NI	NI	89	0,02	0,01	104	0,029	0,14	60	0,082	0,050	NI	NI	NI	83	0,037	0,05	68	NI	0,42
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	NI	NI	NI	70	0,0029	0,063	80	0,034	0,028	85	NI	NI	84	0,02	0,01	110	0,022	0,14	74	0,029	0,090	NI	NI	NI	88	0,029	0,05	70	NI	0,42
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	NI	NI	NI	62	NI	0,063	68	0,021	0,036	83	NI	NI	52	0,02	0,01	83	0,014	0,039	68	NI	0,070	NI	NI	NI	86	NI	0,05	72	NI	0,42
OCDD	NI	NI	NI	63	0,0025	0,13	83	0,012	0,042	74	NI	NI	56	0,02	0,01	110	0,027	0,43	81	0,10	0,12	NI	NI	NI	82	0,048	0,20	60	NI	11,67
OCDF	NI	NI	NI	66	NI	0,13	83	0,0010	0,044	72	NI	NI	NI	0,01	0,01	72	0,029	0,17	NI	0,22	0,14	NI	NI	NI	84	NI	0,20	60	NI	11,67
Σ Total PCDD/F (TEQ)	85	0,031	0,18	NI	0,057	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	0,93	NI	107	2,2	0,33	NI	0,69	NI	NI	0,38	NI

R: recuperação em %; U: incerteza de medição, em pg/g; LQ: Limite de quantificação em pg/g; NI: Não informado pelo participante; 2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.

Os quatro laboratórios que declararam referência original dos métodos empregados citaram o método EPA 1613. Somente um laboratório declarou adotar método não validado. Quatro laboratórios reportaram o emprego de alíquotas analíticas de  $\geq 10$  g a 25 g, enquanto as demais faixas de  $\geq 1$  g a 2 g,  $\geq 2$  g a 5 g e  $\geq 5$  g a 10 g foram declaradas por dois laboratórios cada. A maioria empregou extração com solvente (n=4), seguido de micro-ondas (n=3), extração líquida pressurizada (n=1) e banho ultrassônico (n=1), sendo que um participante não declarou nenhuma informação neste item. A maioria dos laboratórios empregou hexano (n=7), sendo outros solventes reportados diclorometano (n=1), acetona:hexano (n=1) e acetato de etila:diclorometano:hexano:tolueno (n=1). Na purificação dos extratos o emprego de colunas de carvão, sílica, florisil, alumina, sílica ácida e FMS Power Prep em diferentes combinações foi declarado pelos participantes. Dos dez laboratórios que reportaram os resultados, seis utilizaram como método de análise CG-EMAR. Dois participantes optaram pelo método de CG-EM/EM e outros dois utilizaram bioensaio (CALUX).

Cumprir observar que os laboratórios quantificaram analitos diferentes. Tal fato ocorreu devido aos diferentes limites de quantificação dos laboratórios participantes. Como no presente ensaio foi utilizada uma amostra naturalmente contaminada, os níveis de contaminação por dioxinas e furanos não foram “ajustados” a patamares de quantificação pela maioria dos laboratórios, o que é possível nos casos de materiais formulados por adição de padrões.

Os laboratórios que utilizaram como método analítico o bioensaio (L001 e L010) somente apresentaram resultados em duplicata para o somatório TEQ. Somente dois laboratórios (L004 e L005) apresentaram valores de quantificação em duplicata para os 17 congêneres e para o somatório TEQ. Três laboratórios (L003, L006 e L009) quantificaram 15 congêneres e o somatório TEQ. Os outros laboratórios apresentaram resultados para as duplicatas de 14 congêneres e o somatório TEQ (L002 e L011) e para 10 congêneres além do somatório TEQ (L012). Os congêneres quantificados pelo maior número de laboratórios corresponderam aos nove analitos para os quais

foi demonstrada homogeneidade e estabilidade no presente estudo e, como destacado anteriormente, aos de maiores valores de TEF. Os congêneres com menor frequência de quantificação pelos laboratórios foram o 1,2,3,4,7,8,9-HxCDF e o OCDF, os quais somente três laboratórios (L004, L005 e L006) conseguiram quantificar, seguidos de 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD e OCDD que foram quantificados por cinco participantes. Tais congêneres corresponderam aos de menor relevância toxicológica (TEFs de 0,01 e 0,0001) e, portanto, não impactaram significativamente nas estimativas de somatório TEQ. Tal cenário justificou a análise dos resultados do somatório TEQ neste EP.

Inicialmente, os resultados identificados como “inválidos” foram retirados. Para serem considerados inválidos esses dados estavam expressos nas unidades erradas ou foram considerados *outliers*, ou seja, se encontravam fora da faixa  $\pm 50\%$  da mediana dos resultados dos participantes (**Tabela 18**).

**Tabela 18.** Detecção de *outliers* entre os resultados dos participantes para determinação do valor designado pela média consensual, segundo critérios da norma ISO 13528 e do protocolo harmonizado pela IUPAC

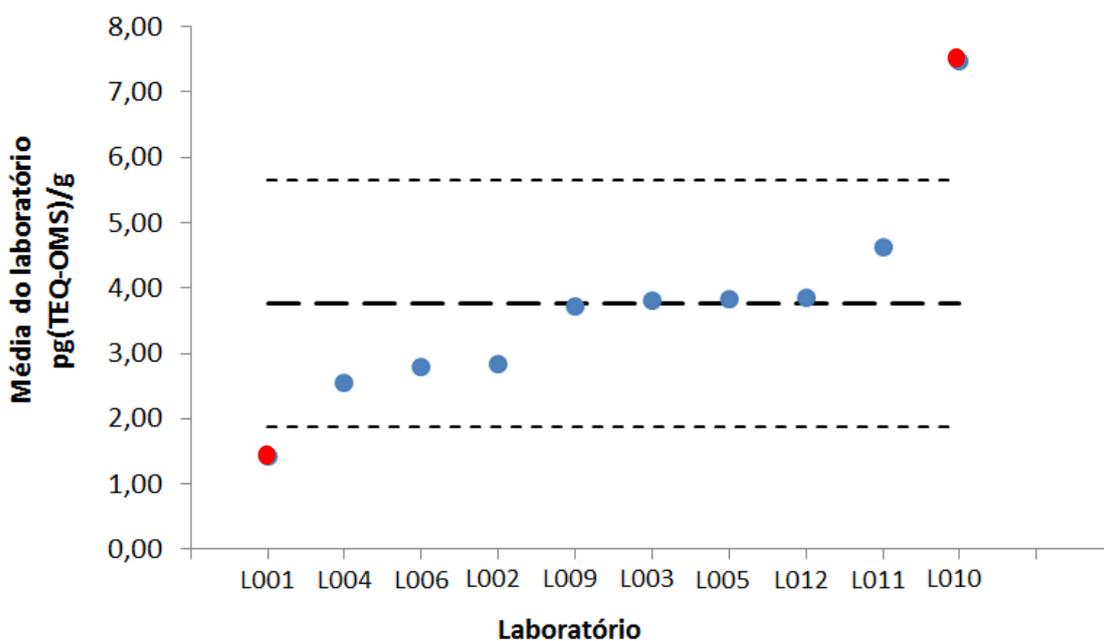
Analito	Mediana	Mediana -50%	Mediana +50%	N	Número de outliers	Média após tratamento
2,3,7,8-TCDF	6,9	3,4	10,3	8	0	6,6
2,3,7,8-TCDD	0,64	0,32	0,96	8	0	0,64
1,2,3,7,8-PeCDF	2,3	1,2	3,5	8	1	2,3
2,3,4,7,8-PeCDF	3,2	1,6	4,9	8	0	3,3
1,2,3,7,8-PeCDD	0,74	0,37	1,1	8	0	0,74
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1,1	0,57	1,7	8	0	1,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,85	0,43	1,3	8	0	0,87
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,33	0,16	0,49	6	>22%	Não estimada
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,29	0,14	0,43	8	0	0,29
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-
∑ Total PCDD/F (TEQ)	3,8	1,9	5,6	10	2	3,5

N: número de laboratórios que reportaram resultados; 2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano. O valor designado não foi estimado para o analito 2,3,4,6,7,8-HxCDF visto que houve indicação de mais que 22% dos dados como *outliers*.

Um resultado foi identificado como *outlier* para o congênera 1,2,3,7,8-PeCDF, o qual foi proveniente do L011. Os dois resultados indicados como *outliers* no caso do somatório TEQ foram dos laboratórios L001 e L010 que empregaram bioensaio CALUX, cujo propósito não é a quantificação de dioxinas e furanos, mas sim a triagem desses compostos. Para o analito 2,3,4,6,7,8-HxCDF, que foi quantificado por seis laboratórios, houve detecção de três *outliers*, correspondendo a um número de dados dispersos acima do limite de 20-22 % recomendado (HORWITZ, 1995; BURKE, 2001), acima do qual torna-se necessário questionar sobre a premissa de distribuição dos

dados obtidos ou sobre a qualidade dos mesmos. Desta forma, prosseguiu-se a análise de resultados sem o referido analito, ou seja, para oito congêneres e o somatório TEQ.

Um gráfico de pontos foi construído e representado na **Figura 14** para o somatório TEQ dos congêneres de dioxinas e furanos quantificados no presente trabalho, demonstrando os dois resultados tratados como *outliers*.

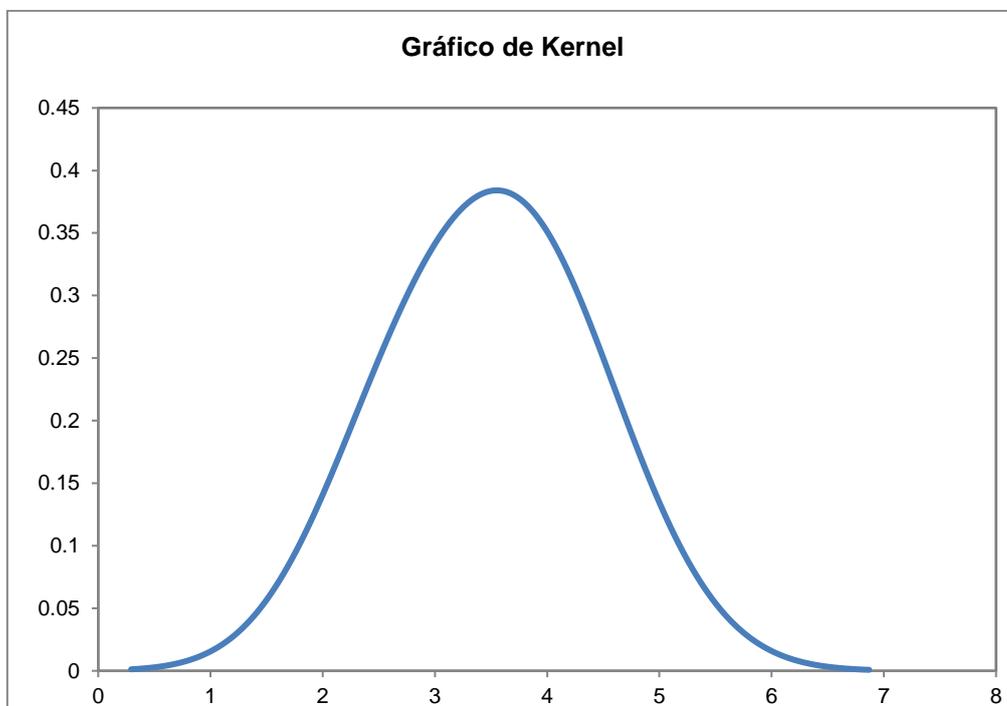


**Figura 14.** Representação do gráfico de pontos para o somatório TEQ dos congêneres.

*Outliers* indicados em vermelho., ----: limites de  $\pm 50\%$  da mediana; -----: mediana.

Em seguida, foi feita uma estimativa do estimador de intensidade da distribuição dos resultados utilizando *kernels* com uma amplitude  $h$  de  $0,75 \sigma_p$ , o que resultou em um estimador de intensidade unimodal e aparentemente simétrico em todos os casos. Desta forma, a média dos participantes pôde ser adotada como valor designado, em função do número de participantes inferior a 12 (THOMPSON; ELISSON; WOOD, 2006; ISO, 2015). Na **Figura 15**,

encontra-se ilustrado um gráfico típico de Kernel, o qual foi obtido para os resultados de somatório TEQ.



**Figura 15.** Representação do gráfico de Kernel para o somatório TEQ dos congêneres.

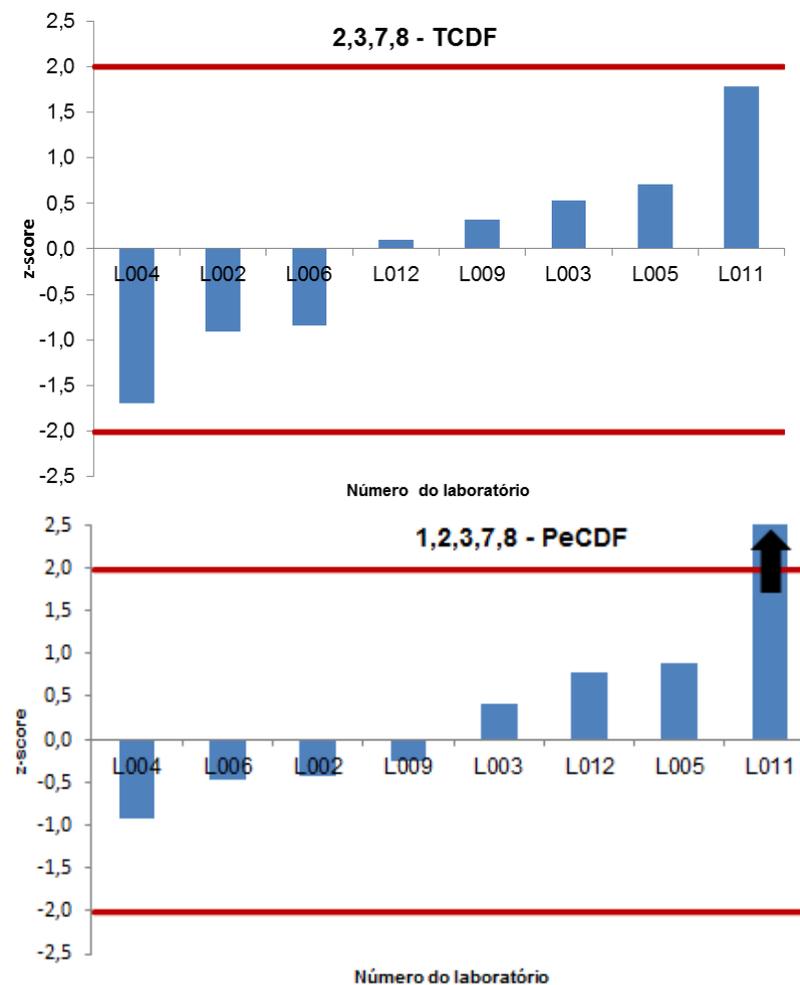
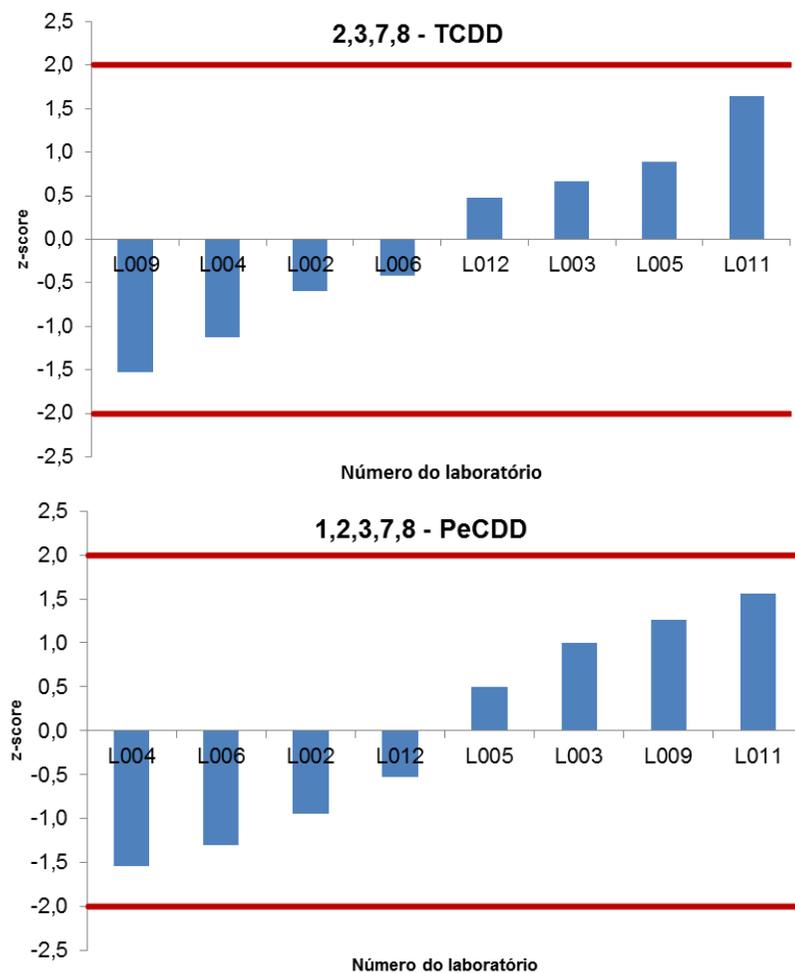
Altura fixada  $h:0,75$ .

O z-escore de cada participante foi obtido de duas formas, para cada congêner e para o somatório TEQ: i) considerando-se o desvio padrão de reprodutibilidade estimado pela função de Horwitz de 22% (THOMPSON, 2000), como o desvio alvo da proficiência; ii) considerando-se os valores de desvio padrão de reprodutibilidade regulamentados pela União Europeia (UE, 2014), de 10% para somatório e de 20% para congêneres individuais. Tais resultados encontram-se representados, com dois algarismos significativos, na **Tabela 19**, sendo que representações gráficas encontram-se ilustradas para os congêneres individuais nas **Figuras 16, 17 e 18**.

**Tabela 19.** Z-escore calculado para os participantes, empregando o desvio padrão de reprodutibilidade estimado pela função de Horwitz e regulamentado pela União Europeia.

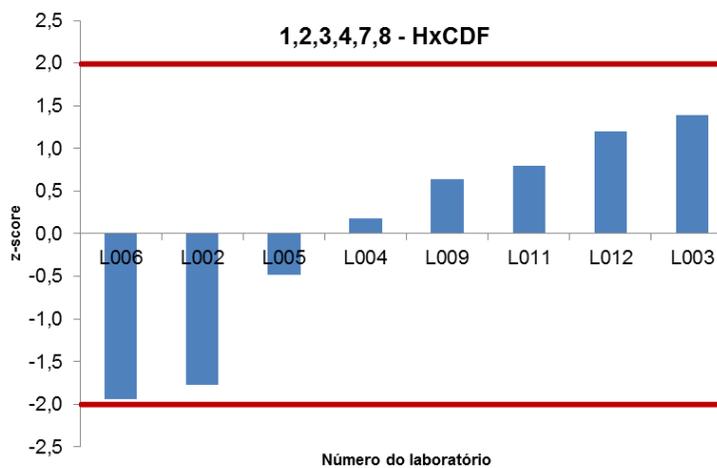
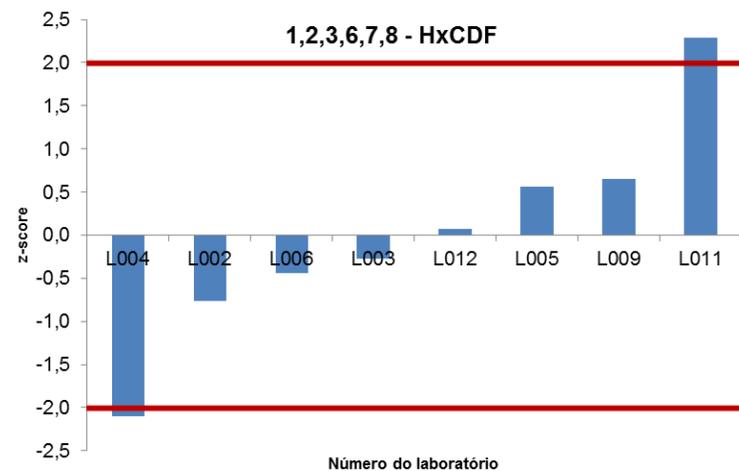
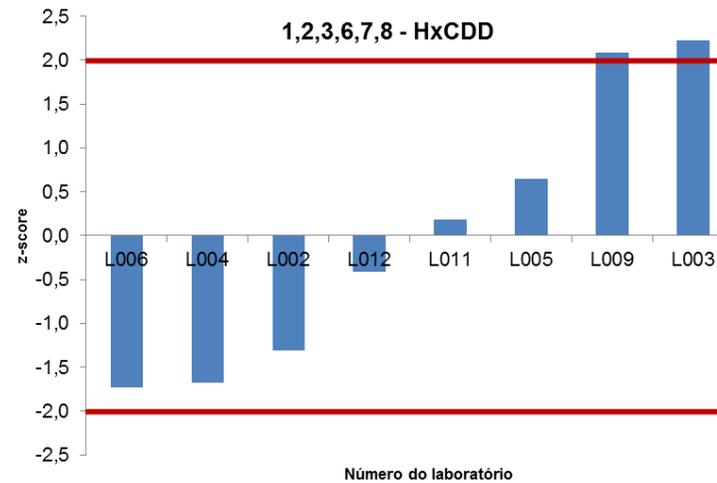
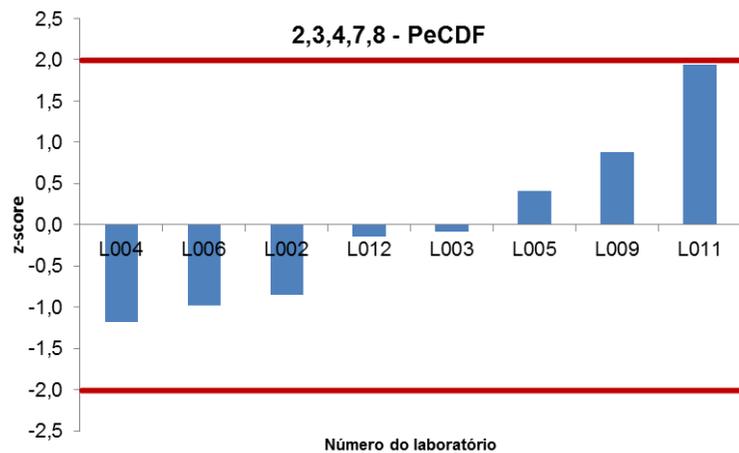
Analito	L001		L002		L003		L004		L005		L006		L009		L010		L011		L012	
	Z <sub>H</sub>	Z <sub>UE</sub>																		
2,3,7,8-TCDF	-	-	-0,83	-0,91	0,49	0,54	-1,5	-1,7	0,65	0,71	-0,77	-0,85	0,29	0,32	-	-	1,6	1,8	0,090	0,099
2,3,7,8-TCDD	-	-	-0,54	-0,60	0,61	0,67	-1,0	-1,1	0,81	0,89	-0,38	-0,42	-1,4	-1,5	-	-	1,5	1,6	0,43	0,47
1,2,3,7,8-PeCDF	-	-	-0,38	-0,42	0,37	0,40	-0,83	-0,91	0,80	0,88	-0,44	-0,48	-0,23	-0,25	-	-	2,6	2,9	0,71	0,78
2,3,4,7,8-PeCDF	-	-	-0,77	-0,85	-0,08	-0,083	-1,1	-1,2	0,37	0,40	-0,89	-0,98	0,80	0,88	-	-	1,8	1,9	-0,13	-0,14
1,2,3,7,8-PeCDD	-	-	-0,86	-0,95	0,91	1,0	-1,4	-1,5	0,45	0,50	-1,2	-1,3	1,1	1,3	-	-	1,4	1,6	-0,48	-0,53
1,2,3,4,7,8-HxCDF	-	-	-1,1	-1,8	1,3	1,39	0,16	0,18	-0,44	-0,49	-1,8	-1,9	0,58	0,64	-	-	0,72	0,79	1,1	1,2
1,2,3,6,7,8-HxCDF	-	-	-0,69	-0,76	-0,25	-0,28	-1,9	-2,1	0,51	0,56	-0,40	-0,44	0,60	0,66	-	-	2,1	2,3	0,062	0,068
2,3,4,6,7,8-HxCDF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-	-	-1,2	-1,3	2,0	2,2	-1,5	-1,7	0,58	0,64	-1,6	-1,7	1,9	2,1	-	-	0,17	0,18	-0,38	-0,41
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Σ Total PCDD/F (TEQ)	2,7	5,9	-0,86	-1,9	0,39	0,87	-1,2	-2,7	0,42	0,93	-0,93	-2,0	0,29	0,64	-6,7	-11	1,5	3,2	0,46	1,0

2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano. z<sub>H</sub>: z-escore obtido considerando-se desvio padrão da proficiência estimado pelos modelos de Horwitz e Thompson (Thompson, 2000); z<sub>UE</sub>: z-escore obtido considerando-se desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014). Destacados em cinza resultados fora da faixa considerada satisfatória para z-escore.



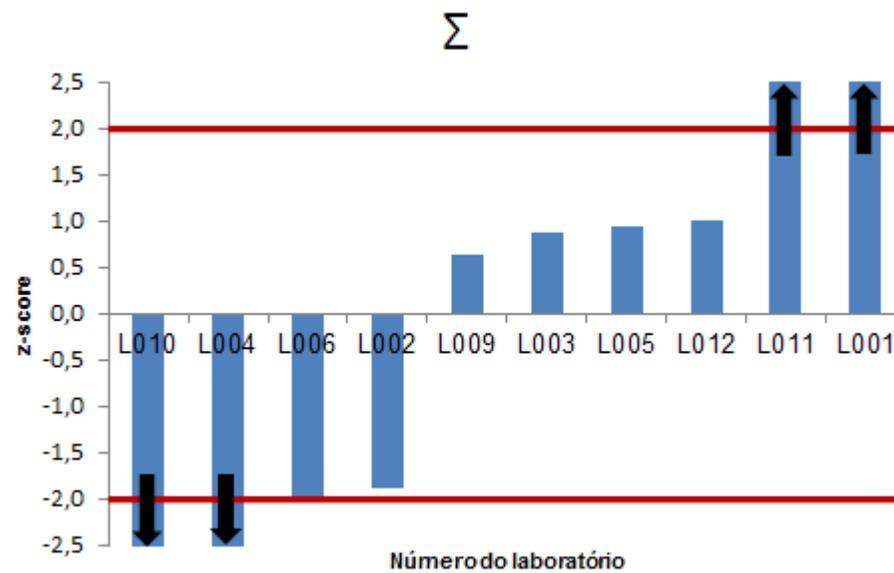
**Figura 16.** Z-escores estimados para laboratórios participantes para os analitos 2,3,7,8-TCDD; 2,3,7,8-TCDF; 1,2,3,7,8-PeCDD; 1,2,3,7,8-PeCDF, empregando o desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014).

Setas pretas indicam que o valor excedeu o limite do eixo.



**Figura 17.** Z-escores estimados para laboratórios participantes para os analitos 2,3,4,7,8-PeCDF; 1,2,3,6,7,8-HxCDD; 1,2,3,6,7,8-HxCDF; 1,2,3,4,7,8-HxCDF, empregando o desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014).

Setas pretas indicam que o valor excedeu o limite do eixo.



**Figura 18.** Z-escores estimado para laboratórios participantes para o somatório TEQ, empregando o desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014).

Setas pretas indicam que o valor excedeu o limite do eixo.

Para os analitos 2,3,7,8-TCDF, 2,3,7,8-TCDD, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, todos os valores de z-escores estimados foram satisfatórios para ambos os desvios padrões considerados. Desempenho insatisfatório foi evidenciado para um laboratório (L011) no caso do congênera 1,2,3,7,8-PeCDF e para dois laboratórios considerando os congêneres 1,2,3,6,7,8-HxCDD (L009 e L003) e 1,2,3,6,7,8-HxCDF (L004 e L011). Para o somatório TEQ quatro dos dez laboratórios participantes que reportaram resultado apresentaram valores de z-escore fora dos limites aceitáveis. Ressalta-se que dois desses laboratórios empregaram a técnica de bioensaio CALUX, embora com tendências distintas. Cumpre destacar que, os resultados de bioensaios de natureza qualitativa não são comparáveis aos resultados obtidos por métodos cromatográficos quantitativos e, portanto, os primeiros foram identificados como discrepantes. No entanto, sob um ótica quantitativa, pôde-se concluir que os bioensaios classificaram adequadamente os itens do presente EP como “positivos” para dioxinas.

Os laboratórios identificados como L002, L005, L006 e L012 obtiveram os melhores desempenhos, apresentando 100 % dos resultados satisfatórios. Todos os valores de z-escore estimados para o L002 e L006 foram valores negativos enquanto as estimativas de z-escore do L011 foram todas positivas, indicando uma tendência dos referidos laboratórios.

No EP realizado em matrizes para alimentação animal, o congênera 2,3,7,8-TCDD foi rejeitado devido ao número de *outliers* encontrados. Nesse estudo foram incluídos laboratórios especialistas e alguns com pouca experiência em dioxinas em matrizes alimentares, ainda assim não foram observadas diferenças significativas entre os desempenhos visto que os laboratórios demonstraram sensibilidade analítica para dioxinas e furanos em níveis baixos (0,02 pg/g) (EPPE; CONFINO; PAUW, 2004).

Os resultados do EP para dioxinas e furanos em filé de pescado, teve sete dos 18 analitos com resultados 100 % satisfatórios para todos os laboratórios, entretanto somente o analito 2,3,4,7,8-PeCDF foi coincidente com

o presente estudo. No mesmo estudo um laboratório teve todos os valores de z-escore negativos e dentro da faixa satisfatória (MAPA, 2014).

Pôde-se concluir, portanto, pelo adequado desempenho do grupo de laboratórios participantes para os congêneres de maior TEF, ou seja, de maior relevância toxicológica.

## 6. CONCLUSÕES

O material produzido a partir de amostras naturalmente contaminadas de gordura de aves se mostrou homogêneo para dez dos 17 congêneres pesquisados, os quais foram quantificados por CG-EMAR, além do somatório TEQ segundo critérios da norma ISO 13528 e do protocolo harmonizado pela IUPAC.

O material foi considerado estável para os dez congêneres quantificados e também para o somatório TEQ em condições de transporte (na qual os mesmos foram expostos a  $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  por nove dias), segundo critérios da norma ISO 13528.

O material foi considerado estável para oito dos 10 congêneres quantificados e também para o somatório TEQ num prazo de 120 dias após a preparação, segundo critérios da norma ISO 13528, entretanto, para o somatório TEQ e para o congênere 1,2,3,7,8-PeCDD a avaliação da estabilidade só pode ser considerada estável quando considerado o desvio padrão de reprodutibilidade estimado pela função de Horwitz. Numa análise completa, por análise de regressão, que envolveu o monitoramento do material em diferentes tempos durante a duração do EP, o material foi considerado homogêneo para nove congêneres e somatório TEQ.

Os laboratórios se mostraram aptos às análises de dioxinas e furanos para a maioria dos congêneres pesquisados, incluindo os de maior relevância toxicológica.

Os métodos CG-EMAR e CG-EM/EM se mostraram como alternativas adequadas para a quantificação de dioxinas e furanos, já os bioensaios, de natureza qualitativa, embora não comparáveis aos métodos cromatográficos, representaram classificações adequadas dos itens de ensaio do presente EP.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALOS, M. *et al.* Meeting the European Commission performance criteria for the use of triple quadrupole GC-MS/MS as a confirmatory method for PCDD/Fs and dl-PCBs in food and feed samples. *Anal Bioanal Chem*, v. 408, 3511-3525, 2016.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) ISO (International Standard Organization). *ABNT NBR ISO/IEC 17025. Requisitos gerais para a competência de laboratório de ensaio e calibração*. Rio de Janeiro: ABNT, 2005. 31 p.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). *ABNT ISO Guia 35. Materiais de referência - Princípios gerais e estatísticos para certificação*. Rio de Janeiro: ABNT, 2012. 73 p.
- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). *ABNT ISO/IEC 17043 Requisitos Gerais para Ensaio de Proficiência*. Rio de Janeiro: ABNT, 2011.
- ALMEIDA, F. V.; CENTENO, A. J.; BISINOTI, M. C. *et al.* Substâncias tóxicas persistentes (STP) no Brasil. *Química Nova*, v.30, n.8, 1976-1985, 2007.
- ARCHER, J. C.; JENKINS Jr, R. G. Automated milk fat extraction for the analyses of persistent organic pollutants. *Journal of Chromatography B*, v. 1041-1042, 70-76, 2017.
- ASSIS, M. T. Q. M. *et al.* Avaliação físico-química de filés de peito de frango adicionados de sal, tripolifosfato de sódio e proteína isolada de soja. *Alim. Nutr.*, v.21, n.1, 129-139, 2010.
- ASSUNÇÃO, J. V.; PESQUERO, C. R. Dioxinas e furanos: origens e riscos. *Revista de Saúde Pública*, v.33, n.5, 523-530, 1999.
- AUGUSTI, D.V. *et al.* Method validation and occurrence of dioxins and furans (PCDD/Fs) in fish from Brazil. *Anal. Methods*, v. 6, 1963-1969, 2014.
- AYLWARD, L. *et al.* Concentration-dependent TCDD elimination kinetics in humans: toxicokinetic modeling for moderately to highly exposed adults from Seveso, Italy, and Vienna, Austria, and impact on dose estimates for the NIOSH cohort. *J Expo Anal Environ Epidemiology*, v.15, 51-65, 2005.
- BASTOS, L. H. P. *et al.* Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional. *Cad. Saúde Colet.*, v.19, n.1, 51-60, 2011.
- BECHER, G.; HAUG, L. S.; THOMSEN, C. World-wide comparison on the quality of analytical determinations of PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in food. *Talanta*, v.63, 1115-1122, 2004.
- BERNARD, A.; BROECKAERT, F.; POORTER, G.; COCK, A.; HERMANS, C.; SAEGERMAN, C.; HOUINS, G. The Belgian PCB/Dioxin Incident: Analysis of the food chain contamination and health risk evaluation. *Environmental Research*, v.88, 1-18, 2002.
- BERTAZZI, P. A. *et al.* The Seveso studies on early and long-term effects of dioxin exposure: a review. *Environ Health Perspect*, v.106, n.2, 625-633, 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa 5/2003. Disponível em <

- <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPor&chave=658207411> > acesso em 14 de janeiro de 2016.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 9 de 12 de maio de 2016. 2016.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 13 de 15 de julho de 2015. 2015a.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 11 de 07 de maio de 2014. 2014a.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 27 de 29 de maio de 2013. 2013a.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 11 de 22 de maio de 2012. 2012.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 60 de 07 de maio de 2014. 2014b.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 22 de 07 de abril de 2015. 2015b.
- BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 07 de 27 de março de 2013. 2013b.
- BURKE, S. Missing values, outliers, robust statistics & non-parametric methods. LC GC, p. 19-24, 2001.
- CABRITA, I. *et al.*, Formação e Destrução de Dioxinas em Processos de Combustão e Co-Combustão. Revista Faculdade de Medicina de Lisboa, v.8, n.4, 225-235, 2003.
- CALDAS, E. O. L. Análise econômica da produção industrial de frangos de corte: estudo sob a ótica do produtor integrado. Tese de Mestrado, Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, 114p. 2014.
- CENTENARO, G. S.; FURLAN, V. J. M.; SOUZA-SOARES, L. A. Gordura de frango: alternativas tecnológicas e nutricionais. Semina: Ciências Agrárias, v.29, n.3, 619-630, 2008.
- CHOBTANG, J. *et al.* Like Polychlorinated Biphenyls along the Milk, Eggs and Meat Food Chain. Sensors, v.11, n.12, 11692-11716, 2011.
- CODEX ALIMENTARIUS. Prevention and Reduction of Food and Feed Contamination. World Health Organization (WHO) & Food And Agriculture Organization Of The United Nations (FAO), Roma, first edition, 2012.
- DEMOND, A. *et al.* Human Exposure from Dioxins in Soil. Environmental Science & Technology, v.46, 1296-1302, 2012.
- EFSA (European Food Safety Authority). Update of the monitoring of dioxins and PCB levels in food and feed. EFSA Journal 2012; 10(7):2832. [82p.] Disponível em: [www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal). Acesso em: 03 maio. 2016.
- ELJARRAT, E.; CAIXACH, J.; RIVERA, J. Determination of PCDDs and PCDFs in different animal feed ingredients. Chemosphere, v.46, 1403-1407, 2002.
- EPA (Environmental Protection Agency). EPA's Reanalysis of Key Issues Related to Dioxin Toxicity and Response to NAS Comments, Volume 1. In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). Washington, February 2012.

- EPPE, G.; CONFINO, W. P.; PAUW, D. Performances and limitations of the HRMS method for dioxins, furans and dioxin-like PCBs analysis in animal feedingstuffs. Part I: Results of an inter-laboratory study. *Analytica Chimica Acta*, v. 519, 231–242, 2004.
- EPTIS < <https://www.eptis.bam.de/en/index.htm> > 2016. Acesso em 01 de abril de 2016.
- ESFA (European Food Safety Authority). Update of the monitoring of levels of dioxins and PCBs in food and feed. *ESFA Journal*, v.10, n.7, 82p, 2012.
- EVANS, T. Global Poultry Trends 2014: Growth in Chicken Consumption in Americas Slows. *The Poultry Site*, 2015. Disponível em < <http://www.thepoultrysite.com/articles/3324/global-poultry-trends-2014-growth-in-chicken-consumption-in-americas-slows/> > acesso em 03 de março de 2016.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *World agriculture: towards 2015/2030 na FAO perspective*. Earthscan Publications Ltd, London, 432p., 2003.
- FAO STAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Site, 2015. Disponível em < <http://www.fao.org/faostat/en/#home> > acesso em 21 de março de 2016.
- FERREIRA, A. P.; WERMELINGER, E. D. Dioxins and polychlorinated biphenyls concentrations in *Larus dominicanus*. Case study: Marambaia island, Sepetiba bay, Rio de Janeiro State, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v.35, n.3, 373-380, 2013.
- FRAWLEY, R. *et al.* Relative Potency for Altered Humoral Immunity Induced by Polybrominated and Polychlorinated Dioxins/Furans in Female B6C3F1/N Mice. *Toxicological Sciences*, v.139, n.2, 488-500, 2014.
- FUKUSHI, J. *et al.* Effects of dioxin-related compounds on bone mineral density in patients affected by the Yusho incident. *Chemosphere*, v.145, 25-33, 2016.
- FÜRST, P. Dioxins in feed and food again – real or perceived risk? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, v.113, 401-402, 2011.
- GANDHI, N. *et al.* Evaluation and Interconversion of Various Indicator PCB Schemes for  $\Sigma$ PCB and Dioxin-Like PCB Toxic Equivalent Levels in Fish. *Environ. Sci. Technol.* v. 49, 123-131, 2015.
- GANDRA, R.L.P.; SANTOS, A.L.S.; SANTOS, P.P.B.; ALVARENGA, R.L.; LABANCA, R.A.; JUNQUEIRA, R.G.; SOUZA, S.V.C. Production and evaluation of a reference material for moisture, ash, total fat, and titratable acidity in whole milk powder. *Accreditation and Quality Assurance*. 2015.
- GAO, L. *et al.* Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in water and six fish species from Dongting Lake, China. *Chemosphere*, v.114, 150-157, 2014.
- GARCÍA-BERMEJO, A. *et al.* Triple quadrupole tandem mass spectrometry: A real alternative to high resolution magnetic sector instrument for the analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, furans and dioxin-like polychlorinated biphenyls. *Analytica Chimica Acta*. v. 889, 156-165, 2015.
- GARRISON, P.M. *et al.* Species-specific recombinant cell lines as bioassay systems for the detection of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-like chemicals. *Fundam. Appl. Toxicol.*, v.30, 194-203, 1996.

- GHIMPETEANU, O.; MILITARU, M.; SCIPPO, M. L. Dioxins and polychlorinated biphenyls contamination in poultry liver related to food safety e A review. *Food Control*, v.38, 47-53, 2014.
- GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes Endócrinos no Ambiente. *Química Nova*, v. 30, n.3, 695-706, 2007.
- GREENPEACE. Relatório Greenpeace sobre a contaminação de leite e ração na Europa com dioxinas provenientes da empresa Solvay do Brasil. 7p, 1999. Disponível em < <http://www.greenpeace.org/brasil/PageFiles/4990/cppsolvay.pdf> > acesso em 14 de janeiro de 2016.
- HAUG, L. S.; BROADWELL, S. L.; BECHER, G. Interlaboratory Comparison on Dioxins in Food 2003. Norwegian Institute of Public Health, 2003. 14p.
- HAUTRIVE, T. P.; MARQUES, A. Y. C.; KUNOTA, E. H. Avaliação da composição centesimal, colesterol e perfil de ácidos graxos de cortes cárneos comerciais de avestruz, suíno, bovino e frango. *Alim. Nutr.*, v.23, n.2, 327-334, 2012.
- HITES, R. A. Dioxins: An Overview and History. *Environmental Science & Technology*, v.45, 16-20, 2011.
- HOANG, T. T. *et al.* Levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans (PCDD/Fs) and dioxin-like PCBs in free range eggs from Vietnam, including potential health risks. *Chemosphere*, v.114, 268-274, 2014.
- HOLT, E. *et al.* Polychlorinated dibenzo-p dioxins/furans (PCDD/Fs) and metals in scots pine (*Pinus sylvestris*) needles from Eastern and Northern Europe: Spatiotemporal patterns, and potential sources. *Chemosphere*, v.156, 30-36, 2016
- HOOGENBOOM, L. *et al.* The CALUX bioassay: Current status of its application to screening food and feed. *Trends Anal. Chem.*, v.25, 410-420, 2006.
- HOOGENBOOM, R. *et al.* European developments following incidents with dioxins and PCBs in the food and feed chain. *Food Control*, v.50, 670-683, 2015.
- HOOGENBOOM, R. L. A. P. *et al.* Dioxins, PCBs and heavy metals in Chinese mitten crabs from Dutch rivers and lakes. *Chemosphere*, v.123, 1-8, 2015.
- HOOGENBOOM, R. L. A. P. *et al.* Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) and biphenyls (PCBs) in home-produced eggs. *Chemosphere*. v. 150, 311-319, 2016.
- HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies. *Pure Appl. Chem.*, v. 67, p. 331-343, 1995.
- HUE, N. T. M. *et al.* Determination of PCDD/Fs in breast milk of women living in the vicinities of Da Nang Agent Orange hot spot (Vietnam) and estimation of the infant's daily intake. *Science of the Total Environment*, v. 491-492, 212-218, 2014.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). *Iarc Monographs*. 2012. Disponível em: < <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-27.pdf> > acesso em 08 de agosto de 2015.
- INMETRO. Atividades de Ensaio de Proficiência do Inmetro. 2016. Disponível em < <http://www.inmetro.gov.br/> > acesso em 04 de março de 2016.

- INMETRO. Relatório final do ensaio de proficiência para determinação de micotoxinas em alimentos 1ª rodada – Matriz amendoim. 2010. Disponível em < [http://www.inmetro.gov.br/metcientifica/pdf/RelFinal\\_Amendoim\\_1.pdf](http://www.inmetro.gov.br/metcientifica/pdf/RelFinal_Amendoim_1.pdf) > acesso em 06 de março de 2016.
- ISO 13528. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons, ISO 13528. 76p, 2015.
- ISO Guide 35, Reference Materials – General and Statistical Principles for Certification, 2006.
- KAN, C. A.; MEIJER, G. A. L. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, v.133, 84-108, 2007.
- KARL, H. *et al.* Large scale distribution of dioxins, PCBs, heavy metals, PAHmetabolites and radionuclides in cod (*Gadus morhua*) from the North Atlantic and its adjacent seas. *Chemosphere*, v. 149, 294-303, 2016.
- KOTZ, A.; HADRICH, J.; WAHL, K.; DJUCHIN, K.; MALISCH, R. EU-RL Proficiency Tests for PCDD/Fs and PCBs. EURL (European Union Reference Laboratory). Germany, 2014.
- KRAUSE, J. Color Index revised edition. Rev. ed, of Color index, 2002. Cincinnati: How Book, 2010.
- LE, T. N.; JOHANSSON, A. Impact of chemical warfare with agente orange on women`s reproductive lives in Vietnam: a pilot study. *Reprod Health Matters*, v.18, 156-164, 2001.
- LEE, C. *et al.* Temporal trend of polychlorinated dibenzo-p-dioxin/polychlorinated dibenzofuran and dioxin like-polychlorinated biphenyl concentrations in food from Taiwan markets during 2004–2012. *Journal of Food and Drug Analysis*. v. 24, n.3, 644-652, 2016.
- LIN, Y. *et al.* A validated method for rapid determination of dibenzo-p-dioxins/furans (PCDD/Fs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human milk: focus on utility of tandem solid phase extraction (SPE) cleanup. *Anal. Bioanal. Chem.*, v. 408, 4897-4906, 2016.
- LINDIG, C. Proficiency testing for dioxin laboratories determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in sewage sludge. *Chemosphere*, v.37, n.3, 405-420, 1998.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Relatório de ensaio de proficiência para análise de dioxinas e furanos em músculo de peixe 2014. v.1. Pedro Leopoldo – M.G. 2014.
- MANNING, T. M. *et al.* Levels of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in seafood from Sydney Harbour, Australia. *Environmental Pollution*, v. 224, 590-596, 2017.
- MARINKOVIC, N. *et al.* A. Dioxins and human toxicity. *Arh Hig Rada Toksikol*, v.61, 445-453, 2010.
- MARTINS, V. China suspende compra de carne de frango da BRF. *Revista Exame*. Setembro, 2015. Disponível em < <http://exame.abril.com.br/negocios/china-suspende-compra-de-frango-da-brf/> >, acesso em 24 de janeiro de 2017.
- MILICEVIC, D. *et al.* Physicochemical and functional properties of chicken meat. *Procedia Food Science*, v.5, 191-194, 2015.

- MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Perfil do Agronegócio Mundial, 2014. Disponível em <  
<http://www.agricultura.mg.gov.br/images/documentos/Perfil%20Mundial%20DezembrD%202014.pdf>> acesso em 13 de janeiro de 2016.
- MORTENSEN, A. *et al.* Levels and risk assessment of chemical contaminants in byproducts for animal feed in Denmark. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, v. 49, 797-810, 2014.
- NETO, M. A. M. Caracterização de propriedades termofísicas de misturas de óleos lubrificantes e fluidos refrigerantes naturais. Universidade Federal de Santa Catarina - Programa de Pós Graduação em Engenharia Mecânica. . [Tese de Mestrado], 2006. 162p.
- NUNES, C. M. Produção e avaliação de material de referência para o escopo dioxinas, furanos e bifenilas policloradas em filé de pescado. Universidade Federal de Minas Gerais – Faculdade de Farmácia. [Tese de Mestrado], 2015. 125p.
- OLANCA, D. *et al.* Polychlorinated dioxins, furans (PCDD/Fs), dioxin-like polychlorinated biphenyls (dl-PCBs) and indicator PCBs (ind-PCBs) in egg and egg products in Turkey. *Chemosphere*, v.94, 13-19, 2014.
- OLIVEIRA, M. S. R. de; FRANZEN, F. L.; TERRA, N. N. Utilização da carne mecanicamente separada de frango para a produção de hidrolisados proteicos a partir de diferentes enzimas proteolíticas. *Semina: Ciências Agrárias*, v.35, n.1, 291-302, 2014.
- PEMBERTHY, D. *et al.* Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like PCBs in commercialized food products from Colombia. *Science of The Total Environment*. v. 588, 1185-1191, 2016.
- PENTEADO J. C. P.; VAZ, J. M. O legado das bifenilas policloradas (PCB). *Química Nova*, n. 3, v. 24, 390-398, 2001.
- PISKORSKA-PLISZCZYŃKA, J. *et al.* Dioxins, furans, and polychlorinated biphenyls in hen eggs – a new source of hazard for consumers? *Bull Vet Inst Pulawy* v.59, 519-526, 2015.
- PLANCHE, C. *et al.* Assessment of comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry based methods for investigating 206 dioxin-like micropollutants in animal-derived food matrices. *Journal of Chromatography A*, v.1392, 74–81, 2015.
- PORTOLES, T. *et al.* Evaluation of the capabilities of atmospheric pressure chemical ionization source coupled to tandem mass spectrometry for the determination of dioxin-like polychlorobiphenyls in complex-matrix food samples. *Analytica Chimica Acta*, v.937, 96-105, 2016.
- PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. *Scientia Chromatographica*, v.3, n.1, 51-64, 2011.
- REINER, E. J. The analysis of dioxins and related compounds. *Mass Spectrom. Rev.*, v.29, 526-559, 2010.
- RELVAS, H.; LOPES, M.; COUTINHO, M. Portuguese inventory of dioxins and furans atmospheric emissions. *Chemosphere*, v.93, 1569-1577, 2013.

- RIOS, H. C. S.; PEREIRA, I. R. O.; ABREU, E. S. Avaliação da oxidação de óleos, gorduras e azeites comestíveis em processo de fritura. *Revista Ciência & Saúde*, v.6, n.2, 118-126, 2013.
- ROCHA, D. A. M. *et al.* Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) in Brazilian cow milk. *Science of The Total Environment*. v. 572, 177-184, 2016.
- RODRIGUES, K. F. *et al.* Potencialidade da gordura de frango para a produção de biodiesel. *Biodiesel: o novo combustível do Brasil. Anais do Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel*, v.5, 129-132, 2005.
- ROSAS, C. D. *et al.* Desenvolvimento de material de referência para ensaio de proficiência em microbiologia de alimentos. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v.69, n.1, 15-22, 2010.
- ROSE, M. *et al.* Contamination of fish in UK fresh water systems: Risk assessment for human consumption. *Chemosphere*, v. 122, 183-189, 2015.
- SAN MARTIN, D.; RAMOS, S.; ZUFÍA, J. Valorisation of food waste to produce new raw materials for animal feed. *Food Chemistry*, v.198, 68-74, 2015.
- SANTOS, S.R.; SOUZA, S.V.C. Ensaio de proficiência em análises de alimentos: uma análise crítica do panorama brasileiro. *Analytica*, Jun/Jul, 10-24, 2016.
- SCHECTER, A. J.; COLACINO, J. A.; BIRNBAUM, L. S. Dioxins: Health Effects. *Encyclopedia of Environmental Health*, 93-101, 2011.
- SCHOFFER, J. T. *et al.* Aplicación del bioensayo EROD-H4IIE para la determinación de dioxinas en carnes de pollos broiler: un estudio de equivalencia con la cromatografía de gases de alta resolución acoplada a espectrometría de masas de alta resolución. *Arch Med Vet.*, v.43, 259-266, 2011.
- SHEN, H. *et al.* The bioaccessibility of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polychlorinated dibenzo-p-dioxins/furans (PCDD/Fs) in cooked plant and animal origin foods. *Environment International*. v. 94, 33-42, 2016.
- SORENSEN, S. *et al.* Identification of Baltic Sea salmon based on PCB and dioxin profiles. *Food Control*, v. 61, 165-171, 2016.
- SORG, O. *et al.* 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) poisoning in Victor Yushchenko: identification and measurement of TCDD metabolites. *Lancet*, v.374, 1179-1185, 2009.
- SOUZA, S. A. B; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N. E. Proteínas, lipídeos e colesterol em carne de frango assado. *Revista Unimar*, v.19, n.4, 1069-1073, 1997.
- SYCHEVAA, L. P. *et al.* Dioxins and cytogenetic status of villagers after 40 years of agent Orange application in Vietnam. *Chemosphere*, v.144, 1415-1420, 2016.
- THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories. *International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Pure Appl. Chem.*, v.78, n.1, 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.*, vol. 125, p. 385-386, 2000.

- TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; CUNHA, B. R. M. Experimentos com a polpa cítrica em ovinos e coelhos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.21, n.4, 172-176, 2001.
- TUE, N. M. *et al.* Dioxin-related compounds in breast milk of women from Vietnamese e-waste recycling sites: Levels, toxic equivalents and relevance of non-dietary exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 106, 220-225, 2014.
- UHLIG, S.; EICHLER, S. Are the results of customary methods for analyzing dioxin and dioxin-like compound congener profiles court-proof? *Journal of Chromatography A*. v.1218, 5688-5693, 2011.
- UE. UNIÃO EUROPÉIA. REGULAMENTO (UE) n° 1259/2011 da comissão de 2 de dezembro de 2011 que altera o Regulamento (CE) n.o 1881/2006 no que se refere aos teores máximos para as dioxinas, PCB sob a forma de dioxina e PCB não semelhantes a dioxinas nos géneros alimentícios. Disponível em <  
[http://www.consulai.com/newsletter/19/pdf/R\\_CE\\_1259\\_2011.pdf](http://www.consulai.com/newsletter/19/pdf/R_CE_1259_2011.pdf) > acesso em 11 de julho de 2017.
- UE. UNIÃO EUROPÉIA. REGULAMENTO (UE) 2015/786 DA COMISSÃO de 19 de maio de 2015 que define critérios de aceitabilidade dos processos de descontaminação aplicáveis aos produtos destinados à alimentação animal, previstos na Diretiva 2002/32/CE do Parlamento Europeu e do Conselho. Disponível em <  
[http://www.vetbiblios.pt/LEGISLACAO\\_TECNICA/ALIMENTOS\\_PARA\\_ANIMAIS/Substancias\\_indesejaveis-Residuos/Regulamento\\_2015-786\\_19-05.pdf](http://www.vetbiblios.pt/LEGISLACAO_TECNICA/ALIMENTOS_PARA_ANIMAIS/Substancias_indesejaveis-Residuos/Regulamento_2015-786_19-05.pdf) >. Acesso em: 15 de janeiro de 2016.
- UE. UNIÃO EUROPÉIA REGULAMENTO (UE) n° 589/2014. *Jornal Oficial da União Europeia*, 2014.
- USEPA – United States Environmental Protection Agency. Recommended Toxicity Equivalence Factors (TEFs) for Human Health Risk Assessments of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin and Dioxin-Like Compounds. Washington, DC. 2010.
- USGS. United States Geological Survey. Circular 1161. 1998. Disponível em <  
<http://pubs.usgs.gov/circ/circ1161/nawqa91.9.html> >, acesso em 19 de outubro de 2015.
- VAN DER BERG, M. *et al.* The 2005 World Health Organization Reevaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-Like Compounds. *Toxicological Sciences*, v.93, n.2, 223-241, 2006.
- WARENIK-BANY, M.; STRUCINKI, P.; PISKORSKA-PLISZCZYŃKA, J. Dioxins and PCBs in game animals: Interspecies comparison and related consumer exposure. *Environment International*, v. 89–90, 21-29, 2016.
- WIKOFF, D.; FITZGERALD, L.; BIRNBAUM, L. Persistent organic pollutants: an overview. *Dioxins and Health*, John Wiley & Sons, Inc. 2012.
- WONG, T. W.; WONG, A. H. S.; NELSON, E. A. S.; QIU, H.; KU, S. Y. K. Levels of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs in human milk among Hong Kong mothers. *Science of the Total Environment*, v.463-463, 1230-1238, 2012.

- WU, T. *et al.* Accumulation and elimination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in mule ducks. *Science of the Total Environment*, v.497-498, 260-266, 2014.
- ZACS, D. *et al.* Method development for the simultaneous determination of polybrominated, polychlorinated, mixed polybrominated/chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish. *Chemosphere*, v. 118, 72-80, 2015.
- ZULOAGA, O. *et al.* Overview of extraction, clean-up and detection techniques for the determination of organic pollutants in sewage sludge: A review. *Analytica Chimica Acta*, v. 736, 7-29, 2012.

## ANEXO I - Revisão bibliográfica das metodologias para análise de dioxinas e furanos em diferentes matrizes alimentares

Analito	Matriz	Preparo da amostra		Sistema cromatográfico	Coluna	Fase móvel	Sistema de detecção	Referência
		Extração	Purificação					
PDCC/Fs (17 congêneres)	Água de lago e seis espécies de peixe	A água foi filtrada em filtro de microfibras e o filtrado foi passado em coluna cromatográfica com resina XAD-2. A resina e o filtro passaram por extração em Soxhlet com diclorometano em hexano 50% durante 24 horas. As amostras de peixe foram liofilizadas, onde foram adicionados padrões e misturado com sulfato de sódio anidro ativado. Essa mistura foi extraída em Soxhlet com diclorometano em hexano 50% durante 24 horas. O extrato bruto foi concentrado em evaporador rotativo e seco sob corrente de nitrogênio.	O extrato bruto foi purificado sequencialmente em coluna de sílica ácida, coluna multicamada, coluna de alumina básica eluída com hexano e diclorometano em hexano.	Cromatografia a gás (Agilent 6890)	Coluna capilar de sílica fundida DB-5MS (60 m x, 0,25 mm x 0,25 mm)	Gás hélio	Espectrometria de Massas de alta resolução (Autospec Ultima - Waters)	GAO <i>et al.</i> , 2014  <i>Chemosphere</i>
PDCC/Fs (17 congêneres) e PCBs	Ovos	Gordura extraída com um extrator de solvente acelerado (ASE 350 – Dionex) com hexano/acetona 1:1	Adição de padrão marcado e purificação em colunas de sílica ácida, coluna de alumina básica e alumina ativada com carvão/celite. As frações obtidas evaporadas com fluxo de nitrogênio.	Cromatografia a gás (Agilent 6890)	MS DB5 60 m x 0,25 mm x 0,25 mm	Gás hélio	Espectrometria de Massas de alta resolução (AutoSpecUltima – Waters)	Hoang <i>et al.</i> , 2014  <i>Chemosphere</i>
PCDD/Fs (17 congêneres)	Leite materno	Liofilização seguida de extração líquida pressurizada com n-hexano : diclorometano : etanol (5:2:1, v/v/v)	Purificação com sílica ácida e colunas de sílica multicamadas acopladas com carvão ativado de camada dupla.	Cromatografia a gás (Agilent Technologies)	Agilent DB5-MS (60 m x 0,25 mm DI x 0,25 µm)	Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução (AutoSpec Ultima)	HUE <i>et al.</i> , 2014 <i>Science of the Total Environment</i>
PCDD/Fs e PCBs (somatório TEQ) e outros contaminante	Subprodutos para alimentação animal		Sistemas de limpeza de amostras PowerPrep manuais ou automatizados	Cromatografia a gás			Espectrometria de massas de alta resolução	MORTENSEN <i>et al.</i> , 2014 <i>Journal of Environmental Science and Health, B</i>

s								
PDCC/Fs (17 congêneres) e PCBs	Ovos	Amostras de ovos foram homogeneizadas e misturadas com sulfato de sódio anidro. Adição de n-pentano e filtração em funil com lã de vidro e sulfato de sódio anidro duas vezes. O solvente foi evaporado em um evaporador rotativo e deixado durante a noite num forno (ambos a 60 °C).	A gordura extraída foi solubilizada em n-hexano. Foi adicionado padrão interno. Todas as amostras foram tratadas com sílica ácida, sílica, alumina e carbono, eluídas com hexano, hexano/diclorometano (1:1), acetato de etila/tolueno (1:1) e tolueno. Os solventes foram evaporados até a secura em diferentes frações.	Cromatografia a gás (Agilent 6890)	coluna capilar DB5 MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 mm)	Gás hélio	Espectrometria de Massas de alta resolução (Autospec Ultima)	OLANCA <i>et al.</i> , 2014 <i>Chemosphere</i>
PCDD/Fs (17 congêneres), PBDD/Fs e PCBs semelhantes as dioxinas	Leite materno	Liofilização e extração acelerada com solvente acetona : hexano (1:1, v/v)	Cromatografia de permeação em gel em colunas de sílica ácida	DR Calux e Cromatografia a gás (HP-6890 - Agilent Technologies )	Agilent DB5-MS (60 m x 0,25 mm DI x 0,25 µm)	Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução (AutoSpec Ultima)	TUE <i>et al.</i> , 2014 <i>Ecotoxicology and Environmental Safety</i>
PCDD/Fs (17 congêneres) e PCBs	Pescado	Digestão ácida seguida de extração com hexano : diclorometano	Eluição com hexano em coluna de Fluorisil (PCBs) e eluição com hexano em coluna de sílica multicamada seguida de eluição com diclorometano a 25% : hexano em carvão ativado (dioxinas)	Cromatografia a gás (HP6890 - Agilent Technologies)	Agilent DB5-MS (40 m x 0,18 mm DI x 0,18 µm)	Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução (Waters Autospec)	GANDHI <i>et al.</i> , 2015 <i>Environmental Science &amp; Technology</i>
PCDD/Fs (17 congêneres) e PCBs	Leite em pó, e resíduos industriais (cinza e lama)	Resíduos industriais passaram por extração com tolueno em Soxhlet por 24 h. As cinzas ainda passaram por uma extração líquido-líquido com diclorometano onde o sobrenadante foi levado para extração em Soxhlet. O leite foi tratado com uma mistura de acetona:n-hexano 1/1 (v/v)	O extrato das amostra de lama e cinzas foi transferido para hexano e ácido sulfúrico concentrado. A limpeza das amostras foi realizada com ma matriz com colunas de Teflon e multicamadas de sílica, alumina	Cromatografia a gás (Thermo Fisher Scientific)	Coluna 5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) Agilent Technologies	Gás hélio	Espectrômetro de massa equipados com um analisador de triplo quadrupolo (TSQ Quantum XLS, Thermo Fisher Scientific) e Espetrometria de massa de alta	GARCÍA-BERMEJO <i>et al.</i> , 2015. <i>Analytica Chimica Acta</i>

			adsorvente. As frações dos extratos foram concentradas até quase seca com uma corrente de azoto.				resolução (Thermo Fisher Scientific)	
PDCC/Fs (17 congêneres), PCBs e metais pesados	Carne de caranguejos	Gordura da carne extraída com um extrator de solvente acelerado (ASE – Dionex) com hexano/acetona 1:1	Filtração em funil com sulfato de sódio anidro, e solvente evaporado em evaporador rotativo durante a noite a 40 °C. Foram obtidas duas frações.	Cromatografia gás (Agilent HP6890)	Coluna J & W DB-5-MS (Agilent) 60 m x 0,25 mm	Gás hélio	Espectrometria de Massas de alta resolução (Autospec, Ultima Micromass)	Hoogenboom <i>et al.</i> , 2015  <i>Chemosphere</i>
PCDD/Fs (17 congêneres) e PCBs	Ovos		Cromatografia de coluna em vários estágios utilizando um gel de sílica modificada, Florisil e Carbopack C	Cromatografia a gás			Espectrometria de massas de alta resolução	PISKORSKA-PLISZCZYNSKA <i>et al.</i> , 2015  <i>Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy</i>
PCDD/Fs (17 congêneres) e PCBs	Carne bovina	Extração acelerada com hexano (Extractor Dionex ASE 350)	Cromatografia de permeação em gel em coluna de Bio-Beads S-X3 utilizando diclorometano como eluente	Cromatografia a gás (6890 - Agilent Technologies)	Quatro colunas 1D foram testadas	Gás hélio	Espectrometria de massas (Pegasus 4D, Leco)	PLANCHE <i>et al.</i> , 2015  <i>Journal of Chromatography A</i>
PCDD/Fs e PCBs (somatório TEQ) e outros contaminantes	Peixes	Liofilização seguida da adição de sílica ácida e hexano.	Cromatografia em gel em colunas de sílica ácida com sulfato de sódio, sílica básica com sulfato de sódio e carvão ativado. A eluição foi com hexano e diclorometano:hexano (40:60, v / v), além de tolueno para os PCBs	Cromatografia a gás (6890N - Hewlett Packard)	Agilent DB5-MS (60 m x 0,25 mm DI x 0,25 µm)	Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução (AutoSpec Ultima)	ROSE <i>et al.</i> , 2015  <i>Chemosphere</i>
PCDD/Fs(17 congêneres) e PCBs e outros contaminantes	Salmão	Liofilização e extração em Soxhlet com diclorometano : n-hexano (1: 1, v/v)	Cromatografia de permeação em gel	Cromatografia a gás (6890 N - Agilent Technologies)		Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução (Micromass Autospec Premier – Milford)	ZACS <i>et al.</i> , 2015  <i>Chemosphere</i>
PCDD/F (17 congêneres)	Peixe seco, amostras de alimentos	Tolueno : ciclo-hexano (1:1, v/v) em Soxhlet por 24 h	Dissolução em n-hexano e cromatografia com colunas de sílica ácida, seguida de Florisil e	Cromatografia a gás (TRACE 1310; 6890NT Agilent Technologies e GC	Trace GOLD TG-5SiIMS (60 m x 0,25 mm DI x 0,25	Gás hélio	Espectrometria de massas em modo <i>tandem</i> (Thermo Scientific	ÁBALOS <i>et al.</i> , 2016  <i>Anal Bioanal Chem</i>

	para nutrição animal e leite em pó		alumina básica	8000)	µm)		TSQ 8000 Evo) e Espectrometria de Massas de alta resolução( Ultima NT e AutoSpec Ultima)	
PDCC/Fs (17 congêneres)	Folhas de pinho	Folhas foram secas a 50 °C durante 40 horas. Amostras extraídas com diclorometano em Soxhlet. Os extratos obtidos foram concentrados com nitrogênio e colocados em um forno para evaporação do solvente.	Purificação em coluna de sílica ácida, eluída com hexano/diclorometano 9:1 v/v, seguida de sílica multicamada (ácida e básica) eluída com n-hexano. Por fim coluna de alumina eluída com n-hexano e diclorometano/hexano 1:1 v/v. Um dos extratos foi eluído com cliclohexano/diclorometano/metanol 2:2:1 v/v e tolueno.	Cromatografia a gás (GC 1310 - Thermo Fisher Scientific)	Coluna VF-X 60 m x 0,25 mm	Gás hélio	Espectrometria de Massas de alta resolução (Thermo Fisher Scientific)	Holt <i>et al.</i> , 2016  <i>Chemosphere</i>
PCDD/Fs (17 congêneres) e PCBs	Ovos	Parte da gema foi liofilizada e a gordura extraída usando o ASE 350 (Dionex, EUA) com hexano / acetona (1: 1) como solvente de extração	Extratos foram purificadas numa coluna de sílica ácido, uma sílica neutra coluna, uma coluna de alumina básica e um carvão ativado / Celite coluna. Para a eluição das colunas, solventes feitos e foram utilizadas misturas, sendo respectivamente hexano, hexano / diclorometano (1: 1, v / v), acetato de etila / tolueno (1: 1, v / v) e tolueno. o volume do extracto final foi reduzido para 0,5 ml utilizando um método automatizado sistema	Cromatografia a gás (6890 – Agilent)	DB5-MS (60 m, 0,25 milímetros de diâmetro interno, 0,25 mm; J & W, Folsom, EUA)	Gás hélio	Espectrometria de massa de alta resolução (Autospec Ultima - Waters)	HOOGENBOOM <i>et al.</i> , 2016.  <i>Chemosphere</i>

			de evaporação com o ponto de extremidade fixa de 0,5 ml.					
PCDD/Fs (17 congêneres) e PCBs	Bacalhau (fígado)	Extração da fração lipídica	Cromatografia com os adsorventes florissil, carvão ativado e óxido de alumina usando acetato de etila : ciclohexano (1: 1, v/v)	Cromatografia a gás (6890 Agilent Technologies)	Agilent DB5-MS (60 m x 0,25 mm DI x 0,25 µm)	Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução (Thermo Fisher Scientific)	KARL <i>et al.</i> , 2016  <i>Chemosphere</i>
PDCC/Fs (17 congêneres) e PCBs	Peixes, frutos do mar, carnes de porco, carneiro e aves, laticínios, ovos, cereais, frutas, legumes, feijão, cogumelo, óleos	Três diferentes tipos de extração usadas de acordo com as várias amostras.		Cromatografia a gás			Espectrometria de massa de alta resolução	LEE <i>et al.</i> , 2016  <i>Journal of Food and Drug Analysis</i>
PCDD/Fs (17 congêneres), PCBs e outros contaminantes	Leite materno	Liofilização e extração acelerada com solvente com hexano e diclorometano (1:1, v/v)	Tratamento com sílica ácida e cromatografia multi-coluna (sílica ácida, básica, neutra, alumina e carbono)	Cromatografia a gás	Agilent DB5-MS (60 m x 0,25 mm DI x 0,25 µm)	Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução (Thermo Finnigan)	LIN <i>et al.</i> , 2016  <i>Anal Bioanal Chem</i>
PDCC/Fs (17 congêneres) e PCBs	Óleos de soja, oliva e peixe, manteiga e camarão	Amostras de camarão foram liofilizadas depois passaram por extração em Soxhlet durante 24 hs com tolueno:ciclohexano 1:1 (v/v). Amostras de óleo foram tratadas com colunas de gel de sílica ácida, e com sílica e hidróxido de sódio para remoção de interferentes.	Cada coluna foi eluída com n-hexano. Os extratos foram concentrados, posteriormente dissolvidos em 5 mL de n-hexano e removidos utilizando uma coluna de sílica gel gel de sílica ácida, e com sílica e hidróxido de sódio para remoção de interferentes. A limpeza manual foi realizada	Cromatografia a gás (Thermo Fisher Scientific)	Coluna a de sílica fundida DB-5MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 mm)	Gás hélio	Espectrometria de massa de alta resolução (Thermo Fisher Scientific)	PEMBERTHY <i>et al.</i> , 2016  <i>Science of the Total Environment</i>

			nas matrizes sequenciais de sílica multicamadas cromatográfica aberta, alumina e carbono como adsorventes eluídas com frações de 75 ml de hexano: diclorometano (9: 1) e 120 mL de hexano: diclorometano (1: 1). As frações de dioxinas e furanos foram purificadas utilizando uma coluna de carbono e foram reduzidos até à secura por uma corrente suave de azoto.					
PCBs semelhantes a dioxinas	Carne de porco, banha, ovos e subprodutos, leite em pó e gordura de leite, mineral, peixe e ração	Liofilização com extração em Soxhlet por 24 h com ciclohexano: tolueno (50:50, v/v) ou etanol: tolueno (70:30, v/v).	Concentração em evaporador rotativo e purificação em camadas de sílica múltipla (ácida e básica) utilizando como solvente n-hexano. Em algumas matrizes utilizou-se coluna de alumina.	Cromatografia a gás (7890A - Agilent Technologies)	Agilent DB5-MS (60 m x 0,25 mm DI x 0,25 µm)	Gás hélio	Espectrometria de massas em modo <i>tandem</i>  Espectrômetro de massa de alta resolução triplo quadrupolo (Xevo TQ-S – Waters)	PORTOLÉS <i>et al.</i> , 2016  <i>Analytica Chimica Acta</i>
PCDD/Fs (17 congêneres) e PCBs	Leite cru de vaca	Extração líquido-líquido com oxalato de sódio, metanol e éter dietílico, seguido de 3 extrações com n-hexano (150 mL cada)	Extratos evaporados até secura, dissolvidos em n-hexano, transferidos para coluna de sílica ácida eluindo-se com n-hexano. A fração foi dividida numa coluna de florisil e eluída com diclorometano, evaporado até a secura e ressuspenso em 20 µL de nonano	Cromatografia a gás	Agilent DB5-MS (60 m x 0,25 mm DI x 0,25 µm)	Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução (Thermo Scientific)	ROCHA <i>et al.</i> , 2016  <i>Science of the Total Environment</i>
PCDD/Fs (17	Arroz,	Cada matriz processada foi	Após a partição líquido-	Cromatografia a gás		Gás hélio	Espectrometria de	SHEN <i>et al.</i> , 2016

congêneres) e PCBs	couve, leite em pó, ovos, carne e peixes de água doce (cozidos ou fritos em óleo)	transferida para um tudo de centrífuga 50 mL, adicionou-se 6 mL de um simulado de saliva e agitadas durante 2 min. Em seguida 13 ml de suco digestivo sintético foram adicionados (pH 1-2) e incubados por 2h a 37 °C. Logo após 12 mL de suco duodenal e 6 mL de bílis foram adicionados e o tubo foi incubado por mais 2h a 37 °C. Após foi feita uma centrifugação 5 min a 18000 rpm, o sobrenadante foi transferido para um funil de separação contendo 100 mL de hexano para separação líquido-líquido.	líquido em hexano, o volume de solvente foi reduzido entre 3-5 mL sob atmosfera de azoto e transferiu-se quantitativamente para um sistema de cromatografia de permeação em gel para remoção de lipídeos. Concentrado e submetido a gel de sílica e alumina básica para a limpeza. Então os extratos passam por uma coluna de carvão e as frações foram evaporadas até a secura, reconstituídas com 30 – 50 mL de nonano e analisados.	Agilent 6890			massa de alta resolução Waters Micromass	Environment International
PDCC/Fs (17 congêneres) e PCBs	Salmão	Amostras foram secas em forno de micro-ondas por 2 minutos, e a gordura foi extraída através de extrator de solvente acelerado (ASE 300 – Dionex) com acetona/pentano 12:88.	Após adição do padrão e solubilização em hexano e fracionamento com sistema de colunas.	Cromatografia a gás (Trace GC ultra)		Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução com ionização por elétrons (Finnigan MAT95)	Soresen <i>et al.</i> , 2016  <i>Food Control</i>
PCDD/Fs (17 congêneres) e PCBs	Carnes de caça (cervo, veado e javali)	Liofilização e extração acelerada com solvente	Cromatografia de permeação em gel em colunas de sílica ácida, florisil e Carbopack C	Cromatografia a gás (Ultra Trace GC - Thermo Scientific)	Agilent DB5-MS (60 m x 0,25 mm DI x 0,25 µm)	Gás hélio	Espectrometria de massas de alta resolução ((Thermo Scientific)	WARENIK-BANY <i>et al.</i> , 2016  <i>Environment International</i>
PCDD/Fs e PCBs	Leite integral	Hidrólise ácida automatizada e extração em Soxhlet com hexano	Cromatografia com hexano em colunas de sílica ácida e sílica neutra	Cromatografia a gás Agilent 6890	Agilent DB5-MS (60 m x 0,25 milímetros D.I. x 0,25 um)	Gás hélio	Espectrometria de Massas de alta resolução (AutoSpec Ultima)	ARCHER; JENKINS JR, 2017  <i>Journal of Chromatography B</i>
PDCC/Fs (17 congêneres) e PCBs	Frutos do mar	Liofilização e extração por Soxhlet ou extração com solvente acelerado (ASE 100 - Dionex) com cloreto de metileno/hexano 1:1	Sistema Power-Prep (FluidManagement Systems)	Cromatografia a gás de alta resolução		Gás hélio	Espectrometria de massa de alta resolução	Manning <i>et al.</i> , 2017  <i>Environmental Pollution</i>

## ANEXO II – Convite aos laboratórios

Prezado(a),

Conforme comunicado anteriormente, o PRIMAR do Laboratório Nacional Agropecuário em Minas Gerais - LANAGRO/MG em parceria com a Faculdade de Farmácia - FAFAR da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG irá realizar, no ano de 2016/2017, uma rodada de um programa de ensaio de proficiência para análise de dioxinas (PCDD) e furanos (PCDF). Ao contrário do que tínhamos informado no email anterior, ofertaremos apenas a matriz gordura de aves na referida rodada. Desta forma, o material para o ensaio de proficiência será preparado empregando amostras de gordura de aves naturalmente contaminadas com dioxinas e furanos de relevância toxicológica.

O ensaio será ofertado GRATUITAMENTE (com exceção de taxas e impostos cobrados no país de destino para o desembaraço da remessa), e a participação é aberta a laboratórios públicos e privados que realizam análise de dioxinas, sendo o envio das amostras previsto para fevereiro de 2017.

Os interessados em participar devem retornar o e-mail com o termo de adesão (anexo) devidamente preenchido para o endereço: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br) até 01 de novembro de 2016.

Agradecemos a atenção e colocamo-nos à disposição para quaisquer esclarecimentos.

Dear,

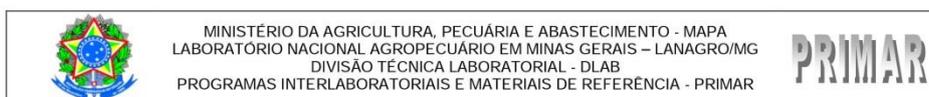
As reported previously, the National Agricultural Laboratory in Minas Gerais - LANAGRO/MG in partnership with the Federal University of Minas Gerais - UFMG will provide in 2016/2017 a round of a proficiency testing program for analysis of dioxins (PCDD) and furans (PCDF). However, contrary to what we reported in the previous email, only the matrix chicken fat will be provided in such round. Thus, this proficiency test will be conducted using chicken fat samples naturally contaminated with dioxins and furans of toxicological relevance.

The test will be offered FREE (except taxes and fees in the destination country for the clearance of the shipment), and the participation is open to public and private laboratories carrying out analysis of dioxins. The probable date for expedition of samples it will be on February 15, 2017.

Those interested in participating should return this e-mail with the term duly completed to the address: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br) until November 1, 2016.

We appreciate the attention and make ourselves available for any clarification.

## ANEXO III – Termo de Adesão para o Ensaio de Proficiência



### TERMO DE ADESÃO/ *Term of agreement*

**Programa de comparação interlaboratorial para análise de dioxinas (PCDD) e furanos (PCDF) em gordura de aves/ Rodada única 2017/ Interlaboratory comparison program for analysis of dibenzo-p-dioxins (PCDD) and polychlorinated dibenzo-furans (PCDF) in chicken fat / Single round 2017**

**(Programa organizado em parceria com a Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais – FAFAR/UFMG / Program organized in partnership with the Faculty of Pharmacy of Federal University of Minas Gerais State)**

Nome do laboratório/ <i>Laboratory name*</i> :	
País/Country*:	
Endereço Completo/ <i>Mailing Address*</i> :	
Cep/Zip code*:	
Caixa Postal/PO box:	
Telefone/Phone number*:	
Pessoa (s) de contato/ <i>Contact name*</i> :	
E-mail*:	
E-mail alternativo*/ <i>Alternative e-mail</i> :	

\*Obrigatório/ *Required*

### Termos e condições/ *Terms and conditions*

- A participação neste Programa de Comparação Interlaboratorial para análise de dioxinas (PCDD) e furanos (PCDF) em gordura de aves é GRATUITA, com isenção de despesas relacionadas às amostras e ao transporte (com exceção de taxas e impostos cobrados no país de destino para o desembarço da remessa). / *The participation in this interlaboratory comparison program for analysis of dibenzo-p-dioxins (PCDD) and polychlorinated dibenzo-furans (PCDF) in chicken fat is without registration or transportation fees (except customs clearance taxes that will be paid by the participant).*
- A identidade dos laboratórios participantes do programa de comparação interlaboratorial será mantida confidencial. / *The identity of participants in this interlaboratory comparison program will be confidential.*
- O endereço de e-mail (mencionado acima) será utilizado para comunicação com o participante. / *The e-mail registered above will be used to contact the participant.*
- Este programa interlaboratorial será desenvolvido em conformidade com os requisitos da norma ABNT ISO/IEC 17043:2011. / *This interlaboratory program will be developed in accordance with the ISO/IEC 17043 requirements.*
- Este programa interlaboratorial poderá ser cancelado caso não haja um número mínimo de 6 (seis) participantes. / *This interlaboratory program will be cancelled if there is not a minimum number of 6 (six) participants.*

O envio deste formulário para [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br) até **01.11.2016** implica na aceitação das condições acima expressas. / *Send this form to primar.lanagromg@agricultura.gov.br until 11/01/2016 implies acceptance of the conditions expressed above.*

PRIMAR – Programas Interlaboratoriais e Materiais de Referência /Laboratório Nacional Agropecuário – MG  
Av. Rômulo Joviano s/n – Caixa Postal 35/50 - Pedro Leopoldo / MG – Brasil. CEP 33.600-000  
Tel/Fax: +55.31. 3660-9670/ +55. 31. 3660-9602  
E-mail: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br)

# Anexo IV - Plano de Ensaio de Proficiência para análise de dioxinas e furanos em gordura de aves - Rodada única



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA  
LABORATÓRIO NACIONAL AGROPECUÁRIO – LANAGRO/MG  
Divisão Técnica Laboratorial - DLAB / Programas Interlaboratoriais e Materiais de Referência - PRIMAR/PL

## PLANO DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA ANÁLISE DE DIOXINAS E FURANOS EM GORDURA DE AVES - RODADA ÚNICA 2016/2017

PLANEP/PRIMAR/016 - V.1



PROGRAMAS INTERLABORATORIAIS E MATERIAIS DE REFERÊNCIA - PRIMAR  
LABORATÓRIO NACIONAL AGROPECUÁRIO – LANAGRO/MG  
Endereço: Av. Rômulo Joviano, s/n Centro – Pedro Leopoldo/MG  
CEP: 33600-000

Tel/Fax: +55 31 3660 9670 / +55 31 3660 9602  
E-mail: [primar.lanagro@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagro@agricultura.gov.br)

Impresso por: Wagner de Souza

Cópia não controlada

Página 171



**1.0 Organização e Coordenação**  
**Organization and Coordination**

**Instituição Organizadora e Coordenadora**  
**Proficiency Testing Provider**

Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais – LANAGRO-MG  
Avenida Rômulo Joviano, s/nº, Caixa Postal 35/50, Centro, CEP 33600-000 – Pedro Leopoldo/MG.

**Instituição parceira**  
**Partner institution**

Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos  
Faculdade de Farmácia Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG  
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 - Campus Pampulha - CEP 31270-901  
Belo Horizonte - MG – Brasil

**Equipe**  
**Coordinating Staff**

Gerente do PEP/*Proficiency Testing Scheme Manager*  
Patrícia Ferreira e Silva – Programas Interlaboratoriais e Materiais de Referência – PRIMAR/LANAGRO-MG

Gerentes Técnicos do PEP/*Proficiency Testing Scheme Technical Managers*  
Andréa Melo Garcia de Oliveira – Programas Interlaboratoriais e Materiais de Referência – PRIMAR/LANAGRO-MG  
Rafael Pissinatti – Laboratório de Dioxinas e PCBs – LDP/LANAGRO-MG

Chefe da Divisão Técnica Laboratorial do LANAGRO-MG/*LANAGRO-MG Head of Technical Laboratorial Division*  
Nilson César Castanheira Guimarães – Divisão Técnica Laboratorial – DLAB/LANAGRO-MG

Gerente da Qualidade do LANAGRO-MG/*LANAGRO-MG Quality Manager*  
Roseane Brandão de Brito – Unidade de Gestão da Qualidade – UGQ/LANAGRO-MG

Membros do Comitê Consultivo/*Advisory Committee Members*  
Scheilla Vitorino Carvalho de Souza Ferreira – Professora do Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais/*Professor of the Postgraduate Program in Food Science of the Federal University of Minas Gerais*

Roberto Gonçalves Junqueira – Professor do Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais/*Professor of the Postgraduate Program in Food Science of the Federal University of Minas Gerais*

---

Equipe Executora/*Executing Team*  
PLANE/PRIMAR/016 - V.1

Aprovado em: 17/03/2017

Renan Martins dos Santos – Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais

Viviane Michelle Corrêa de Sousa Mendes – PRIMAR/LANAGRO-MG

Maiara Andrade de Carvalho Sousa – PRIMAR/LANAGRO-MG

Daniella Vasconcelos Augusti – LDP/LANAGRO-MG

Matheus Mendes Malaquias Friaça Glória – LDP/LANAGRO-MG

Antônia Cristiane Paz de Brito – LDP/LANAGRO-MG

## **2.0 Objetivos**

### **Objectives**

O programa de ensaio de proficiência para análise de dioxinas e furanos em gordura de aves tem como objetivo comparar os resultados e avaliar o desempenho dos laboratórios participantes, permitindo verificar a confiabilidade dos resultados analíticos e identificar eventuais problemas nos laboratórios, promovendo a melhoria contínua da qualidade.

The proficiency test program for the analysis of dioxins and furans in poultry fat is to compare the results of the participating laboratories and evaluate their performance, which allows to verify the reliability of the analytical results and identify possible laboratory issues, thus promoting continuous quality improvement.

## **3.0 Aplicações**

### **Applications**

Este plano é aplicável a uma rodada única do programa de análise de dioxinas e furanos em gordura de aves, no ano de 2016/2017.

This plan applies to a single round of the scheme for dioxins and furans analysis in poultry fat in the year 2016/2017.

## **4.0 Laboratórios participantes**

### **Participating laboratories**

No programa de ensaio de proficiência serão aceitos laboratórios públicos e privados, nacionais e internacionais, que realizam análise de dioxinas e furanos. O número mínimo de laboratórios participantes serão 6 e o máximo 20.

Laboratories that perform dioxins and furans analysis will be accepted, regardless of being public or private, located in Brazil or abroad. The minimum number of participating laboratories will be 6 and the maximum 20.

## **5.0 Itens de ensaio**

### **5.1 Seleção**

#### **Proficiency test items**

#### **Selection**

Os itens de ensaio foram preparados a partir de amostras de gordura de aves naturalmente contaminadas com dioxinas e furanos de relevância toxicológica na ordem de 0 a 50 pg TEQ-OMS/g para o somatório.

Test items were prepared from fat samples from poultry naturally contaminated with dioxins and furans of toxicological relevance on the order of 0 to 50 pg TEQ-WHO / g for the sum.

## **5.2 Preparação** **Preparation**

Os itens de ensaio do programa foram produzidos no LDP/LANAGRO-MG. Para a preparação, utilizou-se gordura de frango naturalmente contaminada. A amostra foi processada e fundida em forno de microondas. A gordura obtida foi transferida para um recipiente de vidro e mantida sob agitação em banho-maria até o término do envase.

O envase do material foi realizado para frasco de vidro ambar com auxílio de uma bomba peristáltica. Em cada frasco foi adicionado cerca de 80 g do material. Cada frasco foi fechado com tampa de rosca e rotulado, recebendo uma identificação unívoca.

The test items of the program were produced in the LDP / LANAGRO-MG. For the preparation, poultry fat naturally contaminated was used. The sample was processed and melted in a microwave oven. The obtained fat was transferred to a glass vessel and kept under stirring in a water bath until the end of the package.

The packaging of the material was carried out in an amber glass bottle with the aid of a peristaltic pump. About 80 g of the material was added to each bottle. Each bottle was closed with screw cap and labeled, receiving a unique identification.

## **5.3 Manuseio e armazenamento** **Handling and storage**

Os itens de ensaio produzidos foram armazenados em refrigerador, com temperatura controlada na faixa de 2 a 10 °C, sendo mantidos nesta condição até a data de envio aos laboratórios participantes.

The produced proficiency test items were stored in freezer with controlled temperature between 2 and 10 °C, having been kept in these conditions until the shipment date to participating laboratories.

## **5.4 Distribuição** **Distribution**

Os itens de ensaio serão distribuídos a todos os laboratórios participantes em data previamente estabelecida, conforme cronograma do programa (ver 9.0 Cronograma).

Os itens de ensaio serão devidamente acondicionados, de forma a preservar a integridade dos mesmos durante o transporte.

O transporte será realizado em temperatura ambiente, evitando-se a exposição a fontes de calor excessivo.

Após o transporte, os laboratórios deverão inspecionar os itens de ensaio e registrar as condições de recebimento, no formulário FOR/PRIMAR/PL/009 – V.1 Confirmação de recebimento de amostras.

Em caso de perda ou dano do item de ensaio, o laboratório participante deverá entrar em contato com o PRIMAR/LANAGRO-MG, através do e-mail: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br).

The test items are going to be distributed to all the participating laboratories in a beforehand date, according to the program schedule (see 9.0 Schedule).

The test items are going to be packed properly, in order to keep them secure during transportation.

The test items are going to be delivered in room temperature, avoiding exposition to excessive heating sources.

After transport, the laboratories should inspect the test items and record the conditions of receipt in the form FOR/PRIMAR/PL/009 – V.1 Confirmação de recebimento de amostras.

In case of loss or damage to the test items, the participating laboratory must contact PRIMAR/LANAGRO-MG (see 1.0 Coordinating Staff) through e-mail: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br).

## 6.0 Método de ensaio

### Test method

Para avaliação da homogeneidade, estabilidade e caracterização os itens de ensaio foram analisados por Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas de Alta Resolução (GC-HRMS) [1] acreditado na ISO IEC NBR 17025:2005.

Para realização das análises do ensaio de proficiência, os participantes poderão utilizar o método analítico de sua escolha, consistente com os procedimentos empregados nas amostras de rotina do laboratório. A avaliação da equivalência de métodos de ensaio será realizada pelos Gerentes Técnicos do PEP, durante o tratamento dos dados.

To evaluate the homogeneity, stability and characterization the test items were analyzed by Gas Chromatography coupled to High Resolution Mass Spectrometry (GC-HRMS) [1], accredited in ISO IEC NBR 17025: 2005.

To perform the analysis of the proficiency test, participants should use the analytical method employed to laboratory routine samples.

The assessment of the equivalence of test methods will be held by the Proficiency Testing Scheme Technical Managers during the data analysis.

## 7.0 Procedimentos estatísticos

### 7.1 Avaliação da homogeneidade e estabilidade

#### Statistical design

#### Homogeneity and stability evaluation

A avaliação da homogeneidade dos itens de ensaio foi realizada conforme os procedimentos descritos na norma ISO 13528 "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons" [3].

A avaliação da estabilidade foi realizada conforme os procedimentos descritos na norma ISO 13528 "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons" [3].

The evaluation of the homogeneity of the test items was performed according to the procedures described in the ISO 13528 "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory Comparisons [3].

The stability evaluation was performed according to the procedures described in the ISO 13528 "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons" [3].

## 7.2 Atribuição do valor designado verdadeiro Assigned value

A estimativa dos valores designados verdadeiros será obtida através dos valores de consenso, porém em caso de valores discrepantes ou números de laboratórios insuficiente o valor poderá ser designado através da medição realizada por laboratório de referência especialista em consonância com os procedimentos da norma ISO 13528 "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons" [3].

The estimation of the assigned values will be obtained through the consensus values, but in case of discrepant values or insufficient laboratory numbers, the value can be assigned through the measurement performed by specialist reference laboratory in line with the procedures of ISO 13528 "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons" [3].

## 7.3 Determinação do desvio padrão alvo Standard deviation

### 7.3.1 Analitos individuais Individual Congeneres

O valor de desvio padrão alvo adotado para os analitos individuais neste programa foi de 20 %. Este valor foi definido com base no preconizado pelo Regulamento (UE) nº 589/2014 da Comissão Europeia [4], e nos valores utilizados por outros provedores de EP, conforme a tabela abaixo:

The standard deviation value for individual congeners in this scheme was 20 %. This value was defined based on the value adopted by Commission Regulation (EU) nº 589/2014 [4], and on the values adopted by other PT providers, as follows:

**Tabela 1:** Valores de referência para o desvio padrão alvo em ensaios de proficiência para análises de dioxinas e furanos

Provedor de EP / PT Provider	Desvio-padrão / Standard deviation
EURL	10% ( $\sum$ TEQ)
	20% (Congenêros individuais / individual congeners)
FAPAS	22%
BIPEA	30%
Norwegian Institute of Public Health	20%

### 7.3.2 Somatório PCDD/F ( $\sum$ PCDD/F-TEQ/OMS) Sum parameter PCDD/F ( $\sum$ PCDD/F-TEQ/WHO)

Para o somatório de PCDD/F, exclusivamente, o desvio padrão alvo foi definido como 10% conforme Regulamento (UE) nº 589/2014 da Comissão Europeia [4].

1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	pg/g
OCDF	pg/g
∑ PCDD/F-TEQ/OMS	pgTEQ-OMS/g

Durante a execução do ensaio, o analista deve estar atento a potenciais fontes de erro tais como: manuseio inadequado dos itens de ensaio, falta de ajuste, manutenção ou calibração de equipamentos, uso de reagentes, padrões e materiais de referência impróprios, erro na unidade de medida de expressão dos resultados, dentre outros.

During the test, the analyst shall be aware to potential error sources such as: improper handling of the test items, lack of setting up, maintenance or calibration of equipments, use of improper reagents, standards and reference materials, error on the measurement unit used to express results and other sources.

#### 11.0 Instruções para envio de resultados ao provedor Instructions for reporting results to provider

Os resultados das concentrações de dioxinas e furanos devem ser calculados com base na massa de produto.

The results for the content of dioxins and furans must be calculated as mass of product.

Devem ser reportados:

- Os resultados individuais para cada PCDD/F, na unidade **pg/g**.  
- Os resultados para o somatório TEQ nas concentrações *Upper Bound* e *Lower Bound*, na unidade **pg TEQ-OMS/g**, utilizando para isso os valores de TEF descritos na tabela 1. Na concentração *Upper Bound*, o somatório TEQ é calculado considerando iguais ao limite de quantificação todos os valores dos diferentes compostos afins inferiores a este limite. Na concentração *Lower Bound*, o somatório TEQ é calculado considerando zero todos os valores dos diferentes compostos afins inferiores ao limite de quantificação do método.

Must be reported:

- The individual results for each PCDD/F in the unit **pg/g**.  
- The result for the sum TEQ in *Upper Bound* and *Lower Bound* concentrations in the unit **pg TEQ-WHO/g**; for this, the TEF values described in table 1 must be used. In the concentration *Upper Bound*, the TEQ sum is calculated considering all the values of the different related compounds that are lower than the limit of quantification as equal to the limit of quantification. In the concentration, *Lower Bound* the TEQ sum is calculated considering all the values of the different related compounds that are lower than the limit of quantification as zero.

**Tabela 1.** Fatores de equivalência Tóxica (TEFs) a serem considerados no ensaio de proficiência [6].

**Table 1.** Toxic Equivalent Factors to be considered in the proficiency test [6].

Analito/Analyte	TEF OMS 2005
2,3,7,8-TCDD	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1

For them sum parameter PCDD/F only, the target standard deviation was defined as 10% adopted by Commission Regulation (EU) n° 589/2014 [4].

#### 7.4 Avaliação de desempenho Performance assessment

A avaliação dos resultados analíticos reportados pelos laboratórios participantes será realizada usando a função z-score, conforme descrito na ISO 17043 [5] e ISO 13528 [3]. Entretanto, outras ferramentas estatísticas não descritas neste plano poderão ser utilizadas, quando pertinente.

Qualquer modificação nos procedimentos de análise estatística será comunicada aos laboratórios participantes.

The assessment of the analytical results reported by the participating laboratories will be performed using the z-score function as described in ISO 17043 [5] and ISO 13528 [3]. Nevertheless, other statistical tools that are not described in this plan may be used when it is relevant.

Any changes to the statistical analysis procedures are going to be reported to participating laboratories.

A função z-score é dada por:

The z-score function is given by:

$$z = \frac{x - \hat{X}}{\sigma_p}$$

Onde:

$x$ : é o resultado analítico do laboratório;

$\hat{X}$ : é o valor (concentração) designado como verdadeiro;

$\sigma_p$ : é o desvio padrão alvo.

Where:

$x$ : is the laboratory analytical result;

$\hat{X}$ : is the assigned value (content);

$\sigma_p$ : is the standard deviation.

A interpretação do escore  $z$  é feita conforme descrito a seguir:

$ z  \leq 2$ : o resultado do laboratório é considerado satisfatório.
$2 <  z  < 3$ : o resultado do laboratório é considerado questionável.
$ z  \geq 3$ : o resultado do laboratório é considerado insatisfatório.

The z-score interpretation is made as described as follows:

$|z| \leq 2$ : the laboratory result is considered satisfactory.  
 $2 < |z| < 3$ : the laboratory result is considered questionable.  
 $|z| \geq 3$ : the laboratory result is considered unsatisfactory.

## 8.0 Inscrições Registrations

A participação no programa de ensaio de proficiência de dioxinas e furanos é GRATUITA, com isenção de despesas relacionadas às amostras e ao transporte, todavia os laboratórios deverão arcar com eventuais custos associados ao desembarço aduaneiro, bem como taxas e impostos.

There aren't any fees for registration on this proficiency testing scheme. However, the laboratories are responsible for another possible costs related to the customs clearance as well as taxes.

## 9.0 Cronograma Schedule

O programa de ensaio de proficiência de dioxinas e furanos será realizado conforme cronograma seguinte:

The proficiency testing scheme for dioxins and furans will be performed as described in the following schedule:

Etapa/Step	Período/Period
Envio dos itens de ensaio Distribution of test items	20/03/2017 March 20 <sup>th</sup> 2017
Submissão dos resultados Deadline for result submission	Até 05/05/2017 Until May 05 <sup>th</sup> 2017
Envio do relatório final Final report	Até 28/07/2017 Until July 28 <sup>th</sup> 2017

Qualquer alteração no período de execução das etapas do ensaio será prontamente comunicada aos laboratórios participantes.

All changes in the periods of the testing steps will be promptly communicated to the participating laboratories.

## 10.0 Instruções para realização dos ensaios Instructions for performing the tests

O laboratório participante, após receber o item de ensaio de proficiência, deverá inspecioná-lo e registrar as condições de recebimento no FOR/PRIMAR/PL/009 – V.1 Confirmação de recebimento de amostras.

Os itens de ensaio serão transportados em temperatura ambiente, mas depois de recebidos, deverão ser armazenados sob refrigeração (de 2 a 10°C) até o momento de realização da análise.

Durante a execução da análise, os itens de ensaio devem ser tratados como as amostras de rotina. Devem ser utilizados os procedimentos de extração, purificação e quantificação do laboratório participante.

O conteúdo do frasco deve ser homogeneizado previamente. Recomenda-se a utilização de uma alíquota mínima de 12 (doze) gramas, massa para a qual foram realizados os estudos de homogeneidade.

A amostra deve ser fundida conforme procedimento interno adotado pelo laboratório ou fundida até que a gordura esteja totalmente líquida. Então, a amostra deve ser homogeneizada para a retirada da alíquota.

Devem ser realizadas **análises em duplicata** e ambos os resultados devem ser reportados.

Deve ser determinada a concentração das dioxinas e furanos listados abaixo:

The participating laboratories must inspect the proficiency test items as soon as it had been received and report its conditions using the FOR/PRIMAR/PL/009 – V.1 Confirmação de recebimento de amostras.

The test items will be delivered in room temperature but after receiving they must be stored in refrigerator (between 2 to 10 °C) until the time of the analysis.

During the analysis the test items must be considered as routine samples. The participating laboratories must use their own extraction, purification and quantification techniques.

The vial content must be homogenized prior to the withdrawal of samples. The use of a minimum of 12 grams is recommended since it was the mass used in the homogeneity studies.

The sample must be melted according to the internal procedure adopted by the laboratory or melted until the fat is completely liquid. Then, the sample must be homogenized before the aliquot is removed.

**Duplicate analyzes** should be performed and both results of the analyzes should be reported.

There must be performed tests for the dioxins and furans described below:

Analito/Analyte	Unidade/Unit
2,3,7,8-TCDD	pg/g
1,2,3,7,8-PeCDD	pg/g
1,2,3,4,7,8-HxCDD	pg/g
1,2,3,6,7,8-HxCDD	pg/g
1,2,3,7,8,9-HxCDD	pg/g
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	pg/g
OCDD	pg/g
2,3,7,8-TCDF	pg/g
1,2,3,7,8-PeCDF	pg/g
2,3,4,7,8-PeCDF	pg/g
1,2,3,4,7,8-HxCDF	pg/g
1,2,3,6,7,8-HxCDF	pg/g
1,2,3,7,8,9-HxCDF	pg/g
2,3,4,6,7,8-HxCDF	pg/g
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	pg/g

1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01
OCDD	0,0003
2,3,7,8-TCDF	0,1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01
OCDF	0,0003

Os resultados de cada replicata deverão ser reportados ao PRIMAR/LANAGRO-MG até a data limite estabelecida no cronograma, através da planilha PLN/PRIMAR/PL/019 "Registro de resultados de ensaio de proficiência de contaminantes orgânicos".

A planilha PLN/PRIMAR/PL/019 possui duas pastas de trabalho que devem ser integralmente preenchidas. A pasta "Resultados" será empregada para reportar os resultados das concentrações de dioxinas e furanos das replicatas. A pasta "Método" será empregada para registro das informações sobre o método de ensaio.

Depois de preenchida, a planilha deverá ser enviada através do e-mail: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br). Solicitamos o envio dos arquivos em duas extensões: .pdf e .xls (ou outras extensões compatíveis com Adobe Acrobat Reader® e Microsoft Excel®).

Em caso de dúvidas quanto ao preenchimento da planilha, favor entrar em contato com o PRIMAR/LANAGRO-MG.

The results of each replicate must be reported to PRIMAR/LANAGRO-MG until the scheduled deadline through the spreadsheet PLN/PRIMAR/PL/019 "Registro de resultados de ensaio de proficiência de contaminantes orgânicos".

This spreadsheet has two worksheets that must be completely filled in. To report the results for the content of dioxins and furans the participants must fill in the "Results" worksheet. In the "Method" worksheet there must be filled the data about the test method.

The PLN/PRIMAR/PL/019 spreadsheet must be sent to the e-mail: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br) after filling. We kindly ask the sending of the files in two extensions: .pdf and .xls (or other file extensions compatible with Adobe Acrobat Reader™ and Microsoft Excel™).

In case of any questions about the spreadsheet filling please contact PRIMAR/LANAGRO-MG.

## 12.0 Relatórios Reports

Ao final do programa, o PRIMAR/LANAGRO-MG emitirá um relatório final do ensaio de proficiência. O relatório conterá, dentre outras informações, as seguintes:

- descrição dos itens de ensaio, incluindo detalhes sobre sua preparação e avaliação da homogeneidade e estabilidade;
- resultados dos participantes (identificados apenas por códigos);

- valores designados verdadeiros;
- procedimentos utilizados para a análise estatística dos dados;
- dados estatísticos e sumários, incluindo os desempenhos dos participantes.

Este relatório é restrito ao MAPA e aos laboratórios participantes, não sendo permitido que o relatório de ensaio de proficiência, ou partes dele, seja utilizado pelo cliente ou por alguém por ele autorizado, com fins promocionais ou publicitários.

O LANAGRO-MG garante a autenticidade dos dados no arquivo original enviado em formato PDF.

PRIMAR/LANAGRO-MG is going to issue a final report of the proficiency testing. The report will show at least the following information:

- description of the test items, including details about their preparation and homogeneity and stability assessment;
- the participants results (identified only by their codes);
- assigned values;
- procedures for data statistical analysis;
- statistical data and summaries, including the performance of the participants.

This report is restricted to MAPA and participating laboratories and the proficiency test report, or parts thereof, is not permitted to be used by the customer or by someone authorized by him for promotional or advertising purposes.

LANAGRO-MG guarantees the authenticity of the data in the original file sent in PDF format.

### **13.0 Confidencialidade** **Confidentiality**

A identidade dos laboratórios participantes do programa de ensaio de proficiência será mantida confidencial. Para isto, os laboratórios receberão uma identificação unívoca, constituída por códigos alfanuméricos, de conhecimento apenas da organização coordenadora. Cada participante terá acesso a apenas seu código identificador.

Os participantes podem optar por renunciar à confidencialidade dentro do programa para um propósito particular. Neste caso, faz-se necessária a comunicação por escrito à organização coordenadora.

Informações de natureza coletiva tais como procedimentos adotados na execução e operacionalização do ensaio, bem como interpretações dos resultados obtidos, poderão tornar-se públicas a qualquer tempo, inclusive em trabalhos científicos, preservando-se na divulgação, a identidade do laboratório participante.

Os laboratórios oficiais e credenciados que compõem a Rede de Laboratórios Agropecuários do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estão sujeitos à quebra da confidencialidade em atendimento aos interesses do MAPA e seus órgãos, independente de anuência.

The identity of the participating laboratories of the proficiency testing scheme will be kept confidential. For this, the laboratories are going to receive an alphanumeric unique code which will be known only by the provider.

Each participant will access only your code.

The participants can elect to waive the confidentiality within the program for particular purposes. In this case it is necessary a written communication to the provider.

Collective information such as the followed procedures for the scheme operation and the interpretation of the results might become public at any time, also in scientific papers. However the identities of the participating laboratories will be preserved at the disclosure of the data.

The official and affiliated laboratories of the Agricultural Laboratories Network of the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA) are subject to the break of their confidentiality in accordance to the interests of MAPA and its agencies, regardless of consent.

#### **14.0 Informações sobre falsificações** **Information about falsifications**

O LANAGRO/MG orienta os participantes a realizarem os ensaios deste programa de ensaio de proficiência de forma verdadeiramente independente.

O LANAGRO/MG adota as precauções pertinentes para prevenção de fraudes, garantindo a confidencialidade das informações. Os registros que contém valores designados são mantidos seguros, evitando a divulgação antecipada indevida.

Ainda que o LANAGRO/MG, como instituição organizadora e coordenadora do programa, adote medidas cabíveis para prevenir falsificações de resultados, convém que os participantes sejam os responsáveis por evitá-las.

LANAGRO/MG (see 1.0 Proficiency Testing Provider) advises participants to perform the proficiency testing scheme analysis in a truly independent way.

LANAGRO/MG takes feasible precautions to avoid any kind of fraud in order to keep information confidential. Records in which there are the assigned values are kept safe and these data are not disclosed prior to the final report.

Although LANAGRO/MG, as the proficiency testing scheme provider, takes any reasonable means to prevent falsification of results, the participants are responsible for avoiding them.

#### **15.0 Informações sobre apelações** **Information about appeals**

Apelações consideradas pertinentes pelos laboratórios participantes deverão ser encaminhadas ao PRIMAR/LANAGRO-MG no e-mail [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br) até 30 dias após a divulgação do relatório final do programa de ensaio de proficiência.

Relevant appeals lodged by participant laboratories shall be forwarded to PRIMAR/LANAGRO-MG by e-mail [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br) until a 30-day period after the proficiency testing program final report disclosure.

#### **16.0 Contingências** **Contingencies**

Caso ocorram situações de não conformidades relativas a este Plano, o PRIMAR/LANAGRO-MG deve ser consultado para solucionar as dúvidas e adotar as medidas cabíveis.

In case of any noncompliance situations related to this plan PRIMAR/LANAGRO-MG should be consulted in order to solve questions and make any necessary arrangements.

## 17.0 Referências bibliográficas

### Bibliography

1. AUGUSTI, D.V.; MAGALHÃES, E.J.; NUNES, C.M.; DOS SANTOS, E.V.; PRATES, R.G.D.; PISSINATI, R. *Method validation and occurrence of dioxins and furans (PCDD/Fs) in fish from Brazil*. Anal. Methods. Vol. 6, pp. 1963–1969, 2014.
2. THOMPSON M., ELLISON S.L.R., WOOD R., "The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories" (IUPAC Technical Report), in Pure and Applied Chemistry, Vol. 78, nº 1, pp. 145-196, 2006.
3. ISO 13528, *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*, 2015.
4. EC. (2014). COMMISSION REGULATION (EU) No 589/2014 of 2 June 2014 laying down methods of sampling and analysis for the control of levels of dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in certain foodstuffs and repealing Regulation (EU) No 252/2012 Official Journal of the European Union(164), 18-40.
5. ISO/IEC 17043, *Conformity assessment – General requirements for proficiency testing*, 2010.
6. BERG, M. V. D.; et al., *The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds*. Toxicological Sciences Vol. 93, nº.2, pp. 223–241, 2006.

## 18.0 Controle de alterações

### Change control

Não aplicável.  
It does not apply.

Aprovado por: Patrícia Ferreira e Silva  
Nilson César Castanheira Guimarães  
Verificado por: Roseane Brandão de Brito  
Elaborado/Revisado por: Andréa Melo Garcia de Oliveira

Anexo V - Certificado de Origem para laborat6rios do Chile

CE.OG.JUN.07



ORIGINAL

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL  
MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO - MAPA

**CERTIFICADO DE ORIGEM**  
**CERTIFICATE OF ORIGIN**

CERTIFICADO Nº / CERTIFICATE N. [REDACTED] 2017

**I – IDENTIFICAÇÃO DA MERCADORIA / IDENTIFICATION OF THE COMMODITY**

Mercadoria / <i>Commodity</i> : Gordura de frango / Grasa de pollo fusionada
Espécie de Origem / <i>Specie of Origin</i> : Frango / Pollo
Finalidade / <i>Purpose</i> : PESQUISA CIENTÍFICA

**II – ORIGEM / ORIGIN**

Nome do exportador / <i>Name of exporter</i> : Laborat6rio Nacional Agropecuário de Minas Gerais – LANAGRO/MG	
Endereço do exportador / <i>Address of exporter</i> : Avenida Rômulo Joviano, s/n., Caixa Postal 50, Centro Pedro Leopoldo/Minas Gerais CEP 33.600-000	
Local de embarque / <i>Place of shipment</i> : Aeroporto Internacional de Viracopos (Campinas/SP)	Transporte / <i>Transport</i> : AÉREO

**III – DESTINO / DESTINATION**

País de destino / <i>Country of destination</i> : Chile
Nome do importador / <i>Name of importer</i> : [REDACTED] (Fabián Reyes)
Endereço do importador / <i>Address of importer</i> : [REDACTED] Código postal: [REDACTED]
Nome do estabelecimento de destino / <i>Name of destination premise</i> : [REDACTED]
Endereço do estabelecimento de destino / <i>Address of destination premise</i> : [REDACTED]

IV - INFORMAÇÕES ADICIONAIS / *ADDITIONAL INFORMATION*

O médico veterinário oficial abaixo assinado certifica que / *The undersigned official veterinary certifies that:*

AUTORIZO A EXPORTAÇÃO, em cumprimento das normas legais vigentes e das exigências sanitárias do país importador, que constam da carta /

A mercadoria não possui valor comercial e não é destinada ao consumo humano ou animal. / *The commodity has no commercial value and it is not intended for human or animal consumption.*

A presente autorização poderá ser cancelada a qualquer momento, a critério do Departamento de Saúde Animal. / *The current authorization can be cancelled at any time by decision of the Department of Animal Health*

Nº do lacre (se aplicável) /  
Seal Nº (if applicable)

3183632

Local / Done at

CUNHUS - MG

Data / Date

17 DE MARÇO DE 2017

CARIMBO OFICIAL / *OFFICIAL STAMP:*



  
EDUARDO SILAS DE CASTRO FALEIRO  
AUDITOR FISCAL FEDERAL AGROPECUÁRIO  
Carteira Fiscal nº 2805  
Médico Veterinário = CRMV-MG: 4048

NOME E ASSINATURA DO MÉDICO VETERINÁRIO OFICIAL  
*NAME AND SIGNATURE OF THE OFFICIAL VETERINARY*

# Anexo VI - Certificado de Origem para laboratórios da Holanda

CE.OG.JUN.07



ORIGINAL

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL  
MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO - MAPA

## CERTIFICADO DE ORIGEM CERTIFICATE OF ORIGIN

CERTIFICADO Nº / CERTIFICATE N° [REDACTED] 2017

### I – IDENTIFICAÇÃO DA MERCADORIA / IDENTIFICATION OF THE COMMODITY

Mercadoria / Commodity: Gordura de frango / Grasa de pollo fusionada
Espécie de Origem / Specie of Origin: Frango / Pollo
Finalidade / Purpose: PESQUISA CIENTÍFICA

### II – ORIGEM / ORIGIN

Nome do exportador / Name of exporter: Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais – LANAGRO/MG	
Endereço do exportador / Address of exporter: Avenida Rômulo Joviano, s/n., Caixa Postal 50, Centro Pedro Leopoldo/Minas Gerais CEP 33.600-000	
Local de embarque / Place of shipment: Aeroporto Internacional de Viracopos (Campinas/SP)	Transporte / Transport: AÉREO

### III – DESTINO / DESTINATION

País de destino / Country of destination: Holanda/Netherlands
Nome do importador / Name of importer: [REDACTED]
Endereço do importador / Address of importer: [REDACTED]
Nome do estabelecimento de destino / Name of destination premise: [REDACTED]
Endereço do estabelecimento de destino / Address of destination premise: [REDACTED]

**IV - INFORMAÇÕES ADICIONAIS / ADDITIONAL INFORMATION**

O médico veterinário oficial abaixo assinado certifica que / *The undersigned official veterinary certifies that:*

AUTORIZO A EXPORTAÇÃO, em cumprimento das normas legais vigentes e das exigências sanitárias do país importador, que constam da carta /  
 A mercadoria não possui valor comercial e não é destinada ao consumo humano ou animal. / *The commodity has no commercial value and it is not intended for human or animal consumption.*  
 A presente autorização poderá ser cancelada a qualquer momento, a critério do Departamento de Saúde Animal. / *The current authorization can be cancelled at any time by decision of the Department of Animal Health*

Nº do lacre (se aplicável)  
 Seal N° (if applicable)

3183632

Local / Done at

CUNHOS - MG

Data / Date

17 DE MARÇO DE 2017

CARIMBO OFICIAL / OFFICIAL STAMP:



*[Handwritten Signature]*  
 EDUARDO SILAS DE CASTRO FALEIRO  
 AUDITOR FISCAL FEDERAL AGROPECUÁRIO  
 Carteira Fiscal nº 2805  
 Médico Veterinário - CRMV-MG: 4048

NOME E ASSINATURA DO MÉDICO VETERINÁRIO OFICIAL  
 NAME AND SIGNATURE OF THE OFFICIAL VETERINARY

# Anexo VII - Certificado de Origem para laboratórios da Canadá

CE.NC.FEV.07



**ORIGINAL**

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL  
 MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO - MAPA

## DECLARAÇÃO / DECLARATION

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento declara não ter restrições quanto à remessa ao exterior abaixo especificada, bem como não ter conhecimento da necessidade de certificação sanitária para o produto em questão.

*The Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply declares no restriction for the postage of the above mentioned product, as well as do not have knowledge concerning the need of sanitary certification of that product.*

### I – IDENTIFICAÇÃO DA MERCADORIA / IDENTIFICATION OF THE COMMODITY

Mercadoria / Commodity: Gordura de frango / Grasa de pollo fusionada
Espécie de Origem / Specie of Origin: Frango / Pollo
Finalidade / Purpose: PESQUISA CIENTÍFICA

### II – ORIGEM / ORIGIN

Nome do exportador / Name of exporter: Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais – LANAGRO/MG	
Endereço do exportador / Address of exporter: Avenida Rômulo Joviano, s/n., Caixa Postal 50, Centro Pedro Leopoldo/Minas Gerais CEP 33.600-000	
Local de embarque / Place of shipment: Aerop. Internacional de Viracopos (Campinas/SP)	Transporte / Transport: Aéreo

### III – DESTINO / DESTINATION

País de destino / Country of destination: Canadá
Nome do importador / Name of importer: [REDACTED]
Endereço do importador / Address of importer: [REDACTED]
Nome do estabelecimento de destino / Name of destination premise: [REDACTED]

Código de identificação postal/ Postal identification code:

Nº do lacre (se aplicável)  
 Seal N° (if applicable)

3181596

Local / Done at Belo Horizonte

Data / Date 07 de março de 2017

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento não se responsabiliza pelas informações prestadas pelo responsável pela remessa / *The Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply is not responsible for the informations given by the responsible for the postage.*

**CARIMBO OFICIAL / OFFICIAL STAMP:**



*Leandro Lacerda*

---

**NOME E ASSINATURA DO MÉDICO VETERINÁRIO OFICIAL**  
*NAME AND SIGNATURE OF THE OFFICIAL VETERINARY*

## Anexo VIII - Certificado de Origem para laboratório do México

CE.NC.FEV.07



ORIGINAL

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL  
MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO - MAPA

### DECLARAÇÃO / DECLARATION

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento declara não ter restrições quanto à remessa ao exterior abaixo especificada, bem como não ter conhecimento da necessidade de certificação sanitária para o produto em questão.

*The Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply declares no restriction for the postage of the above mentioned product, as well as do not have knowledge concerning the need of sanitary certification of that product.*

#### I – IDENTIFICAÇÃO DA MERCADORIA / IDENTIFICATION OF THE COMMODITY

Mercadoria / <i>Commodity</i> : Gordura de frango / Grasa de pollo fusionada
Espécie de Origem / <i>Specie of Origin</i> : Frango / Pollo
Finalidade / <i>Purpose</i> : PESQUISA CIENTÍFICA

#### II – ORIGEM / ORIGIN

Nome do exportador / <i>Name of exporter</i> : Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais – LANAGRO/MG	
Endereço do exportador / <i>Address of exporter</i> : Avenida Rômulo Joviano, s/n., Caixa Postal 50, Centro Pedro Leopoldo/Minas Gerais CEP 33.600-000	
Local de embarque / <i>Place of shipment</i> : Aerop. Internacional de Viracopos (Campinas/SP)	Transporte / <i>Transport</i> : Aéreo

#### III – DESTINO / DESTINATION

País de destino / <i>Country of destination</i> : México
Nome do importador / <i>Name of importer</i> : [REDACTED]
Endereço do importador / <i>Address of importer</i> : [REDACTED]
Nome do estabelecimento de destino / <i>Name of destination premise</i> : [REDACTED]
Endereço do estabelecimento de destino / <i>Address of destination premise</i> : [REDACTED]

Código de identificação postal/ *Postal identification code*: C.P. 62550

Nº do lacre (se aplicável)/ 3191803  
*Seal Nº (if applicable)* \_\_\_\_\_

Local / *Done at* Belo Horizonte \_\_\_\_\_

Data / *Date* 07/03/2017 \_\_\_\_\_

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento não se responsabiliza pelas informações prestadas pelo responsável pela remessa / *The Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply is not responsible for the informations given by the responsible for the postage.*

**CARIMBO OFICIAL / OFFICIAL STAMP:**



RODOLFO DE MORAES JUNIOR  
FISCAL FEDERAL AGROPECUÁRIO  
CARTEIRA DE IDENT. FISCAL Nº 780  
MÉD. VETERINÁRIO - CRMV 5536  
SSA/DDA/SFA-MG - 6

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Rodolfo de Moraes Junior'.

**NOME E ASSINATURA DO MÉDICO VETERINÁRIO OFICIAL**  
*NAME AND SIGNATURE OF THE OFFICIAL VETERINARY*

Anexo IX - Certificado de Origem para laboratório da Argentina

CE.0G.JUN.07



ORIGINAL

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL  
MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO - MAPA

**CERTIFICADO DE ORIGEM**  
**CERTIFICATE OF ORIGIN**

CERTIFICADO Nº / CERTIFICATE Nº [REDACTED] 2017

**I – IDENTIFICAÇÃO DA MERCADORIA / IDENTIFICATION OF THE COMMODITY**

Mercadoria / Commodity: Gordura de frango / Grasa de pollo fusionada
Espécie de Origem / Specie of Origin: Frango / Pollo
Finalidade / Purpose: PESQUISA CIENTÍFICA

**II – ORIGEM / ORIGIN**

Nome do exportador / Name of exporter: Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais – LANAGRO/MG
Endereço do exportador / Address of exporter: Avenida Rômulo Joviano, s/n., Caixa Postal 50, Centro Pedro Leopoldo/Minas Gerais CEP 33.600-000

Local de embarque / Place of shipment: Aeroporto Internacional de Viracopos (Campinas/SP)	Transporte / Transport: AÉREO
--	----------------------------------

**III – DESTINO / DESTINATION**

País de destino / Country of destination: Argentina
Nome do importador / Name of importer: [REDACTED]
[REDACTED]
Nome do estabelecimento de destino / Name of destination premise: [REDACTED]
Endereço do estabelecimento de destino / Address of destination premise: [REDACTED]

**IV - INFORMAÇÕES ADICIONAIS / ADDITIONAL INFORMATION**

O médico veterinário oficial abaixo assinado certifica que / *The undersigned official veterinary certifies that:*

AUTORIZO A EXPORTAÇÃO, em cumprimento das normas legais vigentes e das exigências sanitárias do país importador, que constam da Nota CIP Nº 007/2017.

A mercadoria não possui valor comercial e não é destinada ao consumo humano ou animal. / *The commodity has no commercial value and it is not intended for human or animal consumption.*

A presente autorização poderá ser cancelada a qualquer momento, a critério do Departamento de Saúde Animal. / *The current authorization can be cancelled at any time by decision of the Department of Animal Health*

Nº do laço (se aplicável) / 3182524  
 Seal Nº (if applicable) \_\_\_\_\_

Local / Done at CONFINS

Data / Date 16 DE MARÇO DE 2017

CARIMBO OFICIAL / OFFICIAL STAMP:



  
 EDUARDO SILAS DE CASTRO FALEIRO  
 AUDITOR FISCAL FEDERAL AGROPECUÁRIO  
 Carteira Fiscal nº 2805  
 Médico Veterinário - CRMV-MG: 4048

NOME E ASSINATURA DO MÉDICO VETERINÁRIO OFICIAL  
 NAME AND SIGNATURE OF THE OFFICIAL VETERINARY

## Anexo X - Formulário para confirmação de recebimento de amostras

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA  
Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/MG  
Divisão Técnica Laboratorial – DLAB / Programas Interlaboratoriais e Materiais de Referência –  
PRIMAR/PL

Formulário - FOR  
FOR/PRIMAR/PL/009 – V.1 – Confirmação de recebimento de amostras Página 1 de 1

### Confirmação de recebimento/Acknowledgement of receipt

Favor preencher esse formulário e enviar imediatamente após recebimento das amostras para:  
[primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br) Please fill in this form and return it immediately upon receipt of the  
samples to: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br)

Nome do laboratório/ *Laboratory name:*

Código do laboratório/ *Laboratory code:*

Por meio deste, confirmamos o recebimento das seguintes amostras: / *Hereby, we confirm the receipt of  
the following samples:*

	Código da amostra <i>Sample code</i>	Número do frasco <i>Bottle number</i>
1	Gordura de Aves Fundida <i>Melted chicken fat</i>	

( ) As amostras estavam em boas condições/ *The samples were in a good condition*

( ) As amostras não estavam em boas condições, a saber: / *The samples were not in good condition,  
namely:*

Data do recebimento/ *Date of receipt:*

Assinatura/ *Signature:* \_\_\_\_\_

## Anexo XI - Formulário para registro de resultados

PLN/PRIMAR/PL/019 V3											
<b>Ensaio de Proficiência (Proficiency Test):</b>		Programa de ensaio de proficiência para análise de dioxinas e furanos em gordura de aves / Proficiency test program for analysis of dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans in chicken fat									
<b>Programa/Rodada (Program/Round):</b>		Rodada única 2017 / Single round 2017									
<b>Nome do laboratório (Laboratory name):</b>											
<b>Pessoa de contato (Contact person):</b>											
<b>E-mail (E-mail address):</b>											
<b>Telefone (Phone number):</b>											
RESULTADOS DE ANÁLISE (ANALYTICAL RESULTS)											
<b>Identificação da amostra (Sample ID):</b>											
Análitos (Analytes)	Resultado Replicata 1 (Result Replicate 1)	Resultado Replicata 2 (Result Replicate 2)	Resultado Médio (Mean Result)	Unidade (Unit)	Recuperação média ( Mean Recovery)	Unidade (Unit)	Incerteza Replicata 1 (Uncertainty Replicate 1)	Incerteza Replicata 2 (Uncertainty Replicate 2)	Unidade (Unit)	LQ (LoQ)	Unidade (Unit)
2,3,7,8-TCDD											
1,2,3,7,8-PeCDD											
1,2,3,4,7,8-HxCDD											
1,2,3,6,7,8-HxCDD											
1,2,3,7,8,9-HxCDD											
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD											
OCDD											
2,3,7,8-TCDF											
1,2,3,7,8-PeCDF											
2,3,4,7,8-PeCDF											
1,2,3,4,7,8-HxCDF											
1,2,3,6,7,8-HxCDF											
1,2,3,7,8,9-HxCDF											
2,3,4,6,7,8-HxCDF											
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF											
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF											
OCDF											
∑ PCDD/F-TEQ/OMS											
Favor informar abaixo se a amostra seria considerada como "NÃO-CONFORME", considerando o limite máximo permitido e a incerteza de medição. (Please, indicate below if sample must be considered "NON-COMPLIANT" considering the maximum level and the measurement uncertainty).											
<b>Limite Máximo Permitido (Maximum level)</b>	∑ PCDD/F-TEQ-OMS (upperbound): 1,75 pgTEQ-OMS/g										
<b>Amostra NÃO-CONFORME? (NON-COMPLIANT sample?)</b>											
<b>Comentários / Comments:</b>											
<p><b>Legenda (Legend):</b>          limite de quantificação (limit of quantification)          *ND = não detectado (not detected)          *NT = não testado (not tested)</p>											
										*LQ (LoQ) =	

PLN/PRIMAR/PL019 V3

<b>Ensaio de Proficiência (Proficiency Test):</b>	Programa de ensaio de proficiência para análise de dioxinas e furanos em gordura de aves / Proficiency test program for analysis of dibenzo-p-dioxins and polychlorinated
<b>Programa/Rodada (Program/Round):</b>	Rodada única 2017 / Single round 2017

<b>Nome do laboratório (Laboratory name):</b>	0
<b>Pessoa de contato (Contact person):</b>	0
<b>E-mail (E-mail address):</b>	0
<b>Telefone (Phone number):</b>	0

INFORMAÇÕES SOBRE MÉTODOS ANALÍTICOS (INFORMATION ON ANALYTICAL METHODS)	
Método (Method)	
Método validado (Validated Method Used)	Método acreditado (Accredited Method Used)
Referência do método (Reference):	
Amostragem (Sampling)	
Tamanho da amostra (Sample weight)	
Procedimento de extração (Extraction procedure)	
Banho ultra sônico (Sonicate)	Se outro, especificar (if other, specify):
Extração com solvente (Solvent extraction)	
Fluido supercrítico (supercritical fluid)	
Microondas (Microwave)	
Extração líquida pressurizada (PLE)	
Soxhlet	
Outro (Other)	
Solvente de extração (Extraction solvent)	
Acetato de etila (ethyl acetate)	Se outro, especificar (if other, specify):
Acetona (acetone)	
Acetonitrila (acetonitrile)	
Ciclohexano (cyclohexane)	
Diclorometano (dichloromethane)	
Diétil éter (diethyl ether)	
Dimetilformamida (dimethyl formamide)	
Etanol (ethanol)	
Hexano (hexane)	
Isopropanol (iso-propanol)	
Metanol (methanol)	
Tolueno (toluene)	
Outro (other)	
Purificação (Sample clean up)	
Coluna de alumina (alumina column)	Se outro, especificar (if other, specify):
Coluna de carbono (carbon column)	
Coluna florissil (florisil column)	
Coluna de sílica (silica column)	
Extração fase sólida - SPE (solid phase extraction)	
Extração líquido-líquido (liquid-liquid extraction)	
Cromatografia de permeação em gel - GPC (Gel permeation chromatography)	
FMS Power Prep	
Outro (other)	
Técnica de Detecção (Detection technics)	
Cromatografia Gasosa (GC)	
ECD - captura de elétrons	DR calux
HR-MS	Outro (Other)
MS	Se outro, especificar (if other specify):
MSD	
MS/MS	
TOF	
Outro (Other)	
Tipo de coluna (Column Type)	Se outro, especificar (if other specify):
Empacotamento da coluna (Column packing)	
Volume de injeção (Injection volume)	
Modo de injeção (Injection mode)	
Método de calibração (Calibration Method)	
Calibração interna - Isótopos marcados (Internal calibration - labelled compounds)	Padrões internos adicionados (Internal standards added)
Calibração interna - Compostos não marcados (Internal calibration - non labelled compounds)	Se outro, especificar (if other specify):
Calibração externa (External calibration)	
Outro (other)	
Quantificação (Quantification)	

Anexo XII – Relatório Final de Ensaio de Proficiência para Análise de Dioxinas em Gordura de Aves 2017.



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA  
LABORATÓRIO NACIONAL AGROPECUÁRIO – LANAGRO/MG  
Divisão Técnica Laboratorial - DLAB / Programas Interlaboratoriais e Materiais de Referência - PRIMAR/PL

RELATÓRIO FINAL DE ENSAIO DE  
PROFICIÊNCIA PARA ANÁLISE DE DIOXINAS  
E FURANOS EM GORDURA DE AVES 2017

REL/EP/PRIMAR/019 - V.1



PROGRAMAS INTERLABORATORIAIS E MATERIAIS DE REFERÊNCIA - PRIMAR  
LABORATÓRIO NACIONAL AGROPECUÁRIO – LANAGRO/MG  
Endereço: Av. Rômulo Joviano, s/n Centro – Pedro Leopoldo/MG  
CEP: 33600-000  
Tel/Fax: +55 31 3660 9670 / +55 31 3660 9602  
E-mail: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br)

Impresso por: Wagner de Souza

Cópia não controlada

Página 1/34



## 1.0 Introdução Introduction

Os laboratórios analíticos devem se mostrar competentes visando assegurar a confiabilidade de seus resultados e capacidade técnica. Uma das maneiras de se demonstrar isso é através do emprego de ferramentas da qualidade externas ao laboratório, como por exemplo, a participação em ensaios de proficiência, nos quais os resultados obtidos podem evidenciar qualidade e competência para um determinado escopo analítico assim como um indicador de melhoria de desempenho.

O emprego de ensaios de proficiência e/ou outros controles externos num programa de qualidade, permite ao laboratório garantir a clientes e acreditadores sua eficácia no controle de qualidade interno. Ao mesmo tempo, este pode servir de referência externa de exatidão, dos resultados, possibilitando uma comparação interlaboratorial com outros participantes.

Diante dessa perspectiva, foi realizado um ensaio de proficiência para análise de dioxinas e furanos em gordura de frango empregando um material produzido pelo Laboratório de Dioxinas e PCBs – LDP/LANAGRO-MG, com a participação de 12 laboratórios dos seguintes países: Argentina, Brasil, Canadá, Chile, México e Holanda.

Analytical laboratories should be competent to ensure the reliability of their results and technical capacity. One of the ways to demonstrate this is through the use of external quality tools to the laboratory, such as participation in proficiency tests, in which the results can show quality and competence for a given analytical scope as well as an indicator of Improvement.

The use of proficiency tests and / or other external controls in a quality program allows the laboratory to guarantee to clients and accreditors their effectiveness in internal quality control. At the same time, this can serve as an external reference for accuracy, of the results, allowing an interlaboratory comparison with other participants.

From this perspective, a proficiency test was provided to analyze dioxins and furans in poultry fat using a material produced by the Laboratory of Dioxins and PCBs - LDP / LANAGRO-MG, including participants of 12 laboratories from the following countries: Argentina, Brazil , Canada, Chile, Mexico and the Netherlands.

## **2.0 Organização e Coordenação Organization and Cordination**

### **Instituição Organizadora e Coordenadora Proficiency Testing Provider**

Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais – LANAGRO-MG  
Avenida Rômulo Joviano, s/nº, Caixa Postal 35/50, Centro, CEP 33600-000 – Pedro Leopoldo/MG.

### **Instituição Parceira Partner institution**

Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos  
Faculdade de Farmácia Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG  
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha – CEP 31270-901  
Belo Horizonte – MG – Brasil

### **Equipe Coordinating Staff**

Gerente do PEP/Proficiency Testing Scheme Manager  
Patrícia Ferreira e Silva – Programas Interlaboratoriais e Materiais de Referência – PRIMAR/LANAGRO-MG

Gerentes Técnicos do PEP/Proficiency Testing Scheme Technical Manager  
Andréa Melo Garcia de Oliveira – Programas Interlaboratoriais e Materiais de Referência – PRIMAR/LANAGRO-MG  
Rafael Pissinatti – Laboratório de Dioxinas e PCBs – LDP/LANAGRO-MG

Chefe da Divisão Técnica do LANAGRO-MG / LANAGRO-MG Head of the Technical Division  
Nilson César Castanheira Guimarães – Divisão Técnica Laboratorial – DLAB/LANAGRO-MG

Gerente da Qualidade do LANAGRO-MG / LANAGRO-MG Quality Manager  
Roseane Brandão de Brito – Unidade de Gestão da Qualidade – UGQ/LANAGRO-MG

Membros do Comitê Consultivo/Advisory Committee Manager  
Scheilla Vitorino Carvalho de Souza Ferreira – Professora do Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais / Professor of the Postgraduate Program in Food Science of the Federal University of Minas Gerais

Roberto Gonçalves Junqueira – Professor do Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais / Professor of the Postgraduate Program in Food Science of the Federal University of Minas Gerais

**Equipe Executora**  
**Execution team**

Renan Martins dos Santos – Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais / Student of the Postgraduate Program in Food Science of the Federal University of Minas Gerais

Viviane Michelle Corrêa de Sousa Mendes – PRIMAR/LANAGRO-MG

Maiara Andrade de Carvalho Souza – PRIMAR/LANAGRO-MG

Daniela Vasconcelos Augusti – LDP/LANAGRO-MG

Matheus Mendes Malaquias Friaça Glória – LDP/LANAGRO-MG

Antônia Cristiane Paz de Brito – LDP/LANAGRO-MG

**3.0 Objetivos**  
**Objectives**

O programa de ensaio de proficiência de dioxinas e furanos em gordura de frango teve como objetivos comparar os resultados e avaliar o desempenho dos laboratórios participantes, permitindo verificar a confiabilidade dos resultados analíticos e identificar eventuais problemas nos laboratórios, promovendo a melhoria contínua da qualidade.

The objective of this proficiency test for dioxins and furans in poultry fat was to compare the results and evaluate the performance of the participating laboratories, allowing to verify the reliability of the analytical results and to identify any problems in the laboratories, promoting the continuous quality improvement.

**4.0 Laboratórios participantes**  
**Participating laboratories**

No programa de ensaio de proficiência de dioxinas e furanos em gordura de frango, foram aceitos laboratórios públicos e privados, nacionais e internacionais, que realizam análises de dioxinas e furanos.

In this proficiency test for dioxins and furans in poultry fat, national and international public and private laboratories that perform dioxin and furan analyzes were accepted.

## **5.0 Itens de ensaio**

### **5.1 Seleção**

#### **Proficiency test items**

#### **Selection**

Os itens de ensaio foram preparados a partir de amostras de gordura de frango naturalmente contaminadas com dioxinas e furanos de relevância toxicológica na ordem de 0 a 50 pg TEQ (OMS)/g para o somatório.

The test items were prepared from poultry fat samples naturally contaminated with dioxins and furans of toxicological relevance on the order of 0 to 50 pg TEQ (WHO) / g for the total PCDD/F.

### **5.2 Preparação**

#### **Preparation**

Os itens de ensaio do programa foram produzidos no LDP/LANAGRO-MG.

Para a preparação, utilizou-se gordura naturalmente contaminada. A amostra foi processada e fundida em forno de micro-ondas. A gordura obtida foi transferida para um recipiente de vidro e mantida sob agitação em banho-termostático até o término do envase.

O envase do material foi realizado em frasco de vidro ambar com auxílio de uma bomba peristáltica. Em cada frasco foi adicionado cerca de 80 g do material. Cada frasco foi rotulado, recebendo uma identificação unívoca.

The test items of the program were produced in the LDP / LANAGRO-MG.

For the preparation, naturally contaminated fat was used. The sample was processed and melted in a microwave oven. The obtained fat was transferred to a glass vessel and kept under stirring in a thermostatic bath until the end of the package.

The packaging of the material was carried out in an amber glass bottle using a peristaltic pump. About 80 g of the material was added to each flask. Each vial was labeled, receiving a unique identification.

### **5.3 Manuseio e armazenamento**

#### **Handling and storage**

Os itens de ensaio produzidos foram armazenados em refrigerador, com temperatura controlada na faixa de 2 a 10 °C, sendo mantidos nesta condição até a data de envio aos laboratórios participantes.

The test items produced were stored in a refrigerator, temperature controlled in the range of 2 to 10 °C, and kept in this condition until the date of shipment to the participating laboratories.

#### **5.4 Distribuição Distribution**

Os itens de ensaio foram distribuídos a todos os laboratórios participantes em data previamente estabelecida, conforme cronograma do programa.

Os itens de ensaio foram devidamente acondicionados, de forma a preservar a integridade dos mesmos durante o transporte.

O transporte foi realizado em temperatura ambiente, evitando-se a exposição a fontes de calor excessivo.

Os laboratórios tiveram que inspecionar os itens de ensaio e registrar as condições de recebimento no formulário FOR/PRIMAR/PL/009 – V.1 - Confirmação de recebimento de amostras, encaminhada por e-mail aos participantes.

Em caso de perda ou dano do item de ensaio, o laboratório participante foi orientado a entrar em contato com o PRIMAR/LANAGRO-MG, através do e-mail: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br).

The test items were distributed to all participating laboratories on a previously established date, according to the schedule of the program.

The test items were properly packed in order to preserve their integrity during transport.

Transport was performed at room temperature, avoiding exposure to excessive heat sources.

The laboratories had to inspect the test items and register the conditions of receipt in the form FOR / PRIMAR / PL / 009 - V.1 - Confirmation of receipt of samples, sent by e-mail to the participants.

In case of loss or damage of the test item, the participating laboratory was instructed to contact PRIMAR / LANAGRO-MG, through the email: [primar.lanagromg@agricultura.gov.br](mailto:primar.lanagromg@agricultura.gov.br).

#### **6.0 Método de ensaio Test method**

Para avaliação da homogeneidade, estabilidade e atribuição do valor verdadeiro os itens de ensaio foram analisados por Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas de Alta Resolução (GC-EMAR) [1], com algumas adaptações, acreditado na ISO IEC NBR 17025:2005.

Para realização das análises do ensaio de proficiência, os participantes puderam utilizar o método analítico de sua escolha, consistente com os procedimentos empregados nas amostras de rotina do laboratório.

A avaliação da equivalência de métodos foi realizada pelo comitê consultivo na etapa de tratamento de dados.

To evaluate the homogeneity, stability and assignment of the true value the test items were analyzed by Gas Chromatography coupled to High Resolution Mass Spectrometry (GC-HRMS) [1], adapted, accredited in ISO IEC NBR 17025: 2005.

In order to perform the proficiency test analyzes, the participants were able to use the analytical method of their choice, consistent with the procedures used in routine laboratory samples.

The evaluation of method equivalence was performed by the advisory committee at the data processing stage.

## **7.0 Procedimentos estatísticos**

### **7.1 Avaliação da homogeneidade e estabilidade**

#### **Statistical design**

#### **Homogeneity and stability evaluation**

A avaliação da homogeneidade e da estabilidade dos itens de ensaio foi realizada conforme os procedimentos descritos na norma ISO 13528 "*Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*" [2].

The evaluation of the homogeneity and stability of the test items was performed according to the procedures described in ISO 13528 "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons" [2].

### **7.2 Atribuição do valor designado verdadeiro**

#### **Assigned value**

Para o programa em questão, as estimativas dos valores designados verdadeiros foram obtidas através do consenso dos resultados analíticos reportados pelos laboratórios participantes após tratamento de outliers, em consonância com os procedimentos da norma ISO 13528 "*Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*" [2].

For this proficiency test the designated values were obtained through the consensus of the analytical results reported by the participating laboratories after treatment for outliers, in accordance with the procedures of standard ISO 13528 "Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons" [2].

### **7.3 Determinação do desvio padrão alvo**

#### **Standard deviation**

Os valores de desvio padrão alvo para o programa de ensaio de proficiência de dioxinas e furanos foram estabelecidos através de valores previstos pela legislação da União Europeia (Regulamento UE nº 589/2014), que adota, para o escopo dioxinas e furanos, desvios de 20% para os congêneres individuais e 10% para o somatório TEQ [3].

The target standard deviation values for the dioxin and furan proficiency test program have been established by EU legislation (EU Regulation No 589/2014) and by the EURL for PCDD/F which adopt, for the scope of dioxins and furans, deviations of 20 % For the individual congeners and 10% for the sum TEQ [3] [7].

#### 7.4 Avaliação de desempenho Performance assessment

A avaliação dos resultados analíticos reportados pelos laboratórios participantes foi realizada usando a função z-score, conforme descrito na ISO 17043 [4].

The evaluation of the analytical results reported by the participating laboratories was performed using the z-score function, as described in ISO 17043 [4].

A função z-score é dada por:

The z-score function is given by:

$$z = \frac{x - \hat{X}}{\sigma_p}$$

Onde:

$x$  : é o resultado analítico do laboratório;

$\hat{X}$  : é o valor (concentração) designado como verdadeiro;

$\sigma_p$  : é o desvio padrão alvo.

Where:

$x$  : is the laboratory analytical result;

$\hat{X}$  : is the assigned value (content);

$\sigma_p$  : is the standard deviation.

A interpretação do escore z é feita conforme descrito a seguir:

$ z  \leq 2$ : o resultado do laboratório é considerado satisfatório. $2 <  z  < 3$ : o resultado do laboratório é considerado questionável. $ z  \geq 3$ : o resultado do laboratório é considerado insatisfatório.
--

The z-score interpretation is made as described as follows:

$ z  \leq 2$ : the laboratory result is considered satisfactory. $2 <  z  < 3$ : the laboratory result is considered questionable. $ z  \geq 3$ : the laboratory result is considered unsatisfactory.
---

## 8.0 Resultados

### 8.1 Resultados da avaliação da homogeneidade Homogeneity evaluation results

Na avaliação da homogeneidade, para os analitos 1,2,3,7,8,9-HxCDD; 1,2,3,7,8,9-HxCDF; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF; OCDD e OCDF as concentrações em pg/g foram inferiores ao limite de quantificação do método adotado e, portanto, não foram estimadas. Cumpre destacar que os analitos quantificados cobriram as dioxinas e furanos de maior relevância toxicológica, ou seja, todos os analitos de TEF 1 e 0,3 e a maioria daqueles de TEF 0,1.

Os resultados foram analisados considerando-se o  $\sigma_{pUE}$  de 20 % para congêneres individuais e de 10 % para o somatório TEQ, conforme regulamentado pela União Europeia [3]. Repetibilidade do método foi demonstrada para todos os analitos quantificados e somatório TEQ, uma vez que  $s_{an} \leq 0,5 \sigma_p$ . Desta forma, o método empregado foi considerado suficientemente preciso para permitir uma estimativa satisfatória da variância entre amostras.

Conforme representado na **Tabela 1**, o lote de MR preparado foi considerado homogêneo para os dez analitos quantificados e somatório TEQ destes congêneres, conforme o critério de avaliação [2], tendo como alíquota analítica uma massa de amostra de no mínimo 12 g.

In the assessment of homogeneity, for analytes 1,2,3,7,8,9-HxCDD; 1,2,3,7,8,9-HxCDF; 1,2,3,4,6,7,8-H-CDF; 1,2,3,4,6,7,8-H-CDCD; 1,2,3,4,7,8,9-H-CDF; OCDD and OCDF concentrations in pg/g were below the limit of quantification of the adopted method and were therefore not estimated. It should be noted that the quantified analytes covered dioxins and furans of major toxicological relevance, ie analytes which have TEF value of 1 and 0.3 and most of those which have TEF value of 0.1.

The results were analyzed considering  $\sigma_{PUE}$  of 20% for individual congener and 10% for summation TEQ, as regulated by the European Union [3] [7]. Repeatability of the method was demonstrated for all quantified analytes and summation TEQ, since  $s_{an} \leq 0.5 \sigma_p$ . Thus, the method used was considered sufficiently precise to allow a satisfactory estimate of the variance between samples.

As shown in **Table 1**, the prepared MR batch was considered homogeneous for the ten analytes quantified and for the total PCDD/F-TEQ, according to the evaluation criterion [2], having a sample mass of at least 12 g as the analytical aliquot.

RELATÓRIO FINAL DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA ANÁLISE DE DIOXINAS E FURANOS EM GORDURA DE AVES 2017

Tabela 1. Teste da homogeneidade dos materiais produzidos, segundo critérios da norma ISO 13528

Análito <i>Analyte</i>	<i>n</i>	Média		<i>s<sub>s</sub></i>	Critério <i>Criterion</i>	Resultado <i>Result</i>
		<i>Average</i>				
					$0,3\sigma_{\text{PUE}}$	
					pg/g	
2,3,7,8-TCDF	18	6,3	0,0	0,0	0,38	Homogêneo
2,3,7,8-TCDD	20	0,69	0,015	0,015	0,041	Homogêneo
1,2,3,7,8-PeCDF	18	2,5	0,0	0,0	0,15	Homogêneo
2,3,4,7,8-PeCDF	18	3,3	0,0044	0,0044	0,20	Homogêneo
1,2,3,7,8-PeCDD	20	0,70	0,024	0,024	0,042	Homogêneo
1,2,3,4,7,8-HxCDF	18	1,3	0,021	0,021	0,077	Homogêneo
1,2,3,6,7,8-HxCDF	18	0,84	0,0	0,0	0,050	Homogêneo
2,3,4,6,7,8-HxCDF	20	0,52	0,0	0,0	0,032	Homogêneo
1,2,3,4,7,8-HxCDD	20	0,18	0,0062	0,0062	0,011	Homogêneo
1,2,3,6,7,8-HxCDD	20	0,26	0,0081	0,0081	0,016	Homogêneo
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-
$\Sigma$ Total PCDD/F (TEQ)	18	3,5	0,044	0,044	0,10	Homogêneo

2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano. *n*: número de observações após tratamento de *outliers* pelo teste de Cochran; *s<sub>s</sub>*: desvio padrão entre amostras;  $\sigma_{\text{PUE}}$ : desvio padrão da proficiência regulamentado pela União Europeia (UE, 2014); Critério para avaliação da homogeneidade: se  $s_s \leq 0,3\sigma_{\text{PUE}}$ , o lote do material é homogêneo.

## 8.2 Resultados da avaliação da estabilidade

### 8.2.1 Estabilidade em condições de transporte

No estudo de estabilidade em curto prazo que visou simular condições de estresse causadas durante o transporte, não foram notadas diferenças significativas entre os grupos controle e experimental para todos os analitos quantificados e respectivo somatório TEQ, nos três tempos avaliados, de acordo com os critérios da ISO 13528 [2].

Assim como na avaliação da homogeneidade, os resultados deste estudo foram analisados considerando-se a referência para estimativa do  $\sigma_p$ , os valores regulamentados pela União Europeia [3].

Quando os grupos foram comparados, simultaneamente, por análise de variância não foram notadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), para nove analitos quantificados e somatório TEQ de congêneres. Para o analito 2,3,7,8-TCDD, significativo pela análise de variância ( $p < 0,05$ ), foi aplicado teste de Tukey, o qual não evidenciou diferenças significativas entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). Desta forma, tal estudo permitiu concluir que, para as dioxinas e furanos analisados, a exposição à faixa de temperatura  $45\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ , por um período de até nove dias, não alterou a qualidade do MR produzido, de forma que a distribuição do MRs aos participantes foi planejada em função destes resultados.

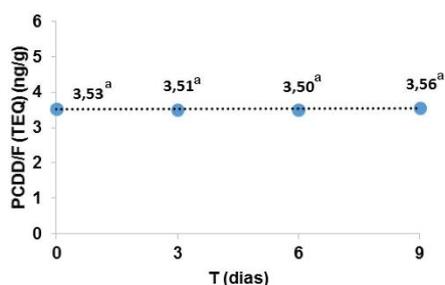
Na **Figura 1** encontra-se ilustrado o perfil das respostas médias obtidas para o somatório TEQ dos congêneres de dioxinas e furanos quantificados no presente trabalho, nos MR expostos a  $45\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ , por períodos de três, seis e nove dias, demonstrando estabilidade nas condições simuladas de estresse durante o transporte.

In the short-term stability study aimed for simulating stress conditions caused during transport, no significant differences were observed between the control and experimental groups for all quantified analytes and for the total PCDD/F-TEQ, in the three time frames evaluated, according to the criteria of ISO 13528 [2].

As made in the assessment of homogeneity, the results of this study were analyzed considering the reference for estimation of  $\sigma_p$ , values regulated by the European Union [3] [7].

When the groups were compared simultaneously by analysis of variance, no significant differences were observed ( $p > 0.05$ ), for nine quantified analytes and the total PCDD/F-TEQ. For the analyte 2,3,7,8-TCDD, significant by the analysis of variance ( $p < 0.05$ ), Tukey's test was applied, which did not show significant differences between the treatments ( $p > 0.05$ ). Thus, for the dioxins and furans analyzed, exposure to the temperature range  $45 \pm 3\text{ °C}$  for a period of up to nine days did not alter the quality of the MR produced, so that the Distribution of MRs to the participants was planned based on these results.

**Figure 1** shows the mean responses obtained for the TEQ sum of the dioxin and furan congeners quantified in the present study, in the MRs exposed at  $45\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$  for periods of three, six and nine days, Demonstrating stability in simulated stress conditions during transport.



**Figura 1.** Representação do perfil de estabilidade observado no estudo em curto prazo (modelo isócrono) para o somatório TEQ dos congêneres.

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na horizontal, não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

### 8.2.2 Estabilidade em longo prazo

No estudo de estabilidade clássica os MRs foram avaliados logo após sua preparação e no prazo estabelecido para que os laboratórios participantes reportassem os resultados, que correspondeu a 120 dias após a preparação. Esse estudo visou garantir que não fossem observadas variações no MR durante o período de distribuição e análise pelos participantes. Cumpre destacar que houve problemas analíticos que impediram a quantificação do analito 1,2,3,4,7,8-HxCDD. Segundo a norma ISO 13528 [2] o MR produzido indicou instabilidade para o 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,4,7,8-HxCDF e o somatório TEQ dos congêneres.

Numa avaliação mais completa, envolvendo análise de regressão dos resultados obtidos na preparação do MR e em diferentes tempos no decorrer do prazo de vigência do EP de 120 dias, a estabilidade do material foi evidenciada, para as nove dioxinas e furanos quantificados e somatório TEQ destes congêneres. Em todos os casos, na análise de variância a regressão não foi significativa ( $p > 0,05$ ).

In the classical stability study, MRs were evaluated shortly after their preparation and within the established time frame for the participating laboratories to report the results, which corresponded to 120 days after the preparation. This study aimed to ensure that variations in MR were not observed during the period of distribution and analysis by the participants. It should be noted that there were analytical problems that disturbed the quantification of the analyte 1,2,3,4,7,8-HxCDD. According to ISO 13528 [2], the MR produced indicated instability for the 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,4,7,8-HxCDF and total PCDD/F-TEQ.

In a more complete evaluation, involving regression analysis of the results obtained in the MR preparation and at different times over the lifetime of the 120 day PE, the stability of the material was evidenced for the nine dioxins and furans quantified as well as for total PCDD/F-TEQ.

In all cases the regression was not significant in the analysis of variance ( $p > 0.05$ ).

### 8.3 Resultados da avaliação de desempenho

Dez dos 12 laboratórios que aderiram ao estudo reportaram resultados, sendo dois destes somente para o somatório TEQ. Inicialmente, os dados foram compilados em uma planilha, contendo os resultados individuais das replicatas e as respectivas médias, por analito. Alguns laboratórios informaram, ainda, porcentagem de recuperação no controle, valores de incerteza e limite de quantificação, além de descreverem aspectos relacionados à marcha analítica do método escolhido para a análise, conforme detalhado na **Tabelas 2 e 3**.

Ten of the 12 laboratories that adhered to the study reported results, two of which were only for the total PCDD/F-TEQ. Initially, the data were compiled into a spreadsheet, containing the individual replicate results and their means, for each analyte. Some laboratories also reported percentage of recovery in the control, uncertainty values and limit of quantification, besides describing aspects related to the analytical details of the method chosen for the analysis, as detailed in **Tables 2 and 3**.

RELATÓRIO FINAL DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA ANÁLISE DE DIOXINAS E FURANOS EM GORDURA DE AVES 2017

**Tabela 2.** Informações relativas aos métodos reportadas pelos laboratórios participantes

Laboratório <i>Laboratory</i>	Método analítico <i>Analytical method</i>	Referência <i>Reference</i>	Método validado <i>Validated method</i>	Tamanho da amostra <i>Analytical method</i>	Método de Extração <i>Extraction method</i>	Solvente da extração <i>Extraction solvent</i>	Purificação <i>Purification</i>	Deteção <i>Detection</i>
L001	Bioensaio	NI	Sim	≥1 - <2 g	Extração com solvente <i>Solvent extraction</i>	Hexano <i>Hexane</i>	Colunas de carvão e sílica <i>Columns of coal and silica</i>	XDS-CALUX
L002	CG-EMAR	US-EPA 1613	Sim	≥5 - <10 g	Micro-ondas <i>Microwave</i>	Hexano <i>Hexane</i>	Coluna de forisil e sílica <i>Column of forisil and silica</i>	EMAR <i>HRMS</i>
L003	CG-EMAR	NI	Sim	≥10 - <25 g	Extração com solvente <i>Solvent extraction</i>	Hexano <i>Hexane</i>	Coluna de carvão, sílica, sílica ácida e sílica multicapa (AgNO <sub>3</sub> ) <i>Column of coal, silica, acid silica and multilayer silica (AgNO<sub>3</sub>)</i>	EMAR <i>HRMS</i>
L004	CG-EM/EM	NI	Não	≥2 - <5 g	Micro-ondas <i>Microwave</i>	Hexano <i>Hexane</i>	Coluna de forisil e sílica <i>Column of forisil and silica</i>	EM/EM
L005	CG-EMAR	EPA 1613 (b)	Sim	≥5 - <10 g	Micro-ondas <i>Microwave</i>	Acetato de etila, diclorometano, hexano, tolueno <i>Ethyl acetate dichloromethane, hexane, toluene</i>	Coluna de alumina, carvão e FMS <i>Power Prep Column of alumina, coal and FMS Power Prep</i>	EMAR <i>HRMS</i>

NI: Não informado pelo participante; CG-EMAR: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de alta resolução; EMAR: Espectrometria de massas de alta resolução; CG-EM/EM: Cromatografia gasosa com espectrometria de massas em modo tandem; EM/EM: espectrometria de massas em modo tandem.

**Tabela 2 continuação.** Informações relativas aos métodos reportadas pelos laboratórios participantes

REL/EP/PRIMAR/019 - V.1

Aprovado em: 28/09/2017

Impresso por: Wagner de Souza

Cópia não controlada

Página 15/34

RELATÓRIO FINAL DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA ANÁLISE DE DIOXINAS E FURANOS EM GORDURA DE AVES 2017

Laboratório <i>Laboratory</i>	Método analítico <i>Analytical method</i>	Referência <i>Reference</i>	Método validado <i>Validated method</i>	Tamanho da amostra <i>Analytical method</i>	Método de Extração <i>Extraction method</i>	Solvente da extração <i>Extraction solvent</i>	Purificação <i>Purification</i>	Deteção <i>Detection</i>
L006	CG-EM/EM	NI	Sim	≥10 - <25 g	Extração com solvente <i>Solvent extraction</i>	Diclorometano <i>Dichloromethane</i>	Coluna de alumina e sílica <i>Column of alumina and silica</i>	EM/EM
L009	CG-EMAR	EPA 1613 (b)	Sim	≥10 - <25 g	Extração líquida pressurizada <i>Pressurized liquid extraction</i>	Acetona:hexano 3:1 <i>Acetone:hexane 3:1</i>	Coluna de carvão e sílica <i>Columns of coal and silica</i>	EMAR <i>HRMS</i>
L010	Bioensaio	NI	Sim	≥2 - <5 g	Banho ultra sônico <i>Ultrasonic bath</i>	Hexano <i>Hexane</i>	Coluna de carvão, florisil e sílica ácida <i>Column of coal, florisil and acid silica</i>	DR-CALUX
L011	CG-EMAR	NI	Sim	≥1 - <2 g	NI	Hexano <i>Hexane</i>	Coluna de alumina, carvão e sílica <i>Column of alumina, coal and silica</i>	EMAR <i>HRMS</i>
L012	CG-EMAR	EPA 1613	Sim	≥10 - <25 g	Extração com solvente <i>Solvent extraction</i>	Hexano <i>Hexane</i>	FMS Power Prep	EMAR <i>HRMS</i>

NI: Não informado pelo participante; CG-EMAR: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de alta resolução; EMAR: Espectrometria de massas de alta resolução; CG-EM/EM: Cromatografia gasosa com espectrometria de massas em modo *tandem*; EM/EM: espectrometria de massas em modo *tandem*.

Tabela 3. Informações relativas ao desempenho analítico reportadas pelos laboratórios participantes.

REL/EP/PRIMAR/019 - V.1

Aprovado em: 28/09/2017

Impresso por: Wagner de Souza

Cópia não controlada Página 16/34

RELATÓRIO FINAL DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA ANÁLISE DE DIOXINAS E FURANOS EM GORDURA DE AVES 2017

Análito	L001			L002			L003			L004			L005		
	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ
2,3,7,8-TCDF	NI	NI	NI	65	0,10	0,025	55	0,19	0,083	72	NI	NI	83	0,02	0,01
2,3,7,8-TCDD	NI	NI	NI	62	0,011	0,025	64	0,041	0,077	74	NI	NI	85	0,03	0,01
1,2,3,7,8-PeCDF	NI	NI	NI	64	0,042	0,063	71	0,063	0,067	81	NI	NI	95	0,01	0,01
2,3,4,7,8-PeCDF	NI	NI	NI	61	0,055	0,063	70	0,084	0,062	73	NI	NI	91	0,02	0,01
1,2,3,7,8-PeCDD	NI	NI	NI	65	0,012	0,063	80	0,050	0,059	76	NI	NI	NI	0,03	0,01
1,2,3,4,7,8-HxCDF	NI	NI	NI	61	0,014	0,063	63	0,063	0,045	80	NI	NI	60	0,02	0,01
1,2,3,6,7,8-HxCDF	NI	NI	NI	60	0,015	0,063	67	0,046	0,042	83	NI	NI	57	0,02	0,01
2,3,4,6,7,8-HxCDF	NI	NI	NI	63	0,0012	0,063	61	0,0054	0,054	77	NI	NI	78	0,02	0,01
1,2,3,4,7,8-HxCDD	NI	NI	NI	66	0,0038	0,063	65	0,015	0,062	79	NI	NI	79	0,02	0,01
1,2,3,6,7,8-HxCDD	NI	NI	NI	66	0,0043	0,063	76	0,024	0,050	86	NI	NI	81	0,02	0,01
1,2,3,7,8,9-HxCDD	NI	NI	NI	66	0,0015	0,063	71	0,020	0,058	84	NI	NI	89	0,02	0,01
1,2,3,7,8,9-HxCDF	NI	NI	NI	65	0,010	0,063	65	0,033	0,042	84	NI	NI	89	0,03	0,01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	NI	NI	NI	69	0,0026	0,063	67	0,011	0,023	80	NI	NI	89	0,02	0,01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	NI	NI	NI	70	0,0029	0,063	80	0,034	0,028	85	NI	NI	84	0,02	0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	NI	NI	NI	62	NI	0,063	68	0,021	0,036	83	NI	NI	52	0,02	0,01
OCDD	NI	NI	NI	63	0,0025	0,13	83	0,012	0,042	74	NI	NI	56	0,02	0,01
OCDF	NI	NI	NI	66	NI	0,13	83	0,0010	0,044	72	NI	NI	NI	0,01	0,01
Σ Total PCDD/F (TEQ)	85	0,031	0,18	NI	0,057	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI

R: recuperação em %; U: incerteza de medição, em pg/g; LQ: Limite de quantificação em pg/g; NI: Não informado pelo participante; 2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.

RELATÓRIO FINAL DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA PARA ANÁLISE DE DIOXINAS E FURANOS EM GORDURA DE AVES 2017

Tabela 3 continuação. Informações relativas ao desempenho analítico reportadas pelos laboratórios participantes.

Análito	L006			L009			L010			L011			L012		
	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ	R	U	LQ
2,3,7,8-TCDF	83	0,89	0,021	51	1,8	0,090	NI	NI	NI	83	1,3	0,05	75	1,34	0,23
2,3,7,8-TCDD	69	0,081	0,021	74	0,11	0,040	NI	NI	NI	86	0,13	0,05	75	0,23	0,08
1,2,3,7,8-PeCDF	81	0,29	0,021	73	0,54	0,13	NI	NI	NI	88	0,54	0,05	61	0,53	0,42
2,3,4,7,8-PeCDF	83	0,037	0,027	91	0,98	0,070	NI	NI	NI	85	0,69	0,05	61	0,66	0,17
1,2,3,7,8-PeCDD	90	0,067	0,021	97	0,23	0,060	NI	NI	NI	87	0,15	0,05	66	0,18	0,17
1,2,3,4,7,8-HxCDF	82	0,084	0,048	72	0,30	0,090	NI	NI	NI	82	0,18	0,05	98	0,26	0,42
1,2,3,6,7,8-HxCDF	74	0,12	0,026	73	0,25	0,080	NI	NI	NI	83	0,19	0,05	81	0,22	0,17
2,3,4,6,7,8-HxCDF	80	0,008	0,025	77	0,17	0,12	NI	NI	NI	82	0,019	0,05	79	NI	0,17
1,2,3,4,7,8-HxCDD	109	0,017	0,021	74	0,057	0,11	NI	NI	NI	90	0,034	0,05	79	0,040	0,17
1,2,3,6,7,8-HxCDD	90	0,034	0,021	78	0,10	0,11	NI	NI	NI	85	0,046	0,05	89	0,060	0,17
1,2,3,7,8,9-HxCDD	63	0,013	0,021	NI	0,039	0,11	NI	NI	NI	86	0,019	0,05	89	NI	0,17
1,2,3,7,8,9-HxCDF	92	0,066	0,021	75	0,12	0,090	NI	NI	NI	86	0,12	0,05	75	0,12	0,17
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	104	0,029	0,14	60	0,082	0,050	NI	NI	NI	83	0,037	0,05	68	NI	0,42
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	110	0,022	0,14	74	0,029	0,090	NI	NI	NI	88	0,029	0,05	70	NI	0,42
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	83	0,014	0,039	68	NI	0,070	NI	NI	NI	86	NI	0,05	72	NI	0,42
OCDD	110	0,027	0,43	81	0,10	0,12	NI	NI	NI	82	0,048	0,20	60	NI	11,67
OCDF	72	0,029	0,17	NI	0,22	0,14	NI	NI	NI	84	NI	0,20	60	NI	11,67
Σ Total PCDD/F (TEQ)	NI	NI	NI	NI	0,93	NI	107	2,2	0,33	NI	0,69	NI	NI	0,38	NI

R: recuperação em %; U: incerteza de medição, em pg/g; LQ: Limite de quantificação em pg/g; NI: Não informado pelo participante; 2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano.



Os quatro laboratório que declararam referência original dos métodos empregados citaram o método EPA 1631. Somente um laboratório declarou adotar o método não validado. Quatro laboratórios reportaram o emprego de alíquotas analíticas de  $\geq 10$  g a 25 g, enquanto as demais faixas  $\geq 1$  g a 2 g,  $\geq 2$  g a 5 g e  $\geq 5$  g a 10 g foram declaradas por dois laboratórios cada. A maioria empregou extração com solvente (n=4), seguido de micro-ondas (n=3), extração líquida pressurizada (n=1) e banho ultrassônico (n=1), sendo que um participante não declarou nenhuma informação nesse item. A maioria dos laboratórios empregou hexano (n=7), sendo outros solventes reportados diclorometano (n=1), acetona:hexano (n=1) e acetato de etila:diclorometano:hexano:tolueno (n=1). Na purificação dos extratos o emprego de colunas de carvão, sílica, florissil, alumina, sílica ácida e FMS Power Prep em diferentes combinações foi declarado pelos participantes. Dos dez laboratórios que reportaram os resultados, seis utilizaram como método de análise CG-EMAR. Dois participantes optaram pelo método CG-EM/EM e outros dois utilizaram bioensaio.

Cumprir observar que os laboratórios quantificaram analitos diferentes. Tal fato ocorreu devido aos diferentes limites de quantificação dos laboratórios participantes. Como no presente ensaio foi utilizada uma amostra naturalmente contaminada, os níveis de contaminação por dioxinas e furanos não foram “ajustados” a patamares de quantificação pela maioria dos laboratórios, o que é possível nos casos de materiais formulados por adição de padrões.

Os laboratórios que utilizaram como método analítico o bioensaio (L001 e L010) somente apresentaram resultados em duplicata para o somatório TEQ. Somente dois laboratórios (L004 e L005) apresentaram valores de quantificação em duplicata para os 17 congêneres e para o somatório TEQ. Três laboratórios (L003, L006 e L009) quantificaram 15 congêneres e o somatório TEQ. Os outros laboratórios apresentaram resultados para as duplicatas de 14 congêneres e o somatório TEQ (L002 e L011) e para 10 congêneres além do somatório TEQ (L012). Os congêneres quantificados pelo maior número de laboratórios corresponderam aos nove analitos para os quais foi demonstrada homogeneidade e estabilidade no presente estudo e, como destacado anteriormente, aos de maiores valores de TEF. Os congêneres com menor frequência de quantificação pelos laboratórios foram o 1,2,3,4,7,8,9-HxCDF e o OCDF, os quais somente três laboratórios (L004, L005 e L006) conseguiram quantificar, seguidos de 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD e OCDD que foram quantificados por cinco participantes. Tais congêneres corresponderam aos de menor relevância toxicológica (TEFs de 0,01 e 0,0001) e, portanto, não impactaram significativamente nas estimativas de somatório TEQ. Tal cenário justificou a análise dos resultados do somatório TEQ neste EP.

Inicialmente, os resultados identificados como “inválidos” foram retirados. Para serem considerados inválidos esses dados estavam expressos nas unidades erradas ou foram considerados *outliers*, ou seja, se encontravam fora da faixa  $\pm 50\%$  da mediana dos resultados dos participantes (**Tabela 4**).

The four laboratories that declared an original reference of the methods employed cited the EPA method 1613. Only one laboratory reported the use of a non-validated method. Four laboratories reported

the use of analytical aliquots from  $\geq 10$  g to 25 g, while the remaining ranges from  $\geq 1$  g to 2 g; from  $\geq 2$  g to 5 g; and from  $\geq 5$  g to 10 g were declared by two laboratories each. Most laboratories use solvent extraction ( $n = 4$ ), followed by microwaves ( $n = 3$ ), pressurized liquid extraction ( $n = 1$ ) and ultrasonic bath ( $n = 1$ ) (one participant did not declare any information in this item). Most of the laboratories employed hexane ( $n = 7$ ), with other solvents reported as dichloromethane ( $n = 1$ ), acetone: hexane ( $n = 1$ ) and ethyl acetate: dichloromethane: hexane: toluene ( $n = 1$ ). For the clean up steps the use of columns of coal, silica, florisil, alumina, acid silica and FMS Power Prep in different combinations was declared by the participants. Of the ten laboratories that reported the results, six used as GC-HRMS analysis method. Two participants chose the GC-MS/MS method and two used bioassay.

It should be noted that the laboratories quantified different analytes. This fact occurred due to the different quantification limits of the participating laboratories. As a naturally contaminated sample was used in the present test, contamination levels by dioxins and furans were not "adjusted" to quantification levels by most laboratories, which would be possible in the case of materials formulated by addition of standards.

The laboratories which used bioassays (L001 and L010) only presented results for the total PCDD/F-TEQ (duplicate). Only two laboratories (L004 and L005) presented quantification values in duplicate for the 17 congeners and for the total PCDD/F-TEQ. Three laboratories (L003, L006 and L009) quantified 15 congeners and the total PCDD/F-TEQ. Other laboratories presented results for the duplicates of 14 congeners and for the total PCDD/F-TEQ (L002 and L011) and for 10 congeners as well as for the total PCDD/F-TEQ. The congeners quantified by the largest number of laboratories corresponded to the nine analytes for which homogeneity and stability was demonstrated in the present study and, as previously mentioned, those with higher TEF values. The lowest frequencies of quantification by laboratories were 1,2,3,4,7,8,9-HxCDF and OCDF, in which only three laboratories (L004, L005 and L006) were able to quantify, followed by 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD and OCDD which were quantified by five participants. These congeners corresponded to those of less toxicological relevance (TEFs of 0.01 and 0.0001) and, therefore, did not significantly impact on estimates of the total PCDD/F-TEQ. This scenario justified the analysis of the results for the total PCDD/F-TEQ in this PT.

Initially, the results identified as "invalid" were withdrawn. In order to be considered invalid, these data were expressed in the wrong units or were considered outliers, e.g. they were outside the range  $\pm 50\%$  of the median of the participants results (**Table 4**).

**Tabela 4.** Detecção de *outliers* entre os resultados dos participantes para determinação do valor designado pela média consensual, segundo critérios da norma ISO 13528.

Análito	Mediana	Mediana -50%	Mediana +50%	N	Número de outliers	Média após tratamento
2,3,7,8-TCDF	6,9	3,4	10,3	8	0	6,6
2,3,7,8-TCDD	0,64	0,32	0,96	8	0	0,64
1,2,3,7,8-PeCDF	2,3	1,2	3,5	8	1	2,3
2,3,4,7,8-PeCDF	3,2	1,6	4,9	8	0	3,3
1,2,3,7,8-PeCDD	0,74	0,37	1,1	8	0	0,74
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1,1	0,57	1,7	8	0	1,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,85	0,43	1,3	8	0	0,87
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,33	0,16	0,49	6	>22%	Não estimada
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,29	0,14	0,43	8	0	0,29
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-
OCDD	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-
Σ Total PCDD/F (TEQ)	3,8	1,9	5,6	10	2	3,5

N: número de laboratórios que reportaram resultados; 2,3,7,8-TCDF: 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano; 2,3,7,8-TCDD: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8-PeCDF: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzofurano; 2,3,4,7,8-PeCDF: 2,3,4,7,8-pentaclorodibenzofurano; 1,2,3,7,8-PeCDD: 1,2,3,7,8-pentaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8-HxCDF: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,6,7,8-HxCDF: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 2,3,4,6,7,8-HxCDF: 2,3,4,6,7,8-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,7,8-HxCDD: 1,2,3,4,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,6,7,8-HxCDD: 1,2,3,6,7,8-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDD: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,7,8,9-HxCDF: 1,2,3,7,8,9-hexaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzofurano; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD: 1,2,3,4,6,7,8-heptaclorodibenzo-p-dioxina; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF: 1,2,3,4,7,8,9-heptaclorodibenzofurano; OCDD: octaclorodibenzo-p-dioxina; OCDF: octaclorodibenzofurano. O valor designado não foi estimado para o analito 2,3,4,6,7,8-HxCDF visto que houve indicação de mais que 22% dos dados como *outliers*.

Um gráfico de pontos foi construído e representado na **Figura 2** para o somatório TEQ dos congêneres de dioxinas e furanos quantificados no presente trabalho, demonstrando os dois resultados tratados como *outliers*.

A chart was constructed and is represented in **Figure 2** for the total PCDD/F-TEQ and for the PCDD/F congeners quantified in the present work, demonstrating the two results treated as outliers.

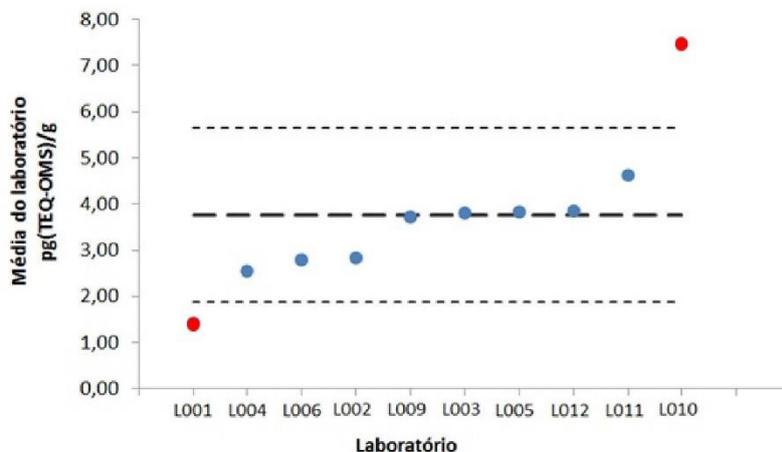


Figura 2. Representação do gráfico de pontos para o somatório TEQ dos congêneres.

Outliers indicados em vermelho; - - - - - limites de  $\pm 50\%$  da mediana; - - - - - mediana.

Um resultado foi identificado como *outlier* para o congêneres 1,2,3,7,8-PeCDF proveniente do laboratório L011. Os dois resultados indicados como *outliers* no caso do somatório TEQ foram dos laboratórios 001 e 010 que empregaram bioensaio. Para o analito 2,3,4,6,7,8-HxCDF, que foi quantificado por seis laboratórios, houve detecção de três *outliers*, correspondendo a um número de dados dispersos acima do limite de 20-22 % recomendado [5] [6], acima do qual torna-se necessário questionar sobre a premissa de distribuição dos dados obtidos ou sobre a qualidade dos mesmos. Desta forma, prosseguiu-se a análise de resultados sem o referido analito, ou seja, para oito congêneres e o somatório TEQ.

Em seguida, foi feita uma estimativa do estimador de intensidade da distribuição dos resultados utilizando *kernels* com uma amplitude  $h$  de  $0,75 \sigma_p$ , o que resultou em um estimador de intensidade unimodal e aparentemente simétrico em todos os casos. Desta forma, a média dos participantes pôde ser adotada como valor designado, em função do número de participantes inferior a 12 [2].

O z-escore de cada participante foi obtido considerando-se os valores de desvio padrão de reprodutibilidade regulamentados pela União Europeia [3], de 10% para somatório e de 20% para congêneres individuais. Tais resultados encontram-se representados, na Tabela 5, sendo que representações gráficas encontram-se ilustradas para os congêneres individuais nas Figuras 3 a 11.

One result was identified as outlier for the congener 1,2,3,7,8-PeCDF from laboratory L011. The two results indicated as outliers for the total PCDD/F-TEQ were from laboratories 001 and 010, which employed bioassay. For the analyte 2,3,4,6,7,8-HxCDF, which was quantified by six laboratories, there was detection

of three outliers, corresponding to a number of data dispersed above the limit of 20-22% recommended [5] [6], above which it becomes necessary to question the premise of distribution of the obtained data or the their quality. Then, this analyte was removed and the analysis of results was continued without this analyte, resulting in eight individual congeners and the total PCDD/F-TEQ.

Next, an estimate of the intensity of the distribution of the results was made using kernels with a h amplitude of  $0.75 \sigma$ , which resulted in a unimodal and apparently symmetric intensity estimator in all cases. Thereby, the average of the participants could be adopted as designated value, due to the number of participants be below 12 [2].

The z-score of each participant was obtained considering the values of standard deviation of reproducibility regulated by the European Union [3] [7], from 10% for sum and 20% for individual congener. These results are represented with two significant figures in **Table 5**, are shown for the individual congeners in **Figures 3 to 11**.

**Tabela 5.** Z-escore calculado para os participantes, empregando o desvio padrão de reprodutibilidade estimado pelo valor regulamentado pela União Europeia.

Número do laboratório Laboratory number	Parâmetro Analítico / Analytical Parameter					
	2,3,7,8-TCDF		2,3,7,8-TCDD		1,2,3,7,8-PeCDF	
	Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value	
	6,59 pg/g		0,64 pg/g		2,267 pg/g	
	Resultado (pg/g)	z-escore	Resultado (pg/g)	z-escore	Resultado (pg/g)	z-escore
LAB001	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB002	5,3920	-0,91	0,5630	-0,60	2,0770	-0,42
LAB003	7,2960	0,54	0,7250	0,67	2,4500	0,40
LAB004	4,3570	-1,69	0,4950	-1,13	1,8520	-0,92
LAB005	7,5249	0,71	0,7532	0,88	2,66548	0,88
LAB006	5,4750	-0,85	0,5855	-0,42	2,0500	-0,48
LAB007	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB008	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB009	7,0080	0,32	0,4440	-1,53	2,1550	-0,25
LAB010	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB011	8,9450	1,79	0,8500	1,64	3,5850	2,91
LAB012	6,7200	0,10	0,7000	0,47	2,6200	0,78

Número do laboratório Laboratory number	Parâmetro Analítico / Analytical Parameter					
	2,3,4,7,8-PeCDF		1,2,3,7,8-PeCDD		1,2,3,4,7,8-HxCDF	
	Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value	
	3,322 pg/g		0,739 pg/g		1,049 pg/g	
	Resultado (pg/g)	z-escore	Resultado (pg/g)	z-escore	Resultado (pg/g)	z-escore
LAB001	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB002	2,7580	-0,85	0,5985	-0,95	0,6780	-1,77
LAB003	3,2670	-0,08	0,8870	1,00	1,3410	1,39
LAB004	2,5410	-1,18	0,5110	-1,54	1,0860	0,18
LAB005	3,5910	0,41	0,8121	0,49	0,9465	-0,49
LAB006	2,6474	-0,98	0,5465	-1,30	0,6420	-1,94
LAB007	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB008	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB009	3,9060	0,88	0,9250	1,26	1,1830	0,64
LAB010	NT	NT	NT	NT	NT	NA
LAB011	4,6100	1,94	0,9700	1,56	1,2150	0,79
LAB012	3,2300	-0,14	0,6600	-0,53	1,3000	1,20

**Tabela 5 continuação.** Z-escore calculado para os participantes, empregando o desvio padrão de reprodutibilidade estimado pelo valor regulamentado pela União Europeia.

Número do laboratório Laboratory number	Parâmetro Analítico / Analytical Parameter					
	1,2,3,6,7,8-HxCDF		2,3,4,6,7,8-HxCDF		1,2,3,4,7,8-HxCDD	
	Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value	
	0,868 pg/g		- pg/g		- pg/g	
	Resultado (pg/g)	z-escore	Resultado (pg/g)	z-escore	Resultado (pg/g)	z-escore
LAB001	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB002	0,7360	-0,76	0,06	NA	0,18	NA
LAB003	0,8200	-0,28	0,096	NA	0,425	NA
LAB004	0,5040	-2,09	0,534	NA	0,187	NA
LAB005	0,9661	0,56	0,7825	NA	0,1998	NA
LAB006	0,7925	-0,43	0,065	NA	0,1305	NA
LAB007	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB008	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB009	0,9820	0,66	0,683	NA	0,227	NA
LAB010	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB011	1,2650	2,28	0,125	NA	0,225	NA
LAB012	0,8800	0,07	<0,17	NA	0,18	NA

Número do laboratório Laboratory number	Parâmetro Analítico / Analytical Parameter					
	1,2,3,6,7,8-HxCDD		1,2,3,7,8,9-HxCDD		1,2,3,7,8,9-HxCDF	
	Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value	
	0,294 pg/g		- pg/g		- pg/g	
	Resultado (pg/g)	z-escore <sub>EU</sub>	Resultado (pg/g)	z-escore <sub>UE</sub>	Resultado (pg/g)	z-escore <sub>EU</sub>
LAB001	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB002	0,2170	-1,31	0,0765	NA	0,498	NA
LAB003	0,4250	2,22	0,362	NA	0,583	NA
LAB004	0,1960	-1,66	0,188	NA	0,100	NA
LAB005	0,3320	0,64	0,1146	NA	0,0868	NA
LAB006	0,1925	-1,71	0,087	NA	0,0605	NA
LAB007	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB008	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB009	0,4170	2,08	0,157	NA	0,474	NA
LAB010	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB011	0,3050	0,19	0,125	NA	0,82	NA
LAB012	0,2700	-0,41	<0,17	NA	0,54	NA

**Tabela 5 continuação.** Z-escore calculado para os participantes, empregando o desvio padrão de reprodutibilidade estimado pelo valor regulamentado pela União Europeia.

Número do laboratório Laboratory number	Parâmetro Analítico / Analytical Parameter					
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	
	Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value	
	- pg/g		- pg/g		- pg/g	
	Resultado (pg/g)	z-escore <sub>EU</sub>	Resultado (pg/g)	z-escore <sub>EU</sub>	Resultado (pg/g)	z-escore <sub>EU</sub>
LAB001	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB002	0,1295	NA	0,145	NA	0	NA
LAB003	0,2	NA	0,604	NA	0,037	NA
LAB004	0,176	NA	0,182	NA	0,049	NA
LAB005	0,2114	NA	0,2258	NA	0,04692	NA
LAB006	0,1975	NA	ND	NA	0,0605	NA
LAB007	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB008	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB009	0,327	NA	0,115	NA	<0,2	NA
LAB010	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB011	0,245	NA	0,195	NA	ND	NA
LAB012	<0,42	NA	<0,42	NA	<0,42	NA

Número do laboratório Laboratory number	Parâmetro Analítico / Analytical Parameter					
	OCDD		OCDF		Σ Total PCDD/F (TEQ)	
	Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value		Valor designado Assigned value	
	- pg/g		- pg/g		3,497 pgTEQ-OMS/g	
	Resultado (pg/g)	z-escore <sub>EU</sub>	Resultado (pg/g)	z-escore <sub>EU</sub>	Resultado (pg/g)	z-escore <sub>EU</sub>
LAB001	NT	NA	NT	NA	1,4300	-5,91
LAB002	0,126	NA	0	NA	2,8380	-1,88
LAB003	0,221	NA	0,017	NA	3,8000	0,87
LAB004	0,095	NA	0,038	NA	2,5430	-2,73
LAB005	0,3728	NA	0,0396	NA	3,82	0,93
LAB006	ND	NA	0,2565	NA	2,7815	-2,04
LAB007	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB008	NT	NA	NT	NA	NT	NA
LAB009	0,41	NA	0,87	NA	3,7200	0,64
LAB010	NT	NA	NT	NA	7,4700	-11,35
LAB011	0,32	NA	ND	NA	4,6190	3,21
LAB012	<11,67	NA	<11,67	NA	3,8500	1,01

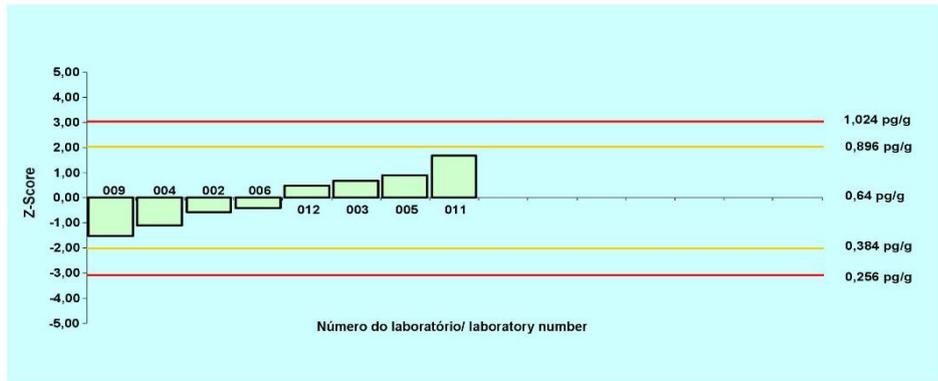


Figura 3. Z-score dos laboratórios participantes para 2,3,7,8-TCDD

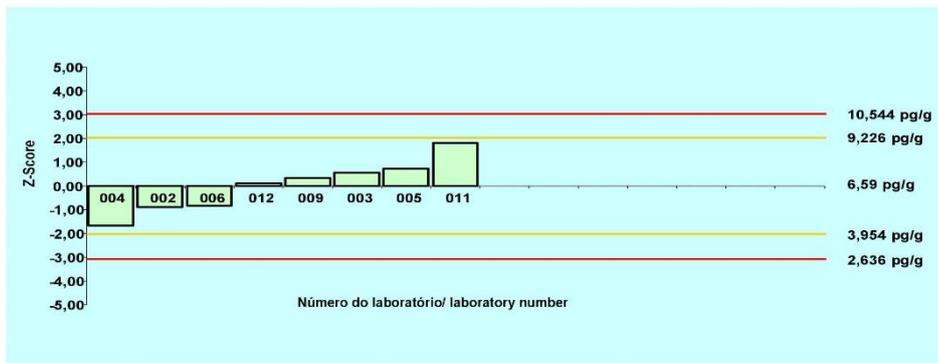


Figura 4. Z-score dos laboratórios participantes para 2,3,7,8-TCDF

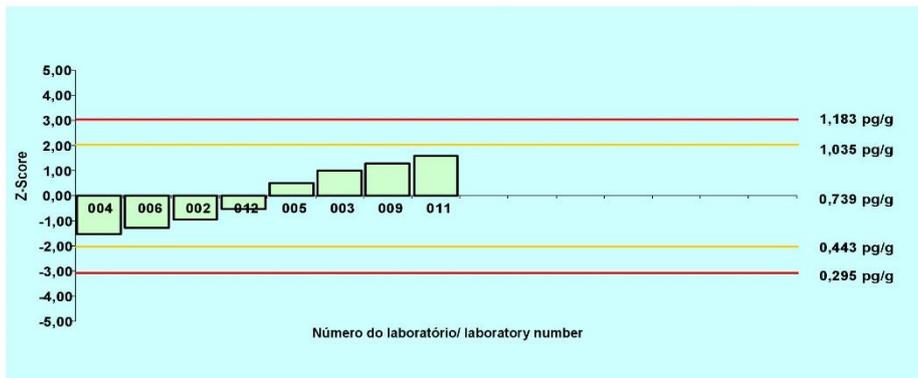


Figura 5. Z-score dos laboratórios participantes para 1,2,3,7,8-PeCDD

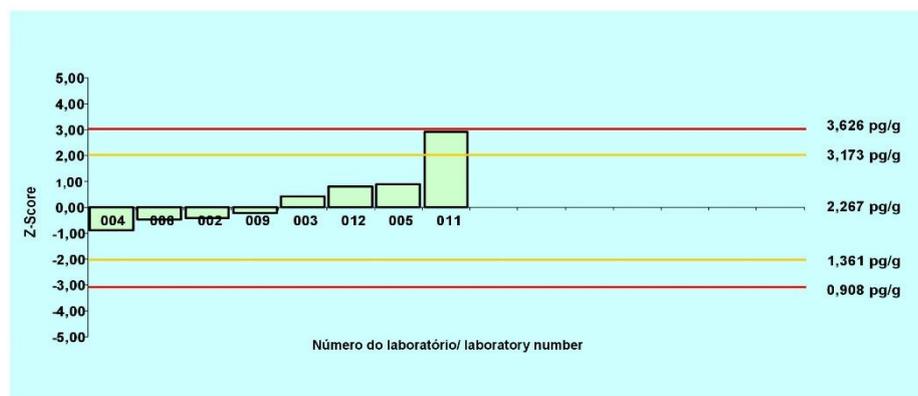


Figura 6. Z-score dos laboratórios participantes para 1,2,3,7,8-PeCDF

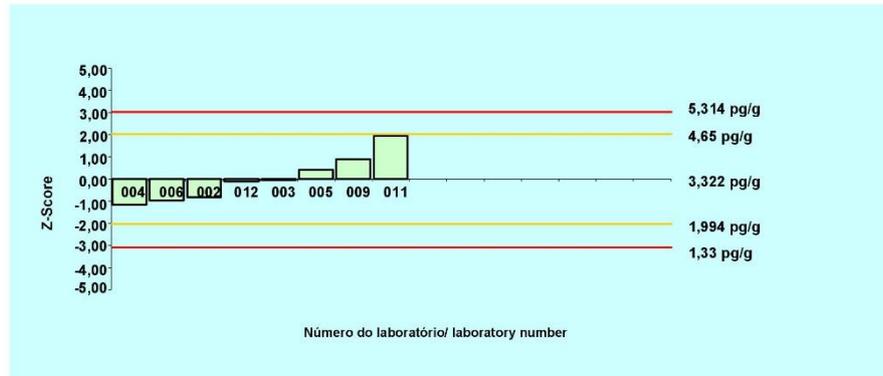


Figura 7. Z-score dos laboratórios participantes para 2,3,4,7,8-PeCDF

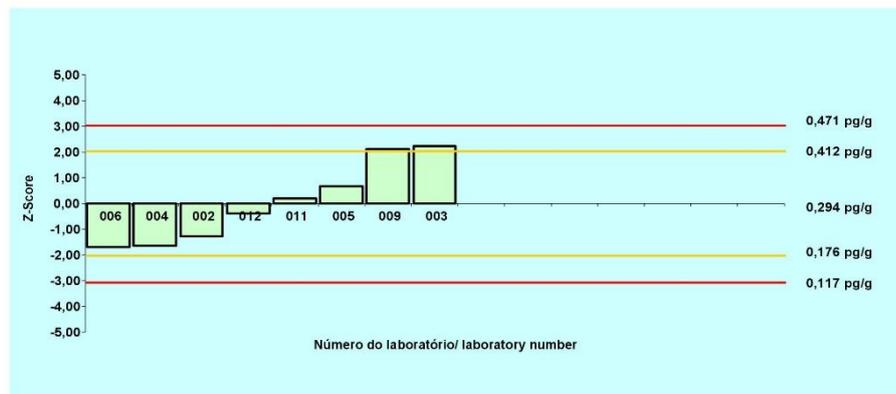


Figura 8. Z-score dos laboratórios participantes para 1,2,3,6,7,8-HxCDD

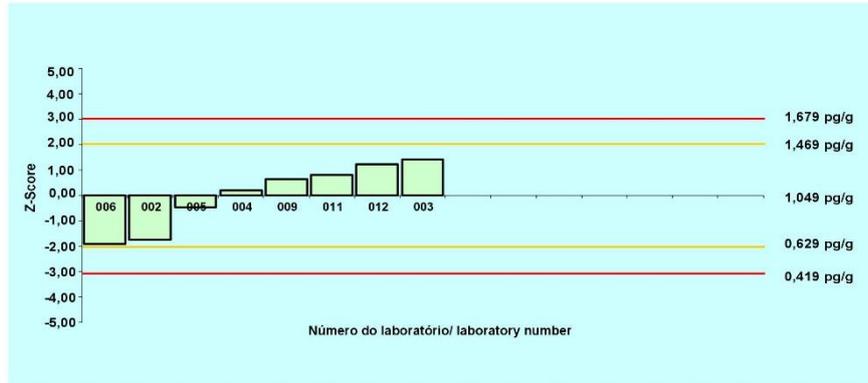


Figura 9. Z-score dos laboratórios participantes para 1,2,3,4,7,8-HxCDF

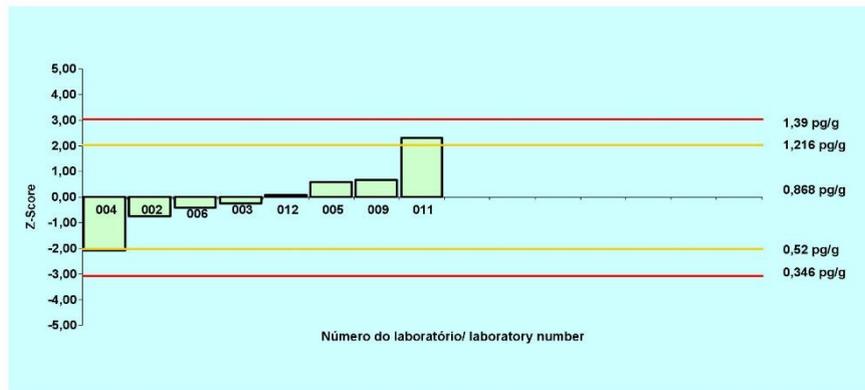


Figura 10. Z-score dos laboratórios participantes para 1,2,3,6,7,8-HxCDF



Figura 11. Z-score dos laboratórios participantes para o somatório TEQ.

Para os analitos 2,3,7,8-TCDF, 2,3,7,8-TCDD, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, todos os valores de z-escores estimados foram satisfatórios para ambos os desvios padrões considerados. Desempenho questionável foi evidenciado para um laboratório (LAB011) no caso do congênere 1,2,3,7,8-PeCDF e para dois laboratórios considerando os congêneres 1,2,3,6,7,8-HxCDD (LAB009 e LAB003) e 1,2,3,6,7,8-HxCDF (LAB004 e LAB011). Para o somatório TEQ quatro dos dez laboratórios participantes que reportaram resultado apresentaram valores de z-escore fora dos limites satisfatórios (sendo um questionável e três insatisfatórios). Ressalta-se que dois desses laboratórios empregaram a técnica de bioensaio, e mostraram tendências opostas quando os resultados foram comparados. Cumpre destacar que, os resultados de bioensaios de natureza qualitativa não são comparáveis aos resultados obtidos por métodos de espectrometria de massas quantitativos e, portanto, os primeiros foram identificados como discrepantes. No entanto, sob uma ótica quantitativa, pôde-se concluir que os bioensaios classificaram adequadamente os itens do presente EP como “NÃO CONFORME” (ou suspeita de estar não conforme) para dioxinas.

Os laboratórios identificados como LAB002, LAB005 e LAB012 obtiveram os melhores desempenhos, apresentando 100% dos resultados satisfatórios. Todos os valores de z-escore estimados para o LAB002 e LAB 006 foram valores negativos enquanto as estimativas de z-escore do LAB011 foram todas positivas, indicando uma tendência dos referidos laboratórios.

For the analytes 2,3,7,8-TCDF, 2,3,7,8-TCDD, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2, 3,4,7,8-HxCDF, all values of z-scores estimated were satisfactory for both standard deviations considered.

Questionable performance was evidenced for a laboratory (LAB011) in the case of the congener 1,2,3,7,8-PeCDF and for two laboratories considering the congeners 1,2,3,6,7,8-HxCDD (LAB009 and LAB003) and 1,2,3,6,7,8-HxCDF (LAB004 and LAB011). For the total PCDD/F-TEQ, four of the ten participating laboratories that reported results presented z-score values outside the satisfactory limits (one questionable and three unsatisfactory). It is noteworthy that two of these laboratories used the GALUX bioassay and also showed an opposite bias when results were compared. It should be noted that direct comparison from bioassay and quantitative mass spectrometry results is not possible. However, from a quantitative approach, it could be concluded that bioassays properly classified the items in this PT as "non-compliant" (or suspect to be non-compliant) for PCDD/F.

The laboratories identified as LAB002, LAB005 and LAB012 obtained the best performances, presenting 100% of the satisfactory results. All z-score values estimated for LAB002 and LAB 006 were negative values while the z-score estimates of LAB011 were all positive, indicating a tendency of their results.

## 9.0 Confidencialidade Confidentiality

A identidade dos laboratórios participantes do programa de ensaio de proficiência foi mantida confidencial. Para isto, os laboratórios receberam uma identificação unívoca, constituída por códigos alfanuméricos, de conhecimento apenas da organização coordenadora. Cada participante teve acesso apenas a seu código identificador.

Os participantes puderam optar por renunciar à confidencialidade dentro do programa para um propósito particular. Neste caso, fazia-se necessária a comunicação por escrito à organização coordenadora.

Informações de natureza coletiva tais como procedimentos adotados na execução e operacionalização do ensaio, bem como interpretações dos resultados obtidos, puderam tornar-se públicas a qualquer tempo, inclusive em trabalhos científicos, preservando-se na divulgação, a identidade do laboratório participante.

Os laboratórios oficiais e credenciados que compõem a Rede de Laboratórios Agropecuários do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estiveram sujeitos à quebra da confidencialidade em atendimento aos interesses do MAPA e seus órgãos, independente de anuência.

O uso do relatório é restrito ao MAPA e aos laboratórios participantes, não sendo permitido que ele, ou parte dele, seja utilizado pelo cliente ou por alguém por ele autorizado, com fins promocionais ou publicitários.

O LANAGRO/MG garante a autenticidade dos dados do relatório no arquivo original enviado em formato de arquivo digital com a extensão PDF.

The identity of the laboratories participating in the proficiency testing program was kept confidential. For this, the laboratories received a unique identification, consisting of alphanumeric codes, known only to the coordinating organization. Each participant had access only to their identifying code.

Participants were able to choose to waive confidentiality within the program for a particular purpose. In this case, written communication to the coordinating organization was required.

Information of a collective nature such as procedures adopted in the execution and operation of the trial, as well as interpretations of the results obtained, could be made public at any time, including scientific work, preserving the identity of the participating laboratory.

The official and accredited laboratories that compose the Network of Laboratórios Agropecuários do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) were subject to breach of confidentiality in the interests of MAPA and its organs, regardless of consent.

The use of the report is restricted to MAPA and the participating laboratories, and it is not permitted that it or any part thereof be used by the client or by someone authorized by him for promotional or advertising purposes.

LANAGRO / MG guarantees the authenticity of the report data in the original file sent in digital file format with the PDF extension.

## 10. Referências bibliográficas Bibliography

1. Augusti DV, Magalhães EJ, Nunes CM, dos Santos EV, Prates RGD, Pissinatti R. Anal. Methods, v. 6, p. 1963–1969, 2014.
2. ISO 13528, Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons, 2015.
3. UE. UNIÃO EUROPEIA REGULAMENTO (UE) n° 589/2014. Jornal Oficial da União Europeia, 2014.
4. ISO/IEC 17043, Conformity assessment – General requirements for proficiency testing, 2010.
5. HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies. Pure Appl. Chem., v. 67, p. 331-343, 1995.
6. BURKE, S. Missing values, outliers, robust statistics & non-parametric methods. LC GC, p. 19-24, 2011.
7. Kotz A, Hadrich J, Wahl K, Malisch R. EU-RL PROFICIENCY TESTS ON DETERMINATION OF PCDD/Fs AND PCBs IN FEED AND FOOD – EVALUATION OF DATA AND SCORING OF RESULTS. Organohalogen Compounds Vol. 75, p. 743-746, 2013.

## 11. Controle de Alterações Change control

Não aplicável.

It does not apply.

Aprovado por: Nilson César Castanheira Guimarães  
Patrícia Ferreira e Silva  
Verificado por: Roseane Brandão de Brito  
Elaborado/Revisado por: Andréa Melo Garcia de Oliveira