



Julho 2007

**GUIA PARA O CONTROLE DA
QUALIDADE PARA A ANÁLISE DE
RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM
ALIMENTOS PARA OS
LABORATÓRIOS INTEGRANTES
DO PARA.**

Diretor – Presidente

Dirceu Raposo de Mello

Diretores

José Agenor Álvares da Silva

Cláudio Maierovitch Pessanha Henriques

Maria Cecília Martins Brito

Gerente-Geral de Laboratórios de Saúde Pública - GGLAS

Galdino Guttmann Bicho

Gerente Geral de Toxicologia - GGTOX

Luiz Cláudio Meirelles

Gerente de Avaliação do Risco - GAVRI/GGTOX

Ricardo Augusto Velloso

Grupo de Trabalho de suporte laboratorial do PARA

Adriano Barros Pacheco

André Luiz Oliveira da Silva

Carlos Alexandre Oliveira Gomes

Cristina Salgado Junqueira

Peter Rembischevski

Jose Nilton Carneiro de Lima

Thelma Helena Inazaki

Elaboração do documento

André Luiz Oliveira da Silva

Adriano Barros Pacheco

Carlos Alexandre Oliveira Gomes

Cristina Salgado Junqueira

Peter Rembischevski

Jose Nilton Carneiro de Lima

Thelma Helena Inazaki

Revisão

Adriano Barros Pacheco

André Luiz Oliveira da Silva

Carlos Alexandre Oliveira Gomes

Cristina Salgado Junqueira

Daniela Beatriz de Castro Gomes

Galdino Guttmann Bicho

Thelma Helena Inazaki

Vera Regina Rossi Lemes - Instituto Adolfo Lutz - SP

Tereza Atsuko Kussumi - Instituto Adolfo Lutz - SP

Viviane Emi Nakano Fukasawa - Instituto Adolfo Lutz - SP

SUMÁRIO

1	OBJETIVO	7
2	ESCOPO	7
3	REFERÊNCIAS	7
3.1	Normativas	7
3.2	Técnicas	7
4	RESPONSABILIDADE E AUTORIDADE	8
5	TERMOS, DEFINIÇÕES, SIGLAS E ABREVIACÕES	8
6	PROCEDIMENTOS PARA A GARANTIA DA QUALIDADE	8
6.1	Amostragem, transporte, processamento e armazenamento das amostras	8
6.1.1	<i>Amostragem</i>	8
6.1.2	<i>Transporte</i>	8
6.1.3	<i>Preparação das amostras e processamento prévio da amostra</i>	9
6.2	Padrões de pesticidas, soluções de calibração e outros reagentes	9
6.2.1	<i>Identidade, pureza e armazenamento de padrões.</i>	9
6.2.2	<i>Preparação e armazenamento dos padrões</i>	9
6.2.3	<i>Preparação, uso e armazenagem das soluções padrão (padrões de trabalho)</i>	10
6.2.4	<i>Testando e substituindo padrões</i>	11
6.3	Extração e concentração	11
6.3.1	<i>Condições de extração e eficiência</i>	11
6.3.2	<i>Concentração e diluição</i>	11
6.4	Contaminação e interferência	12
6.4.1	<i>Contaminação</i>	12

6.4.2	<i>Interferentes</i>	12
6.5	Calibração analítica, analitos representativos, efeitos da matriz e integração cromatográfica	13
6.5.1	<i>Requisitos gerais</i>	13
6.5.2	<i>Calibração</i>	13
6.5.3	<i>Analitos representativos</i>	14
6.5.4	<i>Efeito matriz</i>	15
6.5.5	<i>Adição padrão</i>	15
6.5.6	<i>Efeitos de misturas de pesticidas na calibração</i>	16
6.5.7	<i>Calibração de pesticidas que são misturas de isômeros</i>	16
6.5.8	<i>Calibração de produtos derivados ou de degradação</i>	16
6.5.9	<i>Integração cromatográfica</i>	16
6.6	Métodos analíticos e performance analítica	16
6.6.1	<i>Validação de métodos</i>	16
6.6.2	<i>Aceitabilidade dos métodos analíticos – validação metodológica</i>	17
6.6.2.1	<i>Métodos para a determinação de alimentos gordurosos ou desidratados</i>	19
6.6.2.2	<i>Verificação de performance</i>	20
6.7	Determinação rotineira da recuperação	20
6.7.1	<i>Aceitabilidade da performance analítica das determinações da recuperação de rotina</i>	21
6.8	Ensaio de proficiência e a análise de materiais de referência	21
6.9	Confirmação dos resultados	21
6.9.1	<i>Princípios da confirmação</i>	21
6.9.2	<i>Separação cromatográfica</i>	22

6.9.3	<i>Confirmação por Espectrometria de Massas (MS¹)</i>	22
6.9.4	<i>Confirmação por um laboratório independente</i>	24
6.10	Elaboração dos relatórios de ensaio	24
6.10.1	<i>Expressão dos resultados</i>	24
6.10.2	<i>Cálculos dos resultados</i>	25
6.10.3	<i>Arredondamento de resultados</i>	25
6.10.4	<i>Incerteza de medição</i>	26
6.10.5	<i>Interpretação dos resultados</i>	27
7	INTERPRETAÇÃO E EMISSÃO DOS RELATÓRIOS DE ENSAIOS	27
7.1	Considerações	27
7.2	Ingredientes ativos de uso não autorizado	27
7.3	Ingredientes ativos de uso autorizado para a cultura	28
8	DOCUMENTOS RELACIONADOS	28
	ANEXO 1 - commodities /amostras representativas para a validação de procedimentos analíticos para a determinação de resíduos de pesticidas.	29
	ANEXO 2 - Principais grupos de pesticidas	30
	ANEXO 3 - Grupos de multirresíduos para frutas, legumes e verduras	31
	ANEXO 4 - parâmetros que devem ser avaliados no processo de validação metodológica em diversas circunstâncias. (extraído de: guidelines on good laboratory practice in residue analysis CAC/GL 40-1993, rev.1-2003)	38

APRESENTAÇÃO

O impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana tem merecido atenção da comunidade científica, dos órgãos governamentais e da sociedade civil organizada em todo o mundo, sobretudo nos países em desenvolvimento onde o impacto à saúde tem sido mais relevante.

Estes impactos à saúde humana podem ser observados de maneiras distintas, tais como: as intoxicações agudas, provenientes em sua maioria de atividades laborais agropecuárias e industriais, homicídios, suicídios e acidentes domésticos; e as intoxicações crônicas, que majoritariamente são o resultado da exposição ocupacional e do consumo de água e alimentos contaminados por resíduos de agrotóxicos. Cabe ressaltar que diversos agravos sérios à saúde estariam correlacionados com a exposição crônica a estes agentes, entre eles teríamos: neoplasias malignas, disfunção endócrina, danos neurológicos, distúrbios no desenvolvimento e no crescimento.

Sendo assim o monitoramento da presença de agrotóxicos nos alimentos é fundamental para a preservação da saúde da população brasileira. Como resposta a essa demanda a ANVISA, representada pela GGTOX, coordena o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA).

O objetivo deste guia é normatizar os parâmetros de qualidade analítica exigidos pelo PARA e fornecer subsídios para a melhoria contínua das análises realizadas.

1 – OBJETIVO

Este documento tem como objetivo delinear os requerimentos para a garantia da qualidade das análises realizadas pelos laboratórios integrantes do PARA. Este guia descreve as exigências analíticas do controle de qualidade (CQ) para garantir a validade dos resultados obtidos no programa.

Os principais objetivos são:

- I) Certificar que falsos positivos e falsos negativos não sejam reportados;
- II) Garantir que seja obtido um grau de acurácia aceitável;
- III) Delinear parâmetros para confecção de amostras em branco e fortificadas para a garantia do controle da qualidade das análises;
- IV) Harmonizar os parâmetros de garantia da qualidade analítica entre os laboratórios integrantes do PARA;
- V) Conferir suporte para a implementação da norma ISO/IEC17025.

2 – ESCOPO

Este procedimento aplica-se a todos os laboratórios que realizam análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos, participantes do programa.

3 – REFERÊNCIAS

3.1 Normativas

- ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005
- ABNT NBR ISO/IEC 17011:2005
- ABNT ISO/TR 10013:2002
- ANVISA/ EURACHEM – Guia para a Qualidade em Química Analítica – Uma Assistência a Habilitação – Séries temáticas – Laboratório Vol 1 - 2005

3.2 Técnicas

- USDA/MAS PDP Quality assurance
- European Commission. - Directorate General for Health and Consumer Affairs. SANCO 10232 (24/March/2006).
- Holland PT, Hamilton D, Ohlin B, Skidmore, MW (1994) Effects of Storage and Processing on Pesticide Residues in Plant Products. Pure & Appl. Chem., Vol. 66, No. 2, pp. 335-356
- Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (2002/757/EC).
- Soboleva E, Ahad K, Ambrus A (2004) Applicability of some mass spectrometric criteria for the confirmation of pesticide residues, Analyst, 129, 1123-1129.
- Report of the thirty-seventh session of the Codex Committee on Pesticide Residues, The Hague, The Netherlands, 18-23 April 2005, ALINORM 05/28/24, Appendix XII. Proposed draft guidelines on estimation of uncertainty of results.
- Guia para Expressão da Incerteza de Medição, 3ª edição (Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement - ISO GUM), INMETRO, agosto de 2003.
- EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2nd edition, (<http://www.measurementuncertainty.org/mu/guide/index.html>)
- AOAC/FAO/IAEA Consultation held in Miskolc, Hungary, in 1999 (www.iaea.org/trc)
- A. Fajgelj & A. Ambrus Principles and Practices of Method Validation, Royal Society of Chemistry, 2000

4 - RESPONSABILIDADE E AUTORIDADE

Este guia deve ser seguido por todos os laboratórios integrantes do PARA.

5 – TERMOS, DEFINIÇÕES, SIGLAS E ABREVIações

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API	(Atmospheric Pressure Ionization) Ionização por pressão atmosférica
CG	Cromatografia Gasosa
CI	(Chemical ionization) Ionização química
CL	Cromatografia Líquida
DAD	(Diode Array Detector) Detector em arranjo de Diodo
ECD	(Electron Capture Detector) Detector de Captura de Elétrons
EI-MS eletrônico	(Electron impact-mass spectrometry) Espectrometria de massas de impacto eletrônico
FPD	(Flame Photometric Detector) Detector Fotométrico de Chama
GGLAS	Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública
GGTOX	Gerência Geral de Toxicologia
IEC	International Electrotechnical Commission
ISO	International Organization for Standardization
LMR	Limite máximo de resíduos
MNC	Menor nível calibrável
MS	Espectrometria de Massas
MS/MS	(Seqüencial mass detector) Detector de massas sequencial
NPD	(Nitrogen Phosphorous Detector) Detector de Nitrogênio e Fósforo
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
RSA	(repetitividade) desvio padrão relativo da análise
RSDL	(reprodutibilidade) desvio padrão relativo do resultado do laboratório
S/N	Razão sinal/ ruído
TR	Relatório Técnico

6 – PROCEDIMENTOS PARA A GARANTIA DA QUALIDADE

6.1 Amostragem, transporte, processamento e armazenamento das amostras

6.1.1 Amostragem

As amostras devem ser coletadas de acordo com o POP de coleta do PARA (POP AMOST PROC -1, POP AMOST PROC -2, POP AMOST PROC 4). O número de amostras a ser coletado é definido pela coordenação do PARA. Amostras, que por motivos de força maior, forem coletadas em desacordo com o procedimento acima citado devem ser registradas e informadas à coordenação do programa e ao laboratório executante. Cabe ao laboratório e à coordenação definir o descarte ou não da amostra.

6.1.2 Transporte

As amostras devem ser embaladas e enviadas ao laboratório de acordo com o POP de coleta do PARA (POP AMOST PROC -3). O transporte e a embalagem de amostras, que por motivos de força maior, forem coletadas em desacordo com o procedimento acima citado devem ser registrados e informados a coordenação do programa e ao laboratório executante do programa. Cabe a coordenação definir o descarte ou não da amostra.

6.1.3 Preparação das amostras e processamento prévio da amostra

Cada amostra recebida pelo laboratório deve possuir código de identificação unívoca.

- Alimentos *in natura*

A preparação, processamento e o fracionamento devem ser feitos imediatamente após o recebimento da amostra. Amostras deterioradas não devem ser analisadas.

- Alimentos enlatados, desidratados, processados ou similares.

Devem ser analisados dentro do prazo de validade. Caso ocorram análises fora dos prazos de validade, devem ser observados os mesmos procedimentos de informação à coordenação e emissão de laudos dos alimentos *in natura*.

A preparação da amostra deve estar adequada, conforme definição da commodity e de acordo com a parte a ser analisada.

O laboratório deve comprovar que os procedimentos de processamento e armazenamento não alteram significativamente a concentração de resíduos na amostra analisada. Em situações específicas onde o monitoramento de resíduos lábeis estiver sendo feito e os mesmos possam ser perdidos, as amostras poderão ser processadas (trituras) congeladas (Análises de resíduos extremamente lábeis ou voláteis, assim como todos os procedimentos que possam acarretar perda potencial do analito, devem ser iniciados no dia do recebimento da amostra). Onde o processo de trituração conhecidamente afeta a concentração de resíduos (ex.: ditiocarbamatos ou fumigantes) e procedimentos alternativos não estejam disponíveis, a porção teste deve consistir na unidade inteira da commodity ou segmentos removidos de grandes unidades (quarteamento e exclusão dos quartos opostos).

Se uma porção analítica não for representativa, porções replicadas devem ser analisadas para garantir um resultado mais preciso.

6.2 Padrões de pesticidas, soluções de calibração e outros reagentes.

6.2.1 Identidade, pureza e armazenamento de padrões.

Padrões de referência e padrões internos devem ser de conhecida pureza e cada um deve ser univocamente identificado. As datas de recebimento e abertura dos frascos devem ser registradas. Os padrões devem estar armazenados em baixas temperaturas (entre -10 °C e -18 °C) na ausência de luz e umidade, visando reduzir as taxas de degradação. Sob tais circunstâncias a data de validade do fornecedor, que é baseada frequentemente em condições de armazenamento menos estritas, pode ser prorrogada por um período de até 10 anos, de acordo com cada padrão. O padrão puro pode ser retido a fim de se comprovar que sua pureza e taxa de degradação após o vencimento da data de validade são aceitáveis. A identidade de padrões fora da rotina do laboratório (i.e., nunca antes analisados) deve ser confirmada.

6.2.2 Preparação e armazenamento dos padrões

As soluções estoque de padrões analíticos e internos devem ter a identidade, massa (ou volume, para componentes altamente voláteis) do padrão puro utilizado, assim como a identidade e a quantidade do solvente (ou outro diluente) devem ser devidamente registrados. O solvente

deverá ser adequado ao analito (boa solubilidade, sem reações, de preferência de baixa volatilidade) e ao método de análise. Devem ser adotados procedimentos para evitar a interferência da umidade durante o equilíbrio térmico da temperatura do padrão analítico puro e a temperatura ambiente.

Somente quantidades maiores que 10 mg de padrão puro de pesticida podem ser pesadas usando balanças calibradas de pelo menos cinco casas decimais. A temperatura da sala da balança deverá ser a mesma na qual esta foi calibrada. A preparação da solução padrão deve ser baseada em sua massa. Analitos líquidos e voláteis devem ser dispensados, por peso ou volume (se a densidade for conhecida), diretamente no solvente. Analitos gasosos (fumigantes) devem ser dispensados por borbulhamento no solvente e a pesagem deverá ocorrer a partir da massa transferida ao solvente, ou pela preparação de diluições gasosas.

As soluções estoque de padrões devem ser devidamente rotuladas. O rótulo deve conter a identificação do padrão, lote do padrão puro, fabricante e data de validade. Estas soluções deverão ser armazenadas a baixa temperatura (entre -10 °C e -18 °C) em compartimento que seja protegido da luz. Os frascos destas soluções devem impedir a perda de solvente e a entrada de água. A literatura tem demonstrado que soluções estoque de padrões, em frascos de vidros bem vedados, para a grande maioria dos pesticidas dissolvidos em tolueno e acetona são estáveis por pelo menos cinco anos quando armazenados em freezer.

Soluções estoque novas devem ser preparadas quando:

- As soluções padrão anteriormente preparadas não forem mais confiáveis (não necessariamente quando o prazo de validade estiver expirado);
- For a primeira vez que o laboratório avalia o agrotóxico;
- For suspensão (ex.: alguns ditiocarbamatos) ou solução de pesticidas fumigantes altamente voláteis (diluição gasosa).

A precisão da solução deve ser comparada com uma segunda solução feita de maneira independente e simultânea.

6.2.3 Preparação, uso e armazenagem das soluções padrão (padrões de trabalho)

Quando do preparo dos padrões de trabalho, o processo deve ser devidamente registrado, identificando seus componentes, inclusive soluto(s) e solvente(s), informando suas respectivas quantidades. O solvente deverá ser adequado ao analito (boa solubilidade, sem reações, de preferência de baixa volatilidade) e ao método. Os padrões de trabalho devem ser devidamente rotulados, armazenados a baixa temperatura (entre -10 °C e -18 °C) e em frascos que impossibilitem qualquer perda de solvente e/ou entrada de água. A área de fechamento dos septos é particularmente crítica em relação à perda de solvente e conseqüentemente torna-se uma possível fonte de contaminação. Caso as soluções sejam armazenadas, os septos devem ser substituídos no menor prazo possível após serem furados. Durante a fase de equilíbrio entre a temperatura do padrão de trabalho e a temperatura ambiente, as soluções deverão ser agitadas novamente e deve-se verificar se nenhum analito permaneceu não dissolvido, especialmente onde a solubilidade do agrotóxico em baixas temperaturas for limitada.

No desenvolvimento de novos métodos analíticos, validação ou para novos analitos averiguados pelo laboratório, a precisão do método deverá ser demonstrada. Caso as técnicas empregadas levem a degradação do analito durante a extração, *clean-up* ou separação, e gerem subprodutos que sejam facilmente encontrados em amostras não contaminadas, os resultados positivos devem ser confirmados utilizando-se técnicas alternativas adequadas.

6.2.4 Testando e substituindo padrões

Na aquisição, substituição ou quando do vencimento da validade do padrão, sua pureza deve ser verificada.

- Soluções padrão estoque e de trabalho armazenadas

Devem ser comparadas com soluções recém preparadas, averiguando-se a resposta dos detectores obtida a partir de diluições apropriadas de padrões individuais ou misturas destes. Diferenças inexplicáveis na concentração aparente entre padrões antigos e novos devem ser investigadas.

- Padrões "puros"

A pureza de um padrão "puro" antigo pode ser averiguada comparando-se as respostas dos detectores, a partir de soluções estoque recém preparadas, com o padrão "puro" vencido e um padrão "puro" que ainda esteja dentro de sua data de validade. Diferenças significativas sem causa aparente na concentração entre padrões antigos e novos devem ser investigadas.

As médias de pelo menos cinco (5) replicatas de cada uma das soluções (previamente armazenadas ou vencidas X recém preparadas ou dentro do prazo de validade) não devem possuir diferença maior que 5%². A média das soluções previamente armazenadas deve ser tomada como o valor de referência (100%). No caso de analitos problemáticos, o valor de diferença entre médias pode ser de 10%. O uso de padrões internos pode reduzir o número de injeções necessárias para se alcançar o valor de 5% (ou 10% no caso de analitos problemáticos). Caso a resposta do padrão antigo possuir diferença maior que 5% (ou 10% no caso dos analitos problemáticos), estes devem ser substituídos e as condições de temperatura e armazenagem (incluindo-se aí também o tempo) devem ser ajustados.

NOTA: É altamente recomendado que os laboratórios do programa realizem intercâmbios de padrões "puros", soluções padrão estoque e de trabalho, a fim de se reduzirem os custos de averiguação de conformidade destes padrões.

6.3 Extração e concentração

6.3.1 Condições de extração e eficiência

As porções de amostras devem ser totalmente desintegradas durante a extração, a fim de se maximizar a eficiência da extração, excetuando os casos onde sabidamente isto não é necessário ou inapropriado (ex: determinação de fumigantes ou determinação de resíduos presentes em superfícies). Caso afetem a eficiência da extração, estabilidade do analito ou volume do solvente, parâmetros como temperatura, pH, entre outros devem ser estritamente controlados. A interferência ou não destes fatores deve ser devidamente registrada e comprovada.

6.3.2 Concentração e diluição

Durante o processo de extração, a etapa de evaporação do solvente é particularmente sensível, já que alguns analitos (principalmente aqueles em quantidade traço) podem ser perdidos por arraste. Um volume pequeno de solvente com alto ponto de ebulição deve ser utilizado como "guardião" e a temperatura de evaporação deve ser a mais baixa possível. A geração de bolhas nas paredes dos tubos, borbulhamento vigoroso dos extratos e a dispersão de gotas devem ser

² Alternativamente, pode ser usado o test-t e as médias não devem possuir diferença significativa em um nível de significância de 5%.

evitadas. O uso de uma corrente de nitrogênio seco ou evaporação a vácuo é preferível ao uso de uma corrente de ar, já que esta pode carrear contaminantes, oxidar mais facilmente componentes da amostra ou introduzir água no sistema.

Em metodologias em que os extratos são diluídos a um volume fixo, frascos calibrados de pelo menos 1 ml devem ser utilizados e devem ser tomadas medidas que impeçam posterior evaporação. Alternativamente, um padrão interno pode ser usado, especialmente no caso de pequenos volumes.

A estabilidade do analito nos extratos deve ser investigada e comprovada durante a validação do método. O armazenamento dos extratos em geladeira ou freezer irá minimizar a degradação, entretanto as perdas potenciais decorrentes das altas temperaturas do injetor automático devem ser levadas em consideração.

6.4 Contaminação e interferência

6.4.1 Contaminação

As amostras devem ser devidamente separadas entre si e de fontes potenciais de contaminação durante o transporte até o laboratório e no armazenamento. Esta manobra é particularmente importante para resíduos de superfície, em pó ou voláteis. As amostras que sabidamente, contenham resíduos de natureza acima relacionada, devem ser duplamente embaladas em sacos de polietileno ou nylon (além dos outros passos para embalagem e transporte), transportadas e processadas separadamente.

O controle de pestes no laboratório e em suas proximidades deve somente fazer uso de agrotóxicos que não sejam de nenhuma forma de uso agrícola.

Toda vidraria deve ser cuidadosamente lavada, e quando for praticável, *set ups* de vidraria individualizados para análises particularmente críticas devem ser alocadas, a fim de se evitar contaminação cruzada. Deve-se evitar o uso de vidraria rachada ou arranhada. Os solventes utilizados devem ser verificados a fim de se garantir que os mesmos não estejam contaminados pelo analito.

Quando um padrão interno é utilizado, contaminação não intencional dos extratos ou das soluções analíticas com o padrão interno, ou vice versa, deve ser evitada.

No caso de analitos que ocorrem naturalmente, ou que são produzidos a partir da amostra (ex: brometos inorgânicos em praticamente todos os alimentos; enxofre no solo; ou dissulfeto de carbono produzido pela *Cruciferaeae*), níveis muito baixos de resíduos de pesticidas não podem ser devidamente diferenciados dos níveis naturais destes compostos. A ocorrência natural de analitos deve ser levada em conta durante a interpretação destes resultados. Determinados artigos de borracha podem conter resíduos de ditiocarbamatos, etiluréia ou difenilamina, logo este material deve ser evitado em processos críticos na análise de resíduos de agrotóxicos.

6.4.2 Interferentes

Equipamentos, frascos, recipientes, solventes (incluindo a água), reagentes, filtros, etc., devem ser constantemente averiguados, através de testes. Uma vez que são possíveis fontes de interferência. Artigos de borracha e plástico, polidores e lubrificantes são fontes freqüentes de interferência. O selamento dos vials deve ser feito com PTFE (Politetrafluoroetileno, mais conhecido como teflon). Os extratos da amostra devem ser mantidos sempre na posição correta (em pé) a fim de impedir o contato destes com os selos dos vials. Os selos dos vials devem ser

imediatamente substituídos após serem furados durante a injeção da amostra no equipamento, caso seja necessário uma re-análise. Deve ser feita análise em branco do procedimento completo, para verificar possíveis interferentes, sempre que um novo lote ou nova marca de solvente e reagente for utilizada.

A interferência de constituintes naturais das amostras é freqüente, podendo ser peculiar ao sistema de determinação utilizado, sendo de ocorrência e intensidade variáveis. Caso o interferente tenha um pico que sobreponha o do encontrado para o analito, um diferente método de clean up ou determinação poderá ser necessário. A interferência na forma de supressão ou no aumento da resposta do sistema de detecção é tratada na tabela 1. Caso seja impraticável eliminar a interferência ou compensá-la pela calibração (utilizando-se a matriz), a acurácia (bias) e a precisão da análise devem estar de acordo com os critérios estabelecidos no item 6.6.2 Aceitabilidade dos métodos analíticos – validação metodológica.

6.5 Calibração analítica, analitos representativos, efeitos da matriz e integração cromatográfica

6.5.1 Requisitos gerais

Uma calibração correta depende da identificação exata do analito (veja item 6.9 - Confirmação dos resultados). A calibração suporte³ ("bracketing calibration") deve ser usada, a menos que tenha se demonstrado que o sistema de determinação não apresente variação significativa em resposta absoluta (padronização externa) ou relativa (padronização interna). As respostas utilizadas para quantificar os resíduos devem estar dentro da faixa de trabalho do detector.

O dimensionamento dos grupos (de concentração dos padrões) para a determinação deve estar ajustados para que em uma única injeção dos padrões da calibração suporte não ocorram variações >20% quando 2 X MNC⁴ ou >30% quando 1-2 X MNC (caso o MNC seja próximo ao limite de quantificação). Caso a variação exceda estes valores, a repetição das análises não é necessária onde as amostras certamente não contêm o analito, desde que a resposta do MNC seja mensurável.

Extratos que contenham altos níveis de resíduos devem ser diluídos até que os níveis estejam adequados a faixa de trabalho do equipamento, entretanto, onde as soluções padrão devem ser feitas juntamente com a matriz, a concentração do extrato da matriz deve ser ajustada.

6.5.2 Calibração

Resíduos que estejam abaixo do MNC são considerados não calibrados, e devem ser relatados como <MNC, sendo a resposta evidente ou não. Caso seja desejável (ou necessário) relatar valores de resíduos abaixo do MNC original, as determinações devem ser repetidas com um MNC menor. Se a relação sinal - ruído produzido pelo MNC de menor concentração é inadequada (menor que 5:1), um nível mais alto de MNC deve ser adotado. Um ponto de calibração, por exemplo, duas vezes maior que o MNC de menor nível, fornece um valor MNC alternativo o MNC menor anteriormente previsto não seja mensurável. Os métodos de validação analítica devem incluir as taxas de recuperação no MNC proposto.

³ Uma calibração convencional avalia um ou mais padrões e logo após, as amostras são analisadas. A calibração suporte avalia um ou mais padrões antes e depois das análises das amostras, então os resultados são avaliados utilizando-se todas as avaliações dos padrões. Isto permite o processamento de todas as amostras utilizando-se fatores consistentes de resposta.

⁴ Menor nível calibrável – Menor concentração (ou massa) de analito que pode ser calibrado com sucesso, através da análise de um grupo de amostras.

A calibração pela interpolação entre dois níveis é aceitável, desde que a diferença entre estes pontos não seja maior que um fator de 4, O maior valor utilizado neste procedimento não deve ser maior que 120% (110% nos casos em o LMR está próximo ou foi excedido) do menos valor onde a média destes, derivados das determinações das replicatas em cada nível indique linearidade aceitável.

Onde 3 ou mais níveis são utilizados, uma função da calibração apropriada deve ser calculada e usada entre o menor e maior valores calibrados. A curva de calibração não deve ser forçada (via software) a passar pela origem do gráfico. O gráfico da função da calibração deve ser confeccionado e inspecionado visualmente, evitando-se a confiança cega nos coeficientes de correlação, para assegurar que o gráfico é adequado à região de interesse para a detecção destes resíduos. Caso pontos individuais de concentração tenham um desvio de $\pm 20\%$ ($\pm 10\%$ nos casos onde o LMR esteja próximo ou excedido) da curva de calibração, uma função de calibração alternativa deve ser utilizada.

Uma calibração em nível um único nível pode fornecer resultados mais exatos do que uma calibração em diversos níveis de concentração, caso a resposta do detector seja variável com o tempo. Quando uma calibração de nível único de concentração é aplicada, a resposta da amostra deve estar dentro de um limite de $\pm 10\%$ da resposta do padrão, no caso do LMR for excedido. Quando o LMR não for excedido, a resposta deve estar dentro de um limite de $\pm 50\%$. A menos que uma extrapolação adicional seja suportada pela evidência de uma resposta linear aceitável. Onde é adicionado o analito para a determinação da recuperação em uma concentração correspondente ao MNC, valores de recuperação $<100\%$ devem ser calculados utilizando-se de um único ponto de calibração com valor de concentração igual ao MNC. Este cálculo em particular tem a intenção somente de indicar a performance analítica obtida em MNC e não implica que resíduos $<MNC$ devem ser determinados desta maneira.

6.5.3 Analitos representativos

O sistema de determinação deve ser calibrado com analitos representativos para cada grupo de análises. A frequência mínima de calibração dos analitos é dada na tabela 1

Tabela 1 – Frequência mínima de calibração e de recuperação

	Analitos representativos	Outros analitos
Frequência Mínima de Calibração	-A cada grupo de amostras. - Pelo menos um nível deve corresponder ao limite de determinação.	- Anual, entretanto, recomenda-se realização semestral*. - Pelo menos um nível deve corresponder ao limite de determinação.
Frequência Mínima de recuperação (Ver item 6.7)	-A cada grupo de amostras.	- Cada analito ao mesmo tempo seguindo a temporalidade proposta para calibração - Pelo menos um nível deve corresponder ao limite de determinação.

* Os requerimentos mínimos são: (i) no início e no final do programado das coletas para o ano corrente; (ii) quando o método sofre alterações significativas.

A confiança excessiva nos analitos representativos, sem que estes sejam devidamente averiguados, está associada com o aumento do risco da obtenção de resultados incorretos,

especialmente os falsos negativos. Estes devem ser escolhidos cuidadosamente, para garantir que os parâmetros obtidos com estes analitos, possam evidenciar a adequação dos outros analitos. A escolha deve basear-se nas características físico-químicas dos analitos, o nos parâmetros abaixo:

- (i) Analitos que tenham grande probabilidade de serem detectados nas amostras analisadas;
- (ii) Analitos que tenham resposta muito variável e/ou baixa recuperação.

Quando um analito que não seja considerado representativo é detectado na amostra, o resultado deve ser considerado uma tentativa até a sua calibração. Quando o resultado de uma varredura analítica indica que um LMR pode ter sido excedido, ou ter sido detectado um pesticida não autorizado, a amostra deve ser re-analisada e acompanhada de evidências de recuperação aceitável do analito detectado.

Caso o programa de calibração e recuperação (tabela 1) dos analitos representativos produzir resultados inaceitáveis em sua 1ª tentativa, todos os resultados obtidos após programas de recuperação e calibração prévias devem ser tratados como potencialmente errados.

6.5.4 Efeito matriz

Os possíveis efeitos da matriz no resultado da análise devem ser avaliados durante o processo de validação. Estes efeitos são notoriamente variáveis em sua ocorrência e intensidade, entretanto, algumas técnicas são particularmente susceptíveis a este. Caso a as técnicas utilizadas não sejam intrinsecamente livres destes efeitos, a calibração utilizando-se de uma matriz "limpa" de resíduos deverá ser feita rotineiramente, a menos que uma abordagem alternativa demonstre ter acurácia equivalente ou superior. Extratos (ou amostras, conforme o caso). A melhor maneira de averiguar o efeito matriz é a calibração por adição padrão.

Um dos potenciais problemas do efeito matriz é que diferentes amostras, tipos de extratos, commodities e diferentes "concentrações" da matriz, podem apresentar efeitos desta natureza em diferentes graus de magnitude. Onde a calibração pode aceitar pequenos erros, uma matriz representativa (veja glossário) pode ser utilizada para se calibrar uma ampla gama de tipos de amostra.

Se necessário, na análise por CG, a limpeza do sistema deve ser imediatamente antes da primeira série de determinações da calibração em grupo de análises.

6.5.5 Adição padrão

A adição pode ser utilizada como abordagem alternativa em relação ao uso de calibração pareada com a matriz. Normalmente, a adição padrão envolve a adição de quantidades conhecidas de um analito para uma ou duas duplicatas de amostras imediatamente antes da extração. A diferença na resposta dos dois extratos de amostra (fortificado e não fortificado) obtidos do detector, teoricamente calibra a resposta às quantidades sabidamente conhecidas do analito adicionado e compensa-la para a recuperação. A quantidade do analito presente na amostra não fortificada é calculada por proporção simples. O efeito de matriz assim é compensado. Esta técnica presume algum conhecimento relativo a provável concentração do analito na amostra, de modo que a quantidade adicionada de analito seja similar a aquele presente na amostra. Caso a concentração do analito seja completamente desconhecida, então será necessário fortificar algumas replicatas com quantidades crescentes do analito, então uma curva de calibração poderá ser construída de maneira similar a curvas padrão tradicionais. Esta técnica ajusta automaticamente tanto a recuperação como a calibração. A adição padrão não irá solucionar as interferências cromatográficas causadas por picos de sobrepostos/não-resolvidos de compostos co-extraídos.

A adição de quantidades conhecidas de um analito em uma alíquota de um extrato da amostra, imediatamente antes da determinação final é outra forma de adição padrão, entretanto, neste caso, somente terá utilidade no processo de calibração (e não no de recuperação). Quando um método é baseado em um equipamento (ex.: CG-MS, CL-MS, etc.) a amostra fortificada normalmente é chamada de "seringa" ou "injeção" padrão, a fim de se compensar as variações de volume da injeção.

6.5.6 Efeitos de misturas de agrotóxicos na calibração

A calibração feita fazendo-se uso de misturas de soluções de analitos, devem ser verificadas durante a validação metodológica, a fim de garantir de que os picos encontrados na mistura sejam equivalentes aqueles encontrados em injeções dos analitos em separado. Caso a resposta tenha diferença significativa, ou suscite dúvidas, os resíduos devem ser quantificados utilizando-se de calibração individual (por analito) na matriz, ou preferencialmente, através da adição padrão analito (individualizada).

6.5.7 Calibração de agrotóxicos que são misturas de isômeros

Quando o padrão de calibração for uma mistura de isômeros de um analito, assume-se que a resposta do detector seja similar a estes, em uma base molar, para cada componente. Entretanto, ensaios enzimáticos, imuno ensaios e outros ensaios que possuam base biológica podem gerar erros na calibração se a razão dos padrões possuírem diferença significativa dos resíduos medidos. Um sistema alternativo de detecção poderá ser utilizado para se quantificar estes resíduos. Nos casos onde uma resposta "seletiva" do detector pode ser obtida (eficiência da captura eletrônica dos isômeros do HCH) padrões de calibração devem ser utilizados separadamente. Em situações onde estes padrões não existam, sistemas alternativos de detecção podem ser utilizados.

6.5.8 Calibração de produtos derivados ou de degradação

Quando o agrotóxico for determinado através de um produto de degradação ou derivado, as soluções de calibração devem ser preparadas a partir de um padrão "puro" do produto de degradação ou derivado, caso disponível. Padrões de agrotóxicos que sofram procedimentos para gerar derivados ou produtos de degradação somente devem ser utilizados quando esta for a única opção.

6.5.9 Integração cromatográfica

O analista deve examinar os cromatogramas e verificar a adequação da linha de base. Quando picos ou caudas interferentes estiverem presentes, uma abordagem consistente deve ser adotada a fim de garantir o posicionamento da linha de base. Tanto a altura ou a área dos picos podem ser utilizadas, deve se escolher aquele que gere resultados mais precisos e reprodutíveis.

A menos que um biosensor seja empregado, a calibração de misturas de padrões de isômeros (ou similares) pode fazer uso da soma das áreas, das alturas dos picos, ou da medida de um dos componentes. Deve se escolher aquele que gere resultados mais precisos e reprodutíveis.

6.6 Métodos analíticos e performance analítica

6.6.1 Validação de métodos

A validação metodológica deve ser conduzida de maneira a evidenciar e garantir que o método é adequado ao objetivo desejado. A validação metodológica é um requisito dos organismos de

acreditação, e deve ser subsidiada e melhorada através de processos de verificação do desempenho do método. Todas as etapas do método devem ser validadas, caso seja praticável.

Para métodos multiresíduos, matrizes representativas devem ser utilizadas. A escolha destas matrizes deve ser feita rigorosamente, baseando-se em suas similaridades biológicas e analíticas. Estas similaridades podem ser, por exemplo, conteúdos de água, açúcares, lipídios, proteínas, pH, etc. Laranjas podem ser utilizadas como uma matriz representativa de cítricos e a alface como representante dos vegetais folhosos, etc.

O método deve ser testado para se avaliar a sensibilidade, média das recuperações e precisão. A acurácia do método deve ser avaliada através dos estudos de recuperação. Um mínimo de 5 replicatas é necessário (para se verificar a precisão) tanto nos limites de determinação ou quantificação, quanto em um nível de maior concentração (recomenda-se neste caso LMR do pesticida). Onde a definição de resíduos incorpora um ou mais analitos, o método deve ser validado para todos os analitos incluídos nesta definição de resíduo. A tabela 2 lista os critérios mínimos de repetitividade e de recuperação desejados para um método quantitativo para a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

No caso de métodos analíticos que não permitam a determinação da recuperação (ex: análise direta de amostras líquidas, análise no headspace), a precisão é determinada a partir de repetidas análises de padrões de calibração. Usualmente, assume-se a bias com valor igual zero.

Tabela 2 – Critérios para métodos quantitativos

Faixa de concentração (mg/kg)	Precisão		Faixa de recuperação
	RSA _A % ⁵ (repetitividade)	RSD _L % ⁶ (reprodutibilidade)	
0,001 - 0,01	30	32	70-120
>0,01 - 0,1	20	22	70-120
>0,1 - 1	15	18	70-120
>1	10	14	70-120

6.6.2 Aceitabilidade dos métodos analíticos – validação metodológica

Um método analítico é uma série de procedimentos que vão desde a recepção da amostra até o resultado final. Validação é o processo de verificação o qual demonstra que o método utilizado é adequado ao objetivo desejado. O método pode ser desenvolvido no próprio laboratório, oriundo da literatura ou obtido de outra maneira de uma terceira parte. O método pode ser adaptado ou modificado para melhor responder aos requisitos e capacidades do laboratório e/ou a proposta ao método será usado. Tipicamente, a validação acompanha a finalização do desenvolvimento metodológico e assume que todos os itens como calibração, adequação do sistema, estabilidade do analito, etc., tenham sido estabelecidos satisfatoriamente. As medidas devem ser calibradas dentro da faixa de utilização do sistema de detecção adequado, tanto na validação quanto na utilização do método de análises. Geralmente, a validação precede a aplicação prática do método para a análise das amostras, entretanto, verificações de performance contínuas e subseqüentes são muito importantes. Os requisitos de verificação de performance devem ser baseadas nos parâmetros utilizados na validação.

O método analítico deve ter (através de sua validação) capacidade de prover uma recuperação que esteja de acordo com a tabela 2, para todos os compostos avaliados e em níveis

⁵ RSA_A - (repetitividade) desvio padrão relativo da análise, excluindo alguma contribuição devido a heterogeneidade da amostra.

⁶ RSD_L - (reprodutibilidade) desvio padrão relativo do resultado do laboratório, incluindo uma heterogeneidade sub-amostral de 10%.

apropriados. A média das recuperações em cada nível de fortificação para cada commodity representativo deve estar em uma faixa de 70 a 120 % (em certos casos, podem-se aceitar valores fora desta faixa, desde que devidamente justificados). Onde o método não permitir se alcançar estes valores, e na inexistência de métodos alternativos satisfatórios, os valores insatisfatórios de recuperação devem ser utilizados com extrema cautela. Excepcionalmente, onde a recuperação é baixa, porém, é consistente (i. e. demonstra boa precisão) e o seu fundamento seja bem estabelecido (ex: a distribuição do pesticida na partição), uma média de recuperação abaixo de 70% poderá ser aceita. Entretanto, um método mais preciso deve ser utilizado, caso praticável.

Ensaio de proficiência (ou outros testes interlaboratoriais), onde praticável, fornece uma importante ferramenta de verificação da precisão dos resultados gerados pelo método, fornece informações relativas à variação interlaboratorial dos resultados. Entretanto, ensaios de proficiência geralmente não são dirigidos a avaliar a estabilidade do analito, homogeneidade ou extractabilidade dos analitos na amostra processada.

Os dados relativos à incerteza (quando aplicáveis) devem ser incorporados na verificação de performance e não somente nos dados de validação metodológica.

Toda vez que um laboratório assume a responsabilidade de desenvolver e/ou modificar um método, os efeitos das variáveis analíticas devem ser estabelecidos, ex. utilizando-se de testes de robustez, antes da validação. Controles rigorosos devem ser utilizados em todos os aspectos do método que podem influenciar os resultados, como: tamanho da amostra; volumes da partição; variações na performance dos sistemas de clean-up utilizados; estabilidade dos reagentes ou derivados preparados; efeitos da luz, temperatura, solventes, armazenamento solventes nos analitos; efeitos dos solventes, injetores, colunas de separação, características da fase móvel (composição e fluxo), temperatura, sistema de detecção, co-extrativos, etc. no sistema de detecção. Estas características são mais importantes que a relação inequívoca qualitativa e quantitativa entre o sinal medido e o analito.

Deve-se dar preferência a métodos aplicáveis a multiresíduos e/ou multi-matrizes. O uso de analitos ou matrizes representativos são importantes na validação metodológica. Com este objetivo, as commodities devem ser suficientemente diferenciadas. Por exemplo, alguns produtos estão disponíveis em amplo espectro de variantes manufaturadas, variedades cultivadas, ou raças, etc. Geralmente, uma única variante de uma commodity em particular pode ser considerada como representativa de todas as demais. Entretanto, uma fruta ou vegetal não devem representar todas as frutas e vegetais. Onde variantes particulares da commodity possuem sabidamente diferenças na performance do método, as avaliações destas variações são necessárias. Diferenças consideráveis na exatidão e precisão do método, especialmente em uma etapa específica da determinação, podem ocorrer entre as diferentes espécies.

Onde a experiência demonstra performances similares na extração e clean-up entre commodities/ matrizes similares, uma abordagem simplificada deve ser adotada no processo de validação. Uma commodity representativa pode ser escolhida (anexo 1) para representar cada grupo de commodities que possuem propriedades em comum. No anexo 1 as commodities são agrupadas e classificadas de acordo com a classificação do Codex Alimentarius. Alguns exemplos do quanto à validação por grupos pode ser abrangente (ou não) são dados abaixo:

- Cereais – validação para grãos integrais não podem ser estendidas para farelos e pães, entretanto, a validação feita para trigo em grãos pode ser aplicada para cevada em grãos ou farinha de trigo;

- Produtos de origem animal – A validação para tecido muscular não deve ser aplicada para tecido adiposo (gordura), entretanto, a validação de gordura de galinha pode ser aplicada para gordura de bovinos.
- Frutas e vegetais – A validação da fruta inteira fresca não pode ser aplicada a produtos desidratados, entretanto, a validação para repolho pode ser aplicada para couve de Bruxelas.

Analitos representativos similares podem ser usados para a avaliação da performance de um método. Os compostos devem ser selecionados para cobrir as propriedades físicas e químicas dos analitos destinados a serem determinados pelo método. A seleção de analitos representativos deve ser baseada no escopo de análise proposto, levando-se em conta os seguintes fatores:

- (a) Os analitos representativos devem:
- (i) Possuir uma variedade grande suficiente de propriedades físico químicas para incluir os analitos representados;
 - (ii) Seja detectado regularmente nas amostras avaliadas, ou seja críticos no processo de avaliação de risco
- (b) Caso praticável, todos os analitos incluídos no processo inicial de validação devem ser utilizados nas verificações de performance regularmente e devem ser determinados simultaneamente pelo sistema de determinação utilizado.
- (c) A concentração de analitos usados para caracterizar um método deve ser selecionada para cobrir os limites aceitáveis de todo analitos previstos em todas as commodities. Sendo assim, os analitos selecionados que possuem altos e baixos limites de aceitação devem ser incluídos na análise. Conseqüentemente, os níveis de fortificação dos analitos/ commodities representativos utilizados nos testes de performance podem não necessariamente corresponder aos limites aceitáveis atuais.

Uma listagem dos principais grupos de pesticidas está presente no anexo 2. A classificação dos analitos representativos encontra-se no anexo 3.

Onde dados apropriados estejam disponíveis, pode ser desnecessária a realização de todos os testes de performance. Entretanto, toda informação necessária deve estar inclusa ou referenciada nos dados de validação. O Anexo 4 fornece uma visão geral do parâmetros que devem ser avaliados pela validação metodológica de acordo com o status do método a ser validado. Parâmetros e critérios específicos que devem ser avaliados estão listados na tabela 1. Os parâmetros avaliados devem restringir-se àqueles que sejam apropriados tanto para o método quanto ao objetivo ao qual que ele se propõe. Testes onde diferentes fatores são alterados ao mesmo tempo podem contribuir para minimizar os recursos necessários.

Métodos individuais de determinação de agrotóxicos (monoresíduos) devem ser validados completamente, podendo ser utilizado neste processo matrizes representativas.

Métodos de grupos específicos devem ser validados devem ser validados com um ou mais commodities representativos e um mínimo de 2 analitos selecionados do grupo.

Métodos multiresíduos devem ser validados valendo-se de commodities e analitos representativos.

6.6.2.1 Métodos para a determinação de alimentos gordurosos ou desidratados

Onde os resultados são expressos baseando-se no peso seco ou no conteúdo lipídico (gorduroso), o método utilizado para determinar o peso seco ou o conteúdo lipídico deve ser

consistente. Em uma situação ideal, este deve ser validado em comparação com um método amplamente reconhecido.

6.6.2.2 Verificação de performance

Os objetivos principais da verificação da performance são:

- Monitorar o desempenho do método sob as condições utilizadas;
- Levar em conta os efeitos das variações inevitáveis causadas por exemplo, pela composição das amostras, desempenho do equipamento, qualidade dos reagentes, variações ligadas ao analista e condições ambientais do laboratório;
- Demonstrar que o desempenho do método é próximo daquele estabelecido durante a validação metodológica, demonstrando que o método é estatisticamente consistente (principalmente a precisão e a incerteza) com a performance esperada para o método. Os dados obtidos durante a validação devem ser atualizados e comparados com aqueles obtidos durante a verificação de desempenho. Os resultados dos controles de qualidade interno fornecem informações essenciais para uma avaliação de longo prazo da reprodutibilidade e outras características do método incluindo os analitos e matrizes incorporados durante a extensão do método. As características básicas apropriadas que devem ser testadas estão descritas no anexo 4 (TABELA 1). Para a efetiva verificação da performance, as amostras devem ser concomitantemente analisadas com controles de qualidade apropriados (brancos e determinações de recuperação, materiais de referência, etc.). Cartas controle podem ser utilizadas para verificar tendências no desempenho do método e para assegurar que o controle estatístico é mantido.

6.7 Determinação rotineira da recuperação

Caso seja aplicável, a recuperação de todos os analitos deve ser determinada em cada grupo de análises realizadas. Caso isso resulte em um número desproporcionalmente grande de análises, os requisitos preconizados na tabela 1 devem ser seguidos. A análise de materiais de referência certificados é aceitável, apesar de raramente ser prático, isto ocorre somente no caso destes materiais conterem analitos relevantes e em níveis de concentração apropriados.

A determinação da recuperação do analito normalmente é feita a partir de fortificações que tenham uma faixa de 1 a 10 vezes o MMC, o LMR, ou algum nível de relevância especial para as análises avaliadas. O nível de fortificação deve ser trocado alternadamente ou regularmente, a fim de fornecer dados relativos à performance analítica da faixa de concentrações. Níveis de recuperação que correspondem ao MMC ou ao LMR são particularmente importantes. Nos casos onde não existe disponibilidade de amostra em branco (ex: determinação de níveis traço de brometos inorgânicos), ou quando a única amostra branco disponível contém um composto interferente em um nível (baixo) aceitável, o nível de fortificação deve ser ≥ 3 vezes o nível do interferente na amostra branco. A concentração (aparente ou não) do analito deve ser determinada a partir de porções analíticas múltiplas. Caso necessário, a recuperação deve ser corrigida pelos valores encontrados na amostra branco. Os valores do branco e das recuperações não corrigidas devem ser reportados. Estes devem ser determinados a partir da matriz usada nos experimentos de fortificação e o valor da amostra em branco não deve ser maior do que 30% do valor de MMC.

Até onde seja praticável, a recuperação de todos os componentes definidos pelo LMR devem ser determinados rotineiramente. Onde um resíduo a ser determinado é componente de um meio com múltiplos componentes (ex.: isômeros passíveis de determinação; resíduos com múltiplos produtos de degradação), a recuperação deve ser determinada ou por um componente predominante nestes resíduos ou utilizando-se aquele que possua menor taxa de recuperação.

6.7.1 Aceitabilidade da performance analítica das determinações da recuperação de rotina

Os limites aceitáveis de uma recuperação de rotina deve estar em uma faixa de 60 a 140% e deve ser ajustada valendo-se dos dados da repetitividade (validação) e da reprodutibilidade intra laboratorial. Recuperações que estejam fora desta faixa geralmente necessitam de nova avaliação do grupo de análise, entretanto, em alguns casos (devidamente justificados), esta faixa pode ser aceitável. Em casos em que esta rotina seja numericamente alta e nenhum resíduo tenha sido detectado, a re-análise não é necessária para provar a inexistência de resíduos. Recuperações elevadas e consistentes devem ser investigadas. Se uma tendência ocorre na recuperação ou resultados potencialmente inaceitáveis (acima do valor de % RSD dado na tabela 2) são obtidos, as causas devem ser rigorosamente investigadas.

Dados insatisfatórios de resíduos devem ser corroborados pela faixa de recuperação dada na tabela 2, pelo menos para as análises de confirmação. Caso a recuperação nesta faixa não seja alcançada, as sanções não devem ser necessariamente eliminadas, entretanto, esta baixa precisão deve ser informada ao solicitante da amostra.

6.8 Ensaio de proficiência e a análise de materiais de referência

O laboratório deve participar regularmente de ensaios de proficiência de provedores relevantes. Casos resultados questionáveis ou inaceitáveis sejam obtidos, as causas raiz do(s) problema(s) devem ser investigadas e, particularmente nos resultados inaceitáveis, os procedimentos devem ser retificados antes da realização de novas análises pelo laboratório.

Análises intralaboratoriais com materiais de referência devem ser regularmente analisadas a fim de conferir evidências da performance analítica. Onde praticável, intercâmbio destes materiais entre os laboratórios fornece verificação de precisão adicional e independente.

6.9 Confirmação dos resultados

6.9.1 Princípios da confirmação

Resultados negativos (resíduos abaixo do LMR) devem ser considerados confirmados no caso de em que as recuperações e os valores de MNC medidos para o grupo de análises seja aceitável. Resultados negativos de analitos representados (por inferência) baseiam-se somente em medidas indiretas de recuperação e MNC (a partir dos dados obtidos de analitos representativos), logo devem ser interpretados com cautela.

Resultados positivos (resíduos acima do LMR) geralmente necessitam de confirmação adicional. Em adição aos requerimentos listados abaixo para análise confirmatória dos resultados, a confirmação de analitos representados (i. e. aqueles que não possuem calibração e recuperação específica) deve ser apoiada por calibração e determinação da recuperação. A análise confirmatória não é obrigatória para todos os casos, esta deve ser decidida pelo laboratório, conforme o caso (obviamente seguida das devidas justificativas).

Resultados acima do LMR suspeitos ou de resíduos pouco comuns devem ser identificados por pelo menos uma técnica, ou combinação destas, disponíveis, e os parâmetros quantitativos devem ser confirmados por análises adicionais. Diferentes combinações de clean-up, derivatização, separação e técnicas de detecção podem ser usadas para subsidiar a confirmação. O uso de sistemas de detecção altamente específico, como a espectrometria de massas, é recomendado.

Detectores seletivos empregados na CG ou CL, como ECD⁷, FPD⁸, NPD⁹, DAD¹⁰ e fluorescência, possuem especificidade limitada. O uso destes, mesmo com o uso de colunas com diferentes polaridades, podem dar somente evidências limitadas da confirmação. Estas limitações podem ser aceitáveis para resíduos que freqüentemente sejam encontrados nos alimentos, especialmente, no caso de existir evidências de confirmações anteriores por técnicas mais específicas. Estas informações devem estar especificadas nos relatórios de ensaios.

6.9.2 Separação cromatográfica

Determinações de espectrometria de massas dos resíduos normalmente são utilizadas em conjugação com a técnica de separação cromatográfica para fornecer simultaneamente:

- i) Tempo de retenção;
- ii) Razão da massa/carga iônica;
- iii) Riqueza dos dados.

Para procedimentos que se utilizem de GC-MS CG-MS, a separação cromatográfica deve ser conduzida utilizando-se de colunas capilares. Para procedimentos de CL-MS a separação cromatográfica deve ser feita valendo-se de qualquer coluna de CL adequada. Em cada um dos casos, o tempo de retenção mínimo aceitável deve corresponder a pelo menos a duas vezes o tempo de esvaziamento do volume da coluna. O tempo de retenção (tempo de retenção relativo) de um analito na amostra deve ser compatível com o tempo obtido com o padrão de calibração (pode ser necessária calibração combinada com a matriz) dentro de uma janela de tempo especificada, que deve ser feita levando-se em consideração o poder resolução do sistema cromatográfico. A razão do tempo de retenção cromatográfica de um analito e um padrão interno adequado, i. e., tempo de retenção relativo do analito, deve corresponder ao encontrado na solução padrão com uma tolerância de $\pm 0,5\%$ para CG e $\pm 2,5\%$ para CL.

6.9.3 Confirmação por Espectrometria de Massas (MS¹¹)

O termo "confirmação por espectrofotometria de massas" geralmente refere-se à evidência decisiva que a amostra contém o analito, ou seja, uma prova de identidade. A determinação quantitativa deste analito somente pode ser realizada por uma segunda análise no equipamento de leitura original (ex.: Organoclorados por CG-ECD).

O espectro de referência de uma analito deve ser feito utilizando-se dos instrumentos e técnicas empregadas para as amostras rotineiras. Em casos que existam diferenças evidentes entre o espectro publicado e o gerado pelo laboratório, o ultimo deve ter comprovação de ser válido. A fim de se evitar as distorções das razões iônicas, a quantidade empregada de analito não deve sobrecarregar o detector.

Diagnósticos de cromatogramas de íons deve possuir picos (um mínimo de 3 pontos, superando a relação S/N 3:1) com tempo de retenção, formato e razão da resposta obtido de um padrão de calibração analisado no mesmo grupo. Onde cromatogramas de íons não relacionados demonstram picos com tempo de retenção e forma semelhantes ou onde o cromatograma iônico não é disponível, análises confirmatórias adicionais podem ser necessárias. Onde um cromatograma iônico demonstra evidencia de significativa interferência, este não deve ser utilizado para quantificar ou identificar resíduos.

⁷ Electron Capture Detector

⁸ Flame Photometric Detector

⁹ Nitrogen Phosphorous Detector

¹⁰ Diode Array Detector

¹¹ Espectrometria de Massa

Cuidadosa subtração do espectro de fundo (“*background spectra*”) pode ser exigida para assegurar que o espectro resultante do pico cromatográfico seja representativo. Quando a correção do espectro de fundo for aplicada, esta deve ser realizada de maneira uniforme por todo grupo de análises e devem ser claramente indicados. O espectro poderá ser uma evidência de identidade, onde os íons não relacionados ao analito em um espectro não excedam 25% do valor da intensidade do pico base do espectro de eletro-inozação, ou 10% de todos os outros métodos de ionização.

Onde íons não relatados excedam estes limites, e estes sejam derivados de espécies cromatograficamente sobrepostas, evidências adicionais devem ser exigidas. A ausência de íons não relacionados no espectro de eletro-ionização pode ser usada como evidência de identificação no caso em que o analito seja muito simples. A razão da intensidade dos principais íons devem estar de acordo com os limites estabelecidos na tabela 3. Onde um cromatograma iônico demonstra significativa interferência, este não deve ser utilizado para determinar a razão da intensidade. O íons que evidenciar a melhor razão sinal/ruído e nenhuma evidência de interferência cromatográfica significativa deve ser utilizado para os procedimentos de quantificação.

A obtenção de espectros por EI-MS¹² ou MS/MS¹³ pode dar boas evidências da identidade e quantidade do analito em muitos casos. Em outros casos, como os espectros de massas produzidos por outros processos (ex: CI¹⁴, API¹⁵) podem não ser suficientes para uma confirmação absoluta da identidade, podendo ser exigido à obtenção de evidências mais concisas. Estas evidências podem ser dadas em situações em que a razão isotópica do(s) íon(s), ou o perfil cromatográfico dos isômeros do analito seja muito característicos. Caso não seja desta maneira, a evidências podem ser obtidas através de:

- (i) um sistema de separação cromatográfica diferente;
- (ii) uma técnica de ionização diferente;
- (iii) MS/MS
- (iv) MS de média/alta resolução; ou
- (v) Induzindo fragmentação na fonte (“in-source”) na ou LC-MS CL-MS¹⁶

Onde, através da varredura de uma escala limitada de massas ou pela SIM (Secondary Ion Mass Spectrometry), o aumento da sensibilidade é essencial, o requisito geral mínimo para os dados obtidos de 2 íons são $m/z > 200$ ou para 3 íons são de $m/z > 100$, preferencialmente o íon molecular deve ser incluído. Para alguns poucos analitos estes requisitos talvez não possam ser aceitos, íons com $m/z < 100$ podem também fornecer evidências adicionais. Entretanto, íons originados de maneira ordinária podem ser de pouca serventia, como algumas moléculas com cargas positivas (cátions) ou adutos, como por exemplo o $[M+NH_4]^+$, formado no LC-MS. As razões de intensidade obtidas de íons isotópicos mais característicos (ex.: aqueles que contêm Cl ou Br) podem ser particularmente úteis. Os íons selecionados para o diagnóstico não devem ser originados exclusivamente da mesma parte da molécula mãe.

Para uma varredura completa e SIM a intensidade relativa dos íons encontrados, expressos como a percentagem da intensidade do íon ou transição mais intenso (abundantes), deve corresponder

¹² Electron impact-mass spectrometry

¹³ Seqüencial mass detector

¹⁴ Chemical ionization

¹⁵ Atmospheric Pressure Ionization

¹⁶ Cromatógrafo líquido acoplado com detector de massas

a aquela obtida com o padrão de calibração, em concentrações comparáveis e medidas nas mesmas condições. As soluções para a calibração combinada com a matriz podem ser necessárias. A tabela 3 indica as tolerâncias máximas

Tabela 3. Tolerâncias máximas permitidas para intensidades iônicas relativas usando diversas técnicas espectrométricas.

Intensidade relativa (% do pico da base)	EI-GC-MS (relativo)	CI-GC-MS, LC-MS, LC-MS ⁿ , GC-MS ⁿ (relativo)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % a 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % a 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10%	± 50 %	± 50 %

Faixas de tolerância grande podem levar mais provavelmente a um grande número de resultados falso positivos. Da mesma forma, se as faixas de tolerância forem reduzidas, o número de falsos negativos aumenta. A intensidade relativa dos íons diagnosticados e/ou pares iônico de precursores/produtos devem ser identificados pela comparação do espectro ou pela integração dos sinais únicos dos traços de massa.

Quando toda a varredura do espectro é gravada e, um único espectro de massa, um mínimo de 4 íons deve estar presente com uma intensidade relativa $\geq 10\%$ do valor do pico da base. O íon molecular deve ser incluído, caso esteja presente no espectro de referencia com uma intensidade relativa $\geq 10\%$. Pelo menos 4 íons devem estar dentro dos limites permitidos de tolerância de intensidade iônica (tabela 3). Bibliotecas eletrônicas (computador) podem ser utilizadas. Neste caso, a comparação dos dados do espectro de massa das amostras analisadas, quando comparadas com os dados da solução de calibração tem sido um fator de combinação crítico. Este fator deve ser determinado durante a validação metodológica para cada analito, Variações do espectro causadas pela matriz e pela performance do detector devem ser verificadas.

6.9.4 Confirmação por um laboratório independente

Onde for praticável, os resultados confirmatórios oriundo de outro laboratório, com conhecida capacidade analítica, fornece importante subsidio relativo à quantificação do analito. Caso diferentes técnicas de determinação são utilizadas, esses dados fornecem importantes subsídios relativos à identificação do analito.

6.10 Elaboração dos relatórios de ensaio

6.10.1 Expressão dos resultados

Os resultados devem ser expressos com o nome químico ao qual foi registrado na ANVISA. A unidade de expressão é mg/kg. O complemento do valor numérico dos resultados deve estar conforme a tabela 4. Os dados relativos aos LMR podem ser obtidos no seguinte endereço: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/index.htm>

Tabela 4 – Complemento do valor numérico dos resultados de acordo com seu status na ANVISA.

Resíduos	Limite de detecção		Limite de quantificação	LMR	
				R < LMR satisfatório	R > LMR insatisfatório
Autorizados	R < LD satisfatório		R < LQ satisfatório	R < LMR satisfatório	R > LMR insatisfatório
Não autorizados	R < LD satisfatório	R > LD insatisfatório	R < LQ insatisfatório	Não se aplica	

1 - Recomenda-se reportar os resíduos de agrotóxicos não autorizados apenas como = resíduos > LQ

6.10.2 Cálculos dos resultados

Geralmente, resultados da análise de resíduos de pesticidas não são corrigidas pelo valor de recuperação. Caso estes valores sejam corrigidos, este procedimento deve estar declarado no relatório. Nesta situação a correção deve-se basear na média de 3 recuperações preparadas em uma mesma matriz e analisada em no mesmo grupo de amostras.

Onde o resultado tem origem em uma única porção de análises (ex: no caso de resíduos que não ultrapassaram o LMR), o resultado deve ser originado da técnica de detecção considerada mais precisa. Onde os resultados são provenientes de duas ou mais técnicas equitativamente precisas, a média dos valores encontrados deve ser relatada.

Onde duas ou mais porções analíticas foram analisadas (ex: resíduos que ultrapassaram o LMR), a média aritmética dos resultados mais precisos obtidos de cada porção deve ser relatada. Onde uma boa homogeneização das amostras é conseguida, o desvio padrão relativo (RSD) do resultado do laboratório (reprodutibilidade) entre as porções testadas não pode ultrapassar 30% para resíduos significativamente encontrados acima do limite de quantificação (LQ). Em valores próximos a LQ, a variação de RSD poderá ser maior e extremo cuidado deve ser tomado na decisão se o LMR foi ultrapassado ou não.

6.10.3 Arredondamento de resultados

É essencial a manutenção da uniformidade dos resultados relatados. De maneira geral resultados $\geq 0,01$ e < 10 mg/kg devem ser arredondados para dois algarismos significativos, valores ≥ 10 mg/kg devem ser arredondados para três algarismos significativos ou para um número inteiro. A expressão dos LMR deve ser arredondada para um algarismo significativo, no caso de valores < 10 mg/kg e para dois algarismos significativos quando o LMR ≥ 10 mg/kg. Estes requisitos não necessariamente refletem a incerteza associada com os dados. Algarismos significativos adicionais podem ser registrados para fins estatísticos. Em alguns casos os procedimentos de arredondamento podem ser especificados pela ANVISA.

6.10.4 Incerteza de medição

Um dos requisitos da norma ISO/IEC 17025 é que os laboratórios determinem e disponibilizem o valor da incerteza associada aos resultados. Para isto o laboratório deve utilizar-se de dados, os quais serão aplicados para a determinação da incerteza associada, oriundos da validação/verificação metodológica, ensaios de proficiência e outros estudos interlaboratoriais e controle interno da qualidade analítica. A medida da incerteza é um indicador quantitativo da confiabilidade dos dados analíticos e descreve o resultado de uma avaliação com o propósito de determinar o intervalo dentro do qual estima-se que esteja o valor verdadeiro, geralmente associado a um nível de confiança.

Os dados da incerteza de medição devem ser aplicados cautelosamente para que se evite a falsa sensação de certeza sobre o valor verdadeiro da medição. Estimativas de incerteza típicas são baseadas em dados prévios e podem não refletir a incerteza associada à análise da amostra corrente. A incerteza típica pode ser estimada usando-se o "Guia para Expressão da Incerteza de Medição" ou o guia EURACHEM/ CITAC "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" (disponível em <http://www.measurementuncertainty.org/mu/guide/index.html>). Os valores utilizados podem ser originados na validação metodológica, da análise de materiais de referência ou de outras análises de controle interno. Reprodutibilidade pode ser utilizada como base, entretanto a contribuição de fontes adicionais de incerteza (ex: heterogeneidade da amostra para cada porção analítica [devido a diferenças intrínsecas, na preparação, processamento e sub-amostragem da amostra], eficiência da extração e diferenças nas concentrações dos padrões) também deve ser incluída. Os valores de RSD podem ser originados dos procedimentos de recuperação realizado em materiais de referências. Dados de incerteza encontrados primariamente para um analito e uma matriz, geralmente são utilizados para gerar dados para a extrapolação dos valores de incerteza para outros analitos e matrizes, contudo, esta ação deve ser tomada com extrema cautela. A incerteza tende a ser grande em valores de concentração baixos, especialmente quando próximos ao valor de LQ. Isto pode então tornar necessária o cálculo da incerteza para uma faixa de valores de concentração, caso a incerteza seja usada para uma ampla gama de resíduos.

Uma alternativa prática para a determinação da incerteza é através da utilização dos resultados obtidos em ensaios de proficiência. Os resultados dos ensaios de proficiência podem fornecer uma indicação importante sobre a contribuição da influência interlaboratorial à incerteza da medição de um laboratório individual e de uma justificativa indireta da incerteza de medição utilizada.

A análise em replicatas de uma amostra específica, concomitantemente com a determinação da recuperação, pode melhor demonstrar a exatidão do resultado de um laboratório e justificar o uso de valores de incerteza de medição refinados. Neste caso, cuidados sempre devem ser tomados em relação à influência interlaboratorial. Este dado de incerteza inclui a repetibilidade da sub amostragem e análise. Esta prática poderá ser utilizada que os resultados analíticos são extremamente importantes (ex: valores duvidosos próximos ao LMR e interesses econômicos).

Relatórios baseados no MMC eliminam a necessidade de se considerar a incerteza associada com resíduos encontrados em níveis abaixo dos abaixo do LQ.

6.10.5 Interpretação dos resultados

A avaliação de se um resíduo em uma amostra violou ou não o LMR estabelecido, somente é um problema quando o nível deste resíduo é relativamente próximo do LMR. Nestes casos a decisão deve levar em conta a opinião da ANVISA, os dados do controle de qualidade analítico. Sugerimos o estabelecimento de critérios. E os resultados das replicadas das porções teste. A possibilidade de perda de resíduo ou contaminação cruzada também deve ser levada em conta.

Considerando os resultados dos ensaios de proficiência europeus (para frutas e vegetais, utilizando métodos multiresíduos), Um valor padrão de incerteza de medição é de 50% (nível de confiança de 95%) este valor cobre as variabilidades interlaboratoriais. Recomenda-se o uso destes valores pela ANVISA e pelas Vigilâncias Sanitárias Estaduais e Municipais para a tomada de decisão. Este valor está de acordo com o descrito pelo *Codex Committee on Pesticide Residues* (CCPR 2005, ALINORM 05/28/24). Um pré-requisito para o uso do valor de incerteza expandida de 50% é que o laboratório tenha calculado a sua própria incerteza e que esta seja abaixo de 50%. Em casos que um LMR é excedido ao mesmo tempo de que a dose aguda de referência, uma incerteza expandida com um nível menor deve ser utilizado como medida de precaução.

Caso o laboratório experimente, em casos extremamente particulares, valores inaceitáveis de repetitividade e reprodutibilidade (ex: concentrações extremamente baixas dos analitos), z-scores não satisfatórios durante ensaios de proficiência, o uso de um valor de incerteza maior deve ser considerado (caso a caso).

Para resultados obtidos em métodos monoresíduos (em particular, se padrões internos isotopicamente marcados são utilizados), uma incerteza de medição expandida de menor valor pode ser usada, sendo necessária as devidas evidências de que a RSD seja <25%.

Normalmente os resultados da análise de agrotóxicos não são corrigidos pela taxa de recuperação, entretanto, este procedimento deve ser tomado quando a valor de recuperação for significativamente diferente de 100% (tipicamente <70%, com boa precisão). Neste caso a incerteza associada à recuperação deve ser levada em conta.

O resultado preferencialmente deve ser relatado junto com a incerteza expandida (U), de acordo com o exemplo que segue: como segue: $x \pm U$ (unidade), onde x é o resultado encontrado e U é a incerteza de medição expandida.

7. INTERPRETAÇÃO E EMISSÃO DOS RELATÓRIOS DE ENSAIOS

7.1 – Considerações

Os relatórios de ensaio devem conter, além das informações legalmente exigidas, informações sobre a cultura analisada, os agrotóxicos encontrados, quais destes apresentam níveis satisfatórios (i.a. autorizado para a cultura, e abaixo do LMR), quais destes não apresentam níveis satisfatórios (i.a. autorizado para a cultura, mas acima do LMR), i.a.s não autorizados para a cultura, a concentração dos mesmos, métodos utilizados, limites de detecção e quantificação (ou determinação), LMRs, data de recebimento, de realização e emissão do laudo da amostra.

Os relatórios de análise deverão ser emitidos em até 30 dias após o recebimento das amostras pelo laboratório. Caso o prazo seja ultrapassado, o laboratório deverá informar à vigilância sanitária (remetente da amostra) e à coordenação de amostragem do PARA, qual foi o motivo do atraso.

7.2 – Ingredientes ativos de uso não autorizado

Neste caso, o resultado do laudo de análise será considerado insatisfatório quando os valores encontrados forem maiores ao limite de detecção do ingrediente ativo determinado pelo laboratório.

7.3 – Ingredientes ativos de uso autorizado para a cultura

Quando forem detectados agrotóxicos de uso autorizado, o resultado do laudo de análise somente será considerado insatisfatório quando os valores encontrados ultrapassarem os Limites Máximos de Resíduos (LMR) determinados pela ANVISA.

8. DOCUMENTOS RELACIONADOS

POP AMOST PROC – 1 - Planos de Amostragem e Documentação
POP AMOST PROC – 2 - Procedimentos para Amostragem no Local
POP AMOST PROC - 3 - Acondicionamento e Expedição de Amostras
POP AMOST PROC – 4 - Cadeia de Custódia para Amostras
Fichas de envio das amostras

ATENÇÃO: Somente as versões eletrônicas e as respectivas cópias físicas aprovadas, revisadas, carimbadas com a estampa "cópia controlada" e assinadas são documentos controlados. Qualquer documentação fora destas especificações não é um documento controlado. Verifique o status da última revisão no site da GGLAS\ANVISA: <http://www.anvisa.gov.br/reblas/index.htm>

ANEXO 1 – COMMODITIES / AMOSTRAS REPRESENTATIVAS PARA A VALIDAÇÃO DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS.

GRUPO DA COMMODITY	PROPRIEDADES COMUNS	CLASSE DE PRODUTOS	ESPÉCIES REPRESENTATIVAS
Produtos vegetais			
I	Alta taxa de água e clorofila	Folhosos brassicas, Folhosos leguminosas	Alface, espinafre Brócolis, repolho, couve crespa Vagem
II	Alta taxa de água e pouca ou nenhuma taxa de clorofila	Pomos Drupas Bagas Frutas pequenas Hortaliças\Frutos Fungos	Maçã, pêra Pêssego, cereja Morango Uvas Tomate, melão, pimentão Cogumelos
III	Alta acidez	Cítricos	Laranja, limão
IV	Alta taxa de açúcar		Uva passa, tâmara
V	Alta taxa de óleo ou gordura	Sementes oleosas Castanhas	Abacate, semente de girassol Nozes, Noz pecan, pistache
V	Materiais desidratados	Cereais Cereais processados	Trigo, arroz, milho Farelo de milho, farinha de trigo
	Produtos que necessitam de análises individuais		Ex.: Alho, lúpulo, chá, especiarias, amora
Produtos de origem animal			
		Carnes	Bovina, frango
		Vísceras	Rim, fígado
		Gorduras	Gordura ou carne
		Leite	Leite bovino
		Ovos	Ovos de galináceos

ANEXO 2 –PRINCIPAIS GRUPOS DE PESTICIDAS

GRUPO	DESCRIÇÃO
1)	Ftalamidas
2)	Grupos nitrila/ciano ligados pos dupla ligação
3)	Halogenados aromáticos
4)	Conazóis e metabólitos
5)	Clorados (ciclo\ciclodienos)
6)	Carbamaldeidos
7)	Dinitroanilinas
8)	Piretróides e metabólitos
9)	Triazinas
10)	Fenil pirróis
11)	Organofosforados e metabólitos
12)	Carbamatos and metabólitos
13)	Tiocarbamatos
14)	Urea\ uracilas
15)	Heterocíclicos nitrogenados
16)	Metoxi-acetamidAs
17)	ImidazolinonAs
18)	Fenóxi ácido
19)	Oxihidrocarbonos
20)	Estrobilurinas
21)	Neonicotinils
22)	Diacildrazinas
23)	Ácido ethanosulfonico (ESA) e Ácido oxanilico (AO) e metabólitos
24)	Sulfonil uréias
25)	Ácido tetrônico

ANEXO 3 – GRUPOS DE MULTIRESÍDUOS PARA FRUTAS, LEGUMES E VERDURAS

NOME DO COMPOSTO	FORMULA MOLECULAR.	FAMÍLIA QUÍMICA	GRUPO*
1-naphthol	C ₁₀ H ₈ O	carbamate metabolite	14
1,2,4-triazole	C ₂ H ₃ N ₃	triazole metabolite	4
2,4-DB	C ₁₀ H ₁₀ Cl ₂ O ₃	phenoxy acid	20
2,4-D	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	phenoxy acid	20
2,4,5-T	C ₈ H ₅ Cl ₃ O ₃	phenoxy acid	20
3-hydroxycarbofuran	C ₁₂ H ₁₅ NO ₄	carbamate metabolite	14
5-hydroxythiabenzazole	C ₁₀ H ₈ N ₃ OS	carbamate	4
Acephate	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	phosphoramidothioic	11
Acetamiprid	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	neonicotinyls	23
Acetochlor	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	chloroacetanilide	6
Acetochlor ethanesulfonic	C ₈ H ₂₁ NO ₅ S	chloroacetanilide	25
Acid	C ₁₄ H ₁₉ NO ₄	metabolite	25
Acetochlor oxanilic acid	C ₈ H ₆ N ₂ OS ₂	chloroacetanilide	4
Acibenzolar-S-methyl	C ₁₄ H ₂₁ NO ₅ S	metabolite	3
Acifluorfen	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	thiadiazole	6
Alachlor	C ₈ H ₂₁ NO ₅ S	diphenyl ether	25
Alachlor ethanesulfonic	C ₁₄ H ₁₉ NO ₄	acetamide	25
Alachlor oxanilic acid	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	chloroacetanilide	14
Aldicarb	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	metabolite	14
Aldicarb sulfone	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	chloroacetanilide	14
Aldicarb sulfoxide	C ₁₂ H ₈ Cl ₆	metabolite	5
Aldrin	C ₁₉ H ₂₆ O ₃	carbamate	8
Allethrin	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	carbamate	9
Ametryn	C ₁₉ H ₂₃ N ₃	carbamate	2
Amitraz	C ₉ H ₅ Cl ₃ N ₄	cyclodiene	9
Anilazine	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	pyrethroid	9
Atrazine	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂	triazine	11
Azinphos methyl	C ₁₀ H ₈ O	amidine	14
Azinphos methyl O-analog	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₄ PS	oxon	11
Azoxystrobin	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	strobilurin	22
Bendiocarb	C ₁₁ H ₁₃ NO ₄	carbamate	14
Benfluralin	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	dinitroaniline	7
Benomyl	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	benzimidazole	Single
Benoxacor	C ₁₁ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	benzoxazine	6
Bensulfuron methyl	C ₁₆ H ₁₈ N ₄ O ₇ S	sulfonyl urea	26
Bensulide	C ₁₄ H ₂₄ NO ₄ PS ₃	organophosphate	11
Bentazon	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	thiadiazinone dioxide	17
BHC alpha	C ₆ H ₆ Cl ₆	hexane ring	5
BHC beta	C ₆ H ₆ Cl ₆	hexane ring	5
Bifenazate	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₃	hydrazine carboxylate	14
Bifenthrin	C ₂₃ H ₂₂ ClF ₃ O ₂	pyrethroid	8
Boscalid	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	anilide/pyridine	6
Bromacil	C ₉ H ₁₃ BrN ₂ O ₂	uracil	16
Bromoxynil	C ₇ H ₃ Br ₂ NO	phenol	20
Bromuconazole-46	C ₁₃ H ₁₂ BrCl ₂ N ₃ O	conazole	4
Bromuconazole-47	C ₁₃ H ₁₂ BrCl ₂ N ₃ O	conazole	4
Buprofezin	C ₁₆ H ₂₃ N ₃ OS	thiadiazinone	17
Butachlor	C ₁₇ H ₂₆ ClNO ₂	chloroacetanilide	6
Butylate	C ₁₁ H ₂₃ NOS	thiocarbamate	14
Cadusafos	C ₁₀ HOPS ₂	phosphorodithionate	11
Captafol	C ₁₀ H ₉ Cl ₄ NO ₂ S	phthalimide	1

Captan	$C_9H_8Cl_3NO_2S$	phthalimide	1
Carbaryl	$C_{12}H_{11}NO_2$	carbamate	14
Carbendazim	$C_9H_9N_3O_2$	benzimidazole	Single
Carbofuran	$C_{12}H_{15}NO_3$	carbamate	14
Carbophenothion	$C_{11}H_{16}ClO_2PS_3$	organophosphate	11
Carboxin	$C_{12}H_{13}NO_2S$	carboxamide	6
Carfentrazone ethyl	$C_{15}H_{14}Cl_2F_3N_3O_3$	fluorophenyl triazole	4
Chloramben	$C_7H_5Cl_2NO_2$	benzoic acid	20
Chlordane cis	$C_{10}H_6Cl_8$	cyclodiene	5
Chlordane trans	$C_{10}H_6Cl_8$	cyclodiene	5
Chlorethoxyfos	$C_6H_{11}Cl_4O_3PS$	phosphorothioate	11
Chlorfenapyr	$C_{15}H_{11}BrClF_3N_2O$	pyrrole	10
Chlorfenvinphos total	$C_{12}H_{14}Cl_3O_4P$	organophosphate	11
Chlorimuron ethyl	$C_{15}H_{15}ClN_4O_6S$	sulfonyl urea	26
Chloroneb	$C_8H_8Cl_2O_2$	chlorobenzene	3
Chlorothalonil	$C_8Cl_4N_2$	phthalimide	2
Chlorpropham	$C_{10}H_{12}ClNO_2$	carbamate	14
Chlorpyrifos	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	phosphorothionic acid	11
Chlorpyrifos methyl	$C_7H_7Cl_3NO_3PS$	phosphorothionic	11
Chlorpyrifos O-analog	$C_9H_{11}Cl_3NO_4P$	oxon	11
Clofentezine	$C_{14}H_8Cl_2N_4$	tetrazine	Single
Clomazone	$C_{12}H_{14}ClNO_2$	pyridazone	17
Clopyralid	$C_6H_3Cl_2NO_2$	pyridinecarboxylic	20
Clothianidin	$C_6H_8ClN_5O_2S$	neonicotinyl	23
Coumaphos	$C_{14}H_{16}ClO_5PS$	posphorothioate	11
Coumaphos O-analog	$C_{14}H_{16}ClO_6P$	oxon	11
Cyanazine	$C_9H_{13}ClN_6$	triazine	9
Cyazofamid	$C_{13}H_{13}ClN_4O_2S$	imidazole	4
Cycloate	$C_{11}H_{21}NOS$	thiocarbamate	15
Cyfluthrin	$C_{22}H_{18}Cl_2FNO_3$	pyrethroid	8
Cyhalothrin (lambda)	$C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$	pyrethroid	8
Cyhalothrin (lambda epimer	$C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$	pyrethroid	8
R157836)	$C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$	pyrethroid	8
Cyhalothrin total (Lcyhalothrin	$C_7H_{10}N_4O_3$	cianoacetamide	2
+ R157836	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	pyrethroid	8
epimer)	$C_{24}H_{25}NO_3$	pyrethroid	8
Cymoxanil	$C_{15}H_{18}ClN_3O$	conazole	4
Cyprodinil	$C_{14}H_{15}N_3$	anilinopyrimidine	17
Cyromazine	$C_6H_{10}N_6$	triazine	9
DCPA	$C_{10}H_6Cl_4O_4$	phthalic acid	3
DCPA mono acid	$C_9H_4Cl_4O_4$	dicarboxylic acid	20
DDD o,p'	$C_{14}H_{10}Cl_4$	bridged biphenyl	3
DDD p,p'	$C_{14}H_{10}Cl_4$	bridged biphenyl	3
DDE o,p'	$C_{14}H_8Cl_4$	bridged biphenyl	3
DDE p,p'	$C_{14}H_8Cl_4$	bridged biphenyl	3
DDT o,p'	$C_{14}H_9Cl_5$	bridged biphenyl	3
DDT p,p'	$C_{14}H_9Cl_5$	bridged biphenyl	3
DEF (Tribufos)	$C_{12}H_{27}OPS_3$	organophosphate	11
Deltamethrin	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$	pyrethroid	8
Demeton	$C_8H_{19}O_3PS_2$	phosphorothioate	11
Desethyl atrazine	$C_6H_{10}ClN_5$	triazine metabolite	9
Desethyl-desisopropyl	$C_3H_4ClN_5$	triazine metabolite	9
atrazine	$C_5H_8ClN_5$	triazine metabolite	9
Desisopropyl atrazine	$C_{16}H_{16}N_2O_4$	carbamate	14

Desmedipham	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	phosphorothioate	11
Diazinon	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₄ P	oxon	11
Diazinon O-analog	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	benzoic acid	20
Dicamba	C ₇ H ₃ Cl ₂ N	nitrile	2
Dichlobenil	C ₉ H ₈ Cl ₂ O ₃	phenoxy acid	20
Dichlorprop	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₄ P	phosphoric acid	11
Dichlorvos (DDVP)	C ₆ H ₄ Cl ₂ N ₂ O ₂	nitroaniline	7
Dicloran	C ₁₄ H ₉ Cl ₅ O	bridged biphenyl	3
Dicofol o,p'	C ₁₄ H ₉ Cl ₅ O	bridged biphenyl	3
Dicofol p,p'	C ₈ H ₁₆ NO ₅ P	organophosphate	11
Dicrotophos	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	cyclodiene	5
Dieldrin	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	triazole	4
Difenoconazole	C ₁₄ H ₉ ClF ₂ N ₂ O ₂	urea	16
Dimethenamid	C ₁₂ H ₁₈ ClNO ₂ S	acetamide	6
Dimethenamid	C ₁₂ H ₁₉ NO ₅ S ₂	acetamide metabolite	25
ethanesulfonic acid	C ₁₂ H ₁₇ NO ₄ S	acetamide metabolite	25
Dimethenamid oxanilic acid	C ₁₂ H ₁₈ ClNO ₂ S	amide	6
Dimethenamid P	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	phosphorodithionic acid	11
Dimethoate	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄	chlorophenyl morpholine	3
Dimethomorph	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₅	phenol	20
Dinoseb	C ₇ H ₁₄ N ₄ O ₃	neonicotynil	23
Dinotefuran	C ₁₆ H ₁₇ NO	acetamide	6
Diphenamid	C ₁₂ H ₁₁ N	amine	3
Diphenylamine (DPA)	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₃	phosphorodithioate	11
Disulfoton	C ₈ H ₁₉ O ₄ PS	sulfone	11
Disulfoton sulfone	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	urea	16
Diuron	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	cyclodiene	5
Endosulfan I	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	cyclodiene	5
Endosulfan II	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₄ S	cyclodiene	5
Endosulfan sulfate	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	cyclodiene	5
Endrin	C ₁₇ H ₁₃ ClFN ₃ O	conazole	4
Epoxiconazole	C ₉ H ₁₉ NOS	thiocarbamate	14
EPTC	C ₂₅ H ₂₂ ClNO ₃	pyrethroid	8
Esfenvalerate	C ₁₃ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₄	dinitroaniline	7
Ethalfuralin	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	carbamate	14
Ethiofencarb	C ₉ H ₂₂ O ₄ P ₂ S ₄	phosphorodithioic acid	11
Ethion	C ₉ H ₂₂ O ₆ P ₂ S ₂	oxon	11
Ethion di oxon	C ₉ H ₂₂ O ₅ P ₂ S ₃	oxon	11
Ethion mono oxon	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	dipropyl	11
Ethoprop	C ₁₄ H ₁₉ NO	phosphorodithioate	Single
Ethoxyquin	C ₂₁ H ₂₃ F ₂ NO ₂	quinoline	18
Etoxazole	C ₅ H ₅ Cl ₃ N ₂ OS	oxazole	4
Famoxadone	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O ₄	dicarboximide/oxazole	18
Fenamidone	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ OS	imidazole	4
Fenamiphos	C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS	phosphoramidate	11
Fenamiphos sulfone	C ₁₃ H ₂₂ NO ₅ PS	sulfone	11
Fenamiphos sulfoxide	C ₁₃ H ₂₂ NO ₄ PS	sulfoxide	11
Fenarimol	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	pyrimidine	3
Fenbuconazole	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₄	conazole	4
Fenhexamid	C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ NO ₂	chlorocarboximide	6
Fenitrothion	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS	phosphorothioate	11
Fenitrothion O-analog	C ₉ H ₁₂ NO ₆ P	oxon	11
Fenpropathrin	C ₂₂ H ₂₃ NO ₃	pyrethroid	8
Fenpyroximate	C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₄	phenoxyppirazol	10

Fenthion	$C_{10}H_{15}O_3PS_2$	phosphorothioate	11
Fenthion O-analog	$C_{10}H_{15}O_4PS$	oxon	11
Fenuron	$C_9H_{12}N_2O$	urea	16
Fenvalerate	$C_{25}H_{22}ClNO_3$	pyrethroid	8
Fipronil	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$	phenyl pyrazole	10
Fluazifop butyl	$C_{15}H_{12}F_3NO_4$	pyridine	17
Fluazinam	$C_{13}H_4Cl_2F_6N_4O_4$	pyridine	17
Fludioxonil	$C_{12}H_6F_2N_2O_2$	phenyl pyrrole	10
Flufenacet	$C_{14}H_{13}F_4N_3O_2S$	anilide	6
Flufenacet ethanesulfonic acid	$C_{11}H_{14}FNO_4S$	anilide metabolite	25
Flufenacet oxanilic acid	$C_{11}H_{12}FNO_3$	anilide metabolite	25
Flumioxazin	$C_{12}H_9F_2N_5O_2S$	N-phenylphthalimide	1
Flumetsulam	$C_{10}H_{11}F_3N_2O$	pyrimidine	10
Fluometuron	$C_{19}H_{14}F_3NO$	urea	16
Fluridone	$C_{19}H_{14}F_3NO$	pyridine	17
Fluralone	$C_{26}H_{22}ClF_3N_2O_3$	pyrethroid	8
Fluvalinate	$C_9H_4Cl_3NO_2S$	phthalimide	1
Folpet	$C_{10}H_{15}OPS_2$	phosphorodithioic acid	11
Fonofos O-analog	$C_{10}H_{15}O_2PS$	oxon	11
Forchlorfenuron	$C_{12}H_{10}ClN_3O$	phenyl urea	16
Formetanate	$C_{11}H_{15}N_3O_2$	formamidine	Single
Halosulfuron	$C_{12}H_{13}ClN_6O_7S$	sulfonyl urea	26
Halosulfuron methyl	$C_{12}H_{13}ClN_6O_7S$	sulfonyl urea	26
Heptachlor	$C_{10}H_5Cl_7$	cyclodiene	5
Heptachlor epoxide	$C_{10}H_5Cl_7O$	cyclodiene	5
Hexachlorobenzene (HCB)	C_6Cl_6	benzene ring	3
Hexaconazole	$C_{14}H_{17}Cl_2N_3O$	conazole	4
Hexazinone	$C_{12}H_{20}N_4O_2$	triazine	9
Hexythiazox	$C_{17}H_{21}ClN_2O_2S$	thiazolidine carboxamide	6
Hydroprene	$C_{17}H_{30}O_2$	oxyhydrocarbon	21
Hydroxy atrazine	$C_8H_{15}N_5O$	triazine metabolite	9
Imazalil	$C_{14}H_{14}Cl_2N_2O$	conazole	4
Imazamethabenz acid	$C_{15}H_{18}N_2O_3$	imidazolinone	19
Imazamethabenz methyl	$C_{16}H_{20}N_2O_3$	imidazolinone	19
Imazamox	$C_{15}H_{19}N_3O_4$	imidazolinone	19
Imazapic	$C_{14}H_{17}N_3O_3$	imidazolinone	19
Imazapyr	$C_{13}H_{15}N_3O_3$	imidazolinone	19
Imazaquin	$C_{17}H_{17}N_3O_3$	imidazolinone	19
Imazethapyr	$C_{15}H_{19}N_3O_3$	imidazolinone	19
Imidacloprid	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	neonicotinyl	23
Indoxacarb	$C_{22}H_{17}ClF_3N_3O_7$	carbamate	14
Iprodione	$C_{13}H_{13}Cl_2N_3O_3$	dicarboximide	6
Iprodione metabolite isomer	$C_{13}H_{13}Cl_2N_3O_3$	dicarboximide	6
Isofenphos	$C_{15}H_{24}NO_4PS$	organophosphate	11
Isofenphos O-analog	$C_{15}H_{24}NO_5P$	oxon	11
Kresoxim methyl	$C_{18}H_{19}NO_4$	strobilurin	22
Lactofen	$C_{19}H_{15}ClF_3NO_7$	flurodiphenyl ether	3
Lindane (BHC gamma)	$C_6H_6Cl_6$	hexane ring	5
Linuron	$C_9H_{10}Cl_2N_2O_2$	urea	16
Malathion	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	phosphorodithioate	11
Malathion O-analog	$C_{10}H_{19}O_7PS$	oxon	11
MCPA	$C_9H_9ClO_3$	phenoxy	20
MCPB	$C_{11}H_{13}ClO_3$	phenoxy acid	20
Mecoprop (MCP)	$C_{10}H_{11}ClO_3$	phenoxy acid	20

Mepanipyrim	C ₁₄ H ₁₃ N ₃	pyrimidine	17
Metalaxyl	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	acylalanine	18
Methamidophos	C ₂ H ₈ NO ₂ PS	phosphoramidothioic acid	11
Methidathion	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃	phosphorodithioate	11
Methidathion O-analog	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₅ PS ₂	oxon	11
Methiocarb	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	carbamate	14
Methomyl	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	carbamate	14
Methoprene	C ₁₉ H ₃₄ O ₃	oxyhydrocarbon	21
Methoxychlor olefin	C ₁₆ H ₁₄ Cl ₂ O ₂	bridged biphenyl	3
Methoxychlor p,p'	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₃ O ₂	bridged biphenyl	3
Methoxychlor Total	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₃ O ₂	bridged biphenyl	3
Methoxyfenozide	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₃	diacylhydrazine	24
Methyl pentachlorophenyl sulfide (MPCPS, metabolite of PCNB)	C ₇ H ₃ Cl ₅ S	benzene ring	3
Metolachlor	C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂	acetamide	6
Metolachlor ethanesulfonic acid	C ₁₅ H ₂₃ NO ₅ S	chloroacetanilide	25
Metolachlor oxanilic acid	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	metabolite	25
Metolachlor ethanesulfonic acid	C ₈ H ₁₄ N ₄ OS	chloroacetanilide	9
Metolachlor oxanilic acid	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₆ S	metabolite	26
Metribuzin	C ₇ H ₁₃ O ₆ P	triazines	11
Metribuzin	C ₉ H ₁₇ NO ₅	sulfonyl urea	15
Metsulfuron methyl	C ₇ H ₁₄ NO ₅ P	butenoic acid	11
Mevinphos E/Z	C ₉ H ₁₁ ClN ₂ O	thiocarbamate	16
Myclobutanil	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₄	triazole	4
Napropamide	C ₁₇ H ₂₁ NO ₂	amide	6
Naptalam (Alanap)	C ₁₈ H ₁₃ NO ₃	amide	6
Neburon	C ₁₂ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ O	urea	16
Nicosulfuron	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S	sulfonyl urea	26
Nitrapyrin	C ₆ H ₃ Cl ₄ N	pyridine	17
Norflurazon	C ₁₂ H ₉ ClF ₃ N ₃ O	pyridazinone	17
Norflurazon desmethyl	C ₁₁ H ₇ ClF ₃ N ₃ O	pyridazinone	17
Omethoate	C ₅ H ₁₂ NO ₄ PS	phosphorothioate	11
o-Phenylphenol	C ₁₂ H ₁₀ O	biphenyl	3
Oryzalin	C ₁₂ H ₁₈ N ₄ O ₆ S	dinitroaniline	7
Oxadiazinon	C ₁₅ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₃	oxadiazon	18
Oxadixyl	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄	oxazolidine	18
Oxamyl	C ₇ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	carbamate	14
Oxamyl oxime	C ₁₀ H ₄ Cl ₈ O	carbamate	14
Oxychlor dane	C ₆ H ₁₅ O ₄ PS ₂	cyclodiene	5
Oxydemeton methyl	C ₆ H ₁₅ O ₅ PS ₂	organophosphate	11
Oxydemeton methyl sulfone	C ₁₅ H ₁₁ ClF ₃ NO ₄	phosphorothioate	11
Oxyfluorfen	C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS	diphenyl ether	3
Parathion ethyl	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS	phosphorothionic acid	11
Parathion methyl	C ₈ H ₁₀ NO ₆ P	phosphorothionic acid	11
Parathion methyl O-analog	C ₁₀ H ₁₄ NO ₆ P	oxon	11
Parathion O-analog	C ₁₀ H ₂₁ NOS	oxon	11
Pebulate	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	thiocarbamate	15
Pendimethalin	C ₆ H ₂ Cl ₅ N	dinitroaniline	7
Pentachloroaniline (PCA)	C ₆ HCl ₅	aniline	3
Pentachlorobenzene (PCB)	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	benzene ring	3
Permethrin cis	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	pyrethroid	8
Permethrin total	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	pyrethroid	8
Permethrin trans	C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₄	pyrethroid	8
Phenmedipham	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₄	carbamate	14
Phenothrin	C ₂₃ H ₂₆ O ₃	pyrethroid	8

Julho de 2007

Phenthoate	$C_{12}H_{17}O_4PS_2$	organophosphate	11
Phorate	$C_7H_{17}O_2PS_3$	phosphorodithionic acid	11
Phorate O-analog	$C_7H_{17}O_3PS_2$	oxon	11
Phorate sulfone	$C_7H_{17}O_4PS_3$	sulfone	11
Phorate sulfoxide	$C_7H_{17}O_3PS_2$	sulfoxide	11
Phosalone	$C_{12}H_{15}ClNO_4PS_2$	phosphorodithionic acid	11
Phosalone O-analog	$C_{12}H_{15}ClNO_5PS$	oxon	11
Phosmet	$C_{11}H_{12}NO_4PS_2$	phosphorodithionic acid	11
Phosphamidon	$C_{10}H_{19}ClNO_5P$	dimethyl phosphate	11
Picloram	$C_6H_3Cl_3N_2O_2$	carboxylic acid	20
Piperonyl butoxide	$C_{19}H_{30}O_5$	benzodioxole	Single
Pirimicarb	$C_{11}H_{18}N_4O_2$	carbamate	14
Pirimiphos methyl	$C_{11}H_{20}N_3O_3PS$	phosphorothioate	11
Prallethrin	$C_{19}H_{24}O_3$	pyrethroid	8
Prochloraz	$C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$	imidazole	9
Procymidone	$C_{13}H_{11}Cl_2NO_2$	dicarboximide	6
Profenofos	$C_{11}H_{15}BrClO_3PS$	phosphorothioate	11
Prometon	$C_{10}H_{19}N_5O$	triazine	9
Prometryn	$C_{10}H_{19}N_5S$	triazine	9
Pronamide (propyzamide)	$C_{12}H_{11}Cl_2NO$	amide	6
Propamocarb HCl	$C_9H_{20}N_2O_2$	carbamate	14
Propachlor	$C_{11}H_{14}ClNO$	chloroacetanilide	6
Propachlor oxanilic acid	$C_{11}H_{13}NO_3$	chloroacetanilide	25
Propanil	$C_9H_9Cl_2NO$	metabolite	6
Propargite	$C_{19}H_{26}O_4S$	anilide	Single
Propazine	$C_9H_{16}ClN_5$	sulfite	9
Propetamphos	$C_{10}H_{20}NO_4PS$	triazine	11
Propham	$C_{10}H_{13}NO_2$	phosphorothioate	14
Propiconazole	$C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$	carbamate	4
Propoxur	$C_{11}H_{15}NO_3$	carbamate	14
Pymetrozine	$C_{10}H_{11}N_5O$	azomethine	9
Pyraclostrobin	$C_{19}H_{18}ClN_3O_4$	strobilurin	22
Pyrazon (Chloridazon)	$C_{10}H_8ClN_3O$	pyridazinone	17
Pyridaben	$C_{19}H_{25}ClN_2OS$	pyridazinone	17
Pyrimethanil	$C_{12}H_{13}N_3$	pyrimidine	17
Pyriproxyfen	$C_{20}H_{19}NO_3$	pyridine	17
Quinoxifen	$C_{15}H_8Cl_2FNO$	pyridine	17
Quintozene (PCNB)	$C_6Cl_5NO_2$	benzene ring	3
Resmethrin	$C_{22}H_{26}O_3$	pyrethroid	8
S-(2-hydroxy)propyl EPTC	$C_9H_{19}NOS$	thiocarbamate	14
Sethoxydim	$C_{17}H_{29}NO_3S$	cyclohexene oxime	Single
Siduron	$C_{14}H_{20}N_2O$	urea	16
Simazine	$C_7H_{12}ClN_5$	triazine	9
Spinosad	$C_{41}H_{65}NO_{10}$	antibiotic insecticide	Single
Spirodiclofen	$C_{42}H_{67}NO_{10}$	tetronic acid	27
Spiromesifen	$C_{21}H_{24}Cl_2O_4$	tetronic acid	27
Sulfentrazone	$C_{23}H_{30}O_4$	triazole sulfonamide	4
Sulfometuron methyl	$C_{11}H_{10}Cl_2F_2N_4O_3S$	sulfonyl urea	26
Sulfotep	$C_{15}H_{16}N_4O_5S$	organophosphate	11
Sulprofos	$C_8H_{20}O_5P_2S_2$	organophosphate	11
Sulprofos O-analog	$C_{12}H_{19}O_2PS_3$	oxon	11
Tebuconazole	$C_{12}H_{19}O_3PS_2$	conazole	4
Tebufenozide	$C_{16}H_{23}ClN_3O$	diacylhydrazine	24
Tebupirimfos	$C_{22}H_{28}N_2O_2$	organophosphate	11

Julho de 2007

Tebupirimfos O-analog	$C_{13}H_{23}N_2O_3PS$	oxon	11
Tebuthiuron	$C_{13}H_{23}N_2O_4P$	urea	16
Tecnazene	$C_9H_{16}N_4OS$	nitrobenzene	3
Tefluthrin	$C_6HCl_4NO_2$	pyrethroid	8
TEPP	$C_{17}H_{14}ClF_7O_2$	organophosphate	11
Terbacil	$C_9H_{13}ClN_2O_2$	uracil	16
Terbufos	$C_9H_{21}O_2PS_3$	phosphorothioate	11
Terbufos O-analog	$C_9H_{21}O_3PS_2$	oxon	11
Terbufos sulfone	$C_9H_{21}O_4PS_3$	sulfone	11
Tetrachlorvinphos	$C_{10}H_9Cl_4O_4P$	chlorethylene phosphate	11
Tetraconazole	$C_{13}H_{11}Cl_2F_4N_3O$	conazole	4
Tetradifon	$C_{12}H_6Cl_4O_2S$	bridged biphenyl	3
Tetrahydrophthalimide (THPI)2	$C_8H_9NO_2$	phthalimide	1
Tetramethrin	$C_{10}H_9ClN_4S$	neonicotinyl	23
Thiacloprid	$C_{10}H_7N_3S$	benzimidazole	4
Thiabendazole	$C_8H_{10}ClN_5O_3S$	neonicotinyl	23
Thiamethoxam	$C_{16}H_{17}F_5N_2O_2S$	pyridine	17
Thiazopyr	$C_{11}H_{11}N_5O_6S_2$	sulfonyl urea	26
Thifensulfuron	$C_{12}H_{16}ClNOS$	thiocarbamate	14
Thiobencarb	$C_{10}H_{18}N_4O_4S_3$	carbamate	14
Thiodicarb	$C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$	carbamate	14
Thiophanate methyl	$C_9H_{11}Cl_2O_3PS$	organophosphate	11
Tolclofos methyl	$C_{10}H_{13}Cl_2FN_2O_2S_2$	phenylsulfamide	Single
Tolyfluanid	$C_{22}H_{19}Br_4NO_3$	pyrethroid	8
Tralomethrin	$C_{14}H_{16}ClN_3O_2$	conazole	4
Triadimefon	$C_{14}H_{18}ClN_3O_2$	conazole	4
Triadimenol	$C_{10}H_{16}Cl_3NOS$	thiocarbamate	14
Triallate	$C_{14}H_{16}ClN_5O_5S$	sulfonyl urea	26
Triasulfuron	$C_4H_6N_3O_2$	triazole metabolite	4
Triazole acetic acid	$C_5H_8N_4O_2$	triazole metabolite	4
Triazole alanine	$C_4H_8Cl_3O_4P$	phosphate	11
Trichlorfon (as dichlorvos)	$C_7H_4Cl_3NO_3$	acetic acid	20
Triclopyr	$C_9H_{13}ClN_2O_2$	uracil	16
Trifloxystrobin	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$	strobilurin	22
Triflumizole	$C_{15}H_{15}ClF_3N_3O$	conazole	4
Trifluralin	$C_{13}H_{16}F_3N_3O_4$	dinitroaniline	7
Triforine	$C_{10}H_{14}Cl_6N_4O_2$	formamide	6
Triticonazole	$C_{17}H_{20}ClN_3O$	conazole	4
Vernolate	$C_{10}H_{21}NOS$	thiocarbamate	14
Vinclozolin	$C_{12}H_9Cl_2NO_3$	dichloroanilide	6
Zoxamide	$C_{14}H_{16}Cl_3NO_2$	benzamide	6

* Vide anexo 2

ANEXO 4 – PARÂMETROS QUE DEVEM SER AVALIADOS NO PROCESSO DE VALIDAÇÃO METODOLÓGICA EM DIVERSAS CIRCUNSTÂNCIAS. (Extraído de: GUIDELINES ON GOOD LABORATORY PRACTICE IN RESIDUE ANALYSIS CAC/GL 40-1993, Rev.1-2003)

Table 2 Parameters to be assessed for method validation in various circumstances

Parameter	Level(s)	No. of analyses or type of test required	Criteria		Comments
			Quantitative method	Screening method	
1. Within-Laboratory (single laboratory) performance of optimised method					
1.1 Analyte stability in extracts and standard solutions	At \leq AL, or with well detectable residues	≥ 5 replicates at each appropriate point in time (including zero) and for each representative analyte/commodity. Fortify blank sample extracts to test stability of residues. Compare analyte concentration in stored and freshly made standard solutions.	No significant change in analyte concentration in stored extracts and analytical standards ($P = 0.05$)	At the end of the storage period, residues added at LCL are detectable	The test of stability in extracts is required if the analytical method is suspended during the determination process, and the material will likely be stored longer than during determination of precision, or if low recoveries were obtained during optimisation of the method. During method optimisation, recovery should be measured against both "old" and "freshly prepared" calibration standards, if the recovery extracts are stored. Storage time should encompass the longest period likely to be required to complete the analysis.
1.2 Calibration function Matrix effect	LCL to 2 (3) times AL	Test the response functions of all analytes included in the method with ≥ 2 replicates at ≥ 3 analyte levels plus blank sample. For non-linear response, determine response curve at ≥ 7 levels and ≥ 3 replicates. Test the matrix effect with all representative analytes and matrices. Apply the standards prepared in solvent and sample extracts randomly.	For linear calibration: regression coefficient for analytical standard solutions ($r \geq 0.99$, the SD of residuals (S_{yx}) ≤ 0.1 For polynomial function ($r \geq 0.98$. The matrix effect is confirmed if the difference is significant at $P = 0.05$.	For linear calibration: regression coefficient ($r \geq 0.98$. SD of residuals ≤ 0.2 For polynomial function ($r \geq 0.95$	Calibration parameters may be established during optimisation of the procedure, determination of precision or detection capability. Prepare calibration solutions of different concentrations For MRM perform calibration with mixtures of analytes ("standard mixture"), which can be properly separated by the chromatographic system. Use matrix matched analytical standards for further tests if matrix effect is significant. The method validation may not give definite information for the matrix effect, because matrix effects change with time, with sample (sometimes), with column, etc.
1.3 Analytical range, accuracy,	LCL to 2 (3) times AL*	Analyse representative analyte matrix combinations: ≥ 5 analytical portions spiked at zero, LCL, AL and ≥ 3 replicates at 2-3	LOQ should be fit for purpose. Mean recovery and CV_A see Table 3.	All recoveries are detectable at LCL	The analysts should demonstrate that the method is suitable for determining the presence of the analyte at the appropriate AL with the maximum (false negative and false positive)

Parameter	Level(s)	No. of analyses or type of test required	Criteria		Comments
			Quantitative method	Screening method	
trueness precision, limit of detection (LD), limit of quantitation (LOQ)		AL level. The recovery tests should be divided among the analysts, who will use the method, and instruments that will be involved in the analysis.	Mean residue* measured in reference material is not significantly different from the consensus value ($P = 0.05$).		errors specified. For MRM, the fortification level of blank samples should cover the ALs of analytes represented. Consequently they may not correspond with the actual AL for the representative analytes. Fortify analytical portions with standard mixtures. The accuracy and precision ranges determined for representative analyte/matrix combinations can be considered typical for the method, and will be used as applicability criteria for extension to new analytes and commodities, as well as initial guidance for internal quality control of the method. Report uncorrected results, mean recovery and CV_A of replicates. CV_A is equivalent to the within laboratory reproducibility of analysis of samples. * Correct the results for mean recovery if it is significantly different from 100 %. Where the method does not permit recovery to be estimated, accuracy and precision are those of calibration.
1.4 Specificity and selectivity of analyte detection	At lowest calibration level (LCL)	Identify by mass spectrometry, by a similarly specific technique, or by the appropriate combination of separation and detection techniques available. Analyse ≥ 5 blanks of each representative commodity obtained preferably from different sources. Report analyte equivalent of blank response.	Measured response is solely due to the analyte. Residues measured on two different columns should be within the critical range of replicate chromatographic determinations.	The rate of false negative samples (β error) at AL should typically be $< 5\%$.	Applies only to a specific combination of separation and detection technique. Samples of known treatment history may be used instead of untreated samples, for analytes other than that applied during treatment. Maturity of sample matrices may significantly affect the blank sample response. Blank values shall also be regularly checked during performance verification (see Section 4 below). Report typical peaks present in the extracts of

Julho de 2007

Parameter	Level(s)	No. of analyses or type of test required	Criteria		Comments
			Quantitative method	Screening method	
		Determine and report selectivity (δ) of detector and relative response factors (RRF) of representative analytes with specific detectors used..			blank samples. The LCL should preferably be $\leq 0.3AL$, except when the AL is set at or about the limit of quantitation. The test may be performed in combination with the determination of decision limit and detection capability and will also provide information for the relative RRTs and RRFs of compounds. Alter chromatographic conditions if blank sample response interfere with the analyte or use an alternative detection system. Suitable combination of selective detectors increases specificity, because the amount of information about the analyte is increased.
1.5 Selectivity of separation	At AL	Determine RRT values for all analytes to be tested by the method (not only the reference compounds). When chromatographic techniques are used without spectrometric detection, apply different separation principles and/or determine RRT-s on columns of different polarity. Determine and report resolution (R_s) and tailing factors (T_f) of critical peaks.	The nearest peak maximum should be separated from the designated analyte peak by at least one full width at 10% of the peak height, or more selective detection of all analytes is required.	Tentative identification of all analytes tested. (Not all analytes need to be separated)	Unless the chromatographic separation and spectrometric detection is used in combination, report RRT values on columns of different polarity, which enable the separation (minimum $R_s \geq 1.2$) of all analytes tested. The test may be combined with the determination of calibration function and matrix effect (see. 1.7)
1.6 Homogeneity of analyte in analytical sample	At about AL or well detectable residues	Analyse ≥ 5 replicate test sample portions of one representative commodity from each group (Table 5), post-processing. Determine CV_{sp} with analysis of variance. The analyte homogeneity should be checked with analytes known to be stable.	$CV_{sp} \leq 10\%$.	$CV_{sp} \leq 15\%$ For screening methods it may be desirable to take a portion in which residues can be expected to be highest (e.g. citrus peel) and achievement of homogeneity may be unnecessary.	Use preferably commodities with incurred <u>stable</u> surface residues or treat the surface of a small portion of the natural units (<20%) of laboratory sample before cutting or chopping to represent worst scenario of sample processing. Processing validated for use with any subsequent procedure. Validation applicable to other commodities with similar physical properties, and it is independent of the analyte. The test may be combined with testing stability

Julho de 2007

Parameter	Level(s)	No. of analyses or type of test required	Criteria		Comments
			Quantitative method	Screening method	
					of analyte (see Section 1.7 of this Table) Determine the sampling constant ^{3,4} to calculate the size of analytical portion required to satisfy quality criteria of $CV_{sp} \leq 10\%$ specified. The CV_{sp} may not need to be determined separately if the CV_L of the incurred residues are within the limits specified in Table 2.
1.7 Analyte stability during sample processing	About AL	Fortify commodities with known amounts of analytes before processing the sample. Analyse ≥ 5 replicates of each commodity, post-processing. Apply a stable marker compound together with the analytes tested. For MRM and group specific methods, GSM, several analytes, which can be well separated, can be tested together.	The stability of the analyte need not be specified if the average overall recovery of analyte added before sample processing (including procedural recovery) and CV_A are within the ranges specified in Table 3. Quantify stability if the overall recovery and the procedural recovery is significantly different ($P=0.05$).	Analyte added at LCL remains detectable after processing	The temperature of the sample during processing may be critical. Processing validated for use with any subsequent procedure. Validation may be specific to analyte and/or sample matrix. For testing stability determine the mean recovery and CV_L of labile and stable marker compounds. Use these compounds for internal QA tests (see section 4). Express the ratio of average concentration of labile and stable compounds to indicate stability of residues. CV 's of stable compounds will indicate the within laboratory repeatability as well.
1.8 Extraction efficiency	About AL or readily measurable residues	Analyse ≥ 5 replicate portions of samples or reference material with incurred residues. Compare the reference (or different) procedure with that undertest. For MRM the analytes tested should preferably have a wide range of Pow values. Only to be determined using incurred residues.	For samples with incurred residues, the mean result obtained with the reference procedure and the tested procedure should not differ significantly at $P=0.05$ level applying CV_L in the calculation. Or, the consensus value of reference material and the mean residue should not differ significantly at	The mean incurred residues, known to be present at or about the LOQ or LCL, are actually detectable in the samples.	Temperature of the extract, speed of blender or Ultra Turrax, time of extraction and solvent/water/matrix ratio may significantly affect the efficiency of extraction. The effect of these parameters can be checked with ruggedness test. The optimised conditions should be kept constant as far as possible. Validation is generally applicable for commodities within one group and represented analytes of similar physical and chemical properties. Validation is independent from

³ Wallace, D. and Kratochvil, B., Analytical Chemistry, 59, 1987, 226.

⁴ Ambrus, A., Solymosné, E.M. and Korsós, I., J. Environ. Sci. and Health, B31, 1996, 443.

Julho de 2007

Parameter	Level(s)	No. of analyses or type of test required		Criteria		Comments
			Quantitative method	Screening method		
			P=0.05 level when calculated with CV_A of the method tested. When the CV_A of the method is larger than 10%, the number of replicate analyses has to be increased to keep the relative standard error of the mean < 5%. Otherwise quantify and report the efficiency of extraction (excluding the recovery of analytical phase following the extraction).			subsequent procedures in the method. The average recovery of each method shall be determined from spiked analytical portions. Correct results with average recovery of analysis if it is significantly different from 100%. According to some regulations the ability of screening kits should be tested to detect a positive at 95% confidence.
1.9 Analyte stability during sample storage	About AL	Analyse freshly homogenised samples containing incurred residues, or homogenise and spike blank samples (time 0), and then analyse samples stored according to normal procedures of the laboratory (usually at ≤ -18 °C). The storage time should be \geq than the longest interval foreseen between sampling and analysis. ≥ 5 replicates at each time point. When the stored portions are analysed ≥ 4 occasions, test ≥ 2 spiked portions, and ≥ 1 blank portion spiked at the time of analysis. Analytical portions should be thawed only	No significant loss of analyte during storage (P = 0.05)	Analyte added at lowest calibration level, LCL, remains detectable after storage		Storage is validated for use with any subsequent procedure. Validation is specific to analyte. However, generally storage stability data obtained with representative sample matrices can be considered valid for similar matrices. The matrices shall be selected taking into account the chemical stability (e.g. hydrolysis) of the analyte and the intended use of the substance. Useful information can be obtained on stability during storage from the JMPR evaluations ³ or from dossiers submitted for registration Report the initial residue concentration, the remaining residue concentration and the procedural recovery of the analyte. Unnecessary sample storage can be avoided by a careful planning for sampling and consequent

³ FAO, Pesticide Residues in Food – Evaluations; published annually in the series of FAO Plant Production and protection Papers

Julho de 2007

Parameter	Level(s)	No. of analyses or type of test required	Criteria		Comments
			Quantitative method	Screening method	
		immediately before or during extraction.			analysis through administrative arrangement, which is not a part of analytical method.
2. Extension of the validated method					
2.1 Analyte stability during sample storage, processing, and in extracts and standard solutions.	See 1.1, 1.2 & 1.9				Only if information on stability under the processing conditions and on the representative matrix is not already available
2.2 Calibration function, matrix effect	LCL to 2 (3) AL:	Three point calibration embracing AL with and without matrix matched analytical standards	For linear calibration: regression coefficient for analytical standard solutions (r) ≥ 0.99 . SD of relative residuals ($S_{y/x}$) ≤ 0.1 For polynomial function (r) ≥ 0.98 .	For linear calibration: regression coefficient (r) ≥ 0.98 . SD of relative residuals ≤ 0.2 For polynomial function (r) ≥ 0.95 .	The method validation may not give definite information for the matrix effect, because matrix effects change with time, with sample (sometimes), with column, etc.
2.3 Accuracy, precision, LD, LOQ	at AL	Planned in advance: (a) Analyse 3 analytical portions of representative sample matrices of interest fortified at AL. Unexpectedly found: Fortify 2 preferably 3 additional portions of analytical sample approximately at the level of the new analyte. Calculate the recovery of added analyte. Use similar sample matrix for recovery test if appropriate amount of analytical sample is not available..	The residues recovered should be within the repeatability limits of the method: Three portions: $C_{max} - C_{min} \leq 3.3CV_{A_{typ}}Q$ Two portions: $C_{max} - C_{min} \leq 2.8*CV_{A_{typ}}Q$ $CV_{A_{typ}}$ is the typical repeatability coefficient of variation of the method to be adapted. Q =average recovery of the new analyte, and it shall comply with Table 3.	Analytes added to blank samples at target reporting level should be measurable in all tests.	Use $CV_{A_{typ}}$ established during method validation. The method should only be tested with commodities representing the intended use (possible misuse) of the analyte.
2.4 Specificity	At LCL	Identify by mass spectrometry, or	Measured response is	The rate of false negative	When the extension for a new analyte is

Parameter	Level(s)	No. of analyses or type of test required	Criteria		Comments
			Quantitative method	Screening method	
and selectivity of analyte detection		<p>by the appropriate combination of separation and detection techniques available.</p> <p>Planned in advance:</p> <p>(a) Analyse one representative blank sample from each commodity group of interest (in which the new analyte is likely to be present). Analyse new matrix with representative compounds.</p> <p>Unexpectedly found:</p> <p>(b) Check response of blank sample (if available), or demonstrate that the response measured corresponds solely to the analyte, using the best technique available in the laboratory.</p> <p>Check δ and RRF of detection and RRTs of representative analytes. Compare RRT and response of new analyte with other analytes tested during method validation and with blank responses obtained during extension of the method and the prior validation of the method.</p>	<p>solely due to the analyte. The detection system used should have equal or better detector performance than those applied during method validation. Residues measured on two different columns should be within the critical range of replicate chromatographic determinations. Relative retentions of representative analytes obtained during method validation and measured should be within 2 % for GLC and 5 % for HPLC determinations.</p>	<p>samples (β error) at AL should be < 5%.</p>	<p>planned, the applicability of the method shall be checked for all representative sample matrices in which the analyte may occur. When an analyte is unexpectedly detected, the performance check may be carried out for the actual matrix alone</p> <p>See also 1.4.</p> <p>The responses of blank sample(s) should not interfere with the analytes, which are likely to be measured in the sample. Report typical peaks present in blank extracts.</p> <p>The background noise of a new matrix extract should be within the range obtained for representative commodities/sample matrices.</p> <p>If the selectivity of detection does not eliminate the matrix response, use appropriate combination of chromatographic columns that enable the separation of analytes from the matrix peaks. See other options in Table 6.</p>
2.5 Selectivity of separation	See 1.5	See 1.5	See 1.5	See 1.5	See 1.5 Only if information is not available
2.6 Extraction efficiency	See 1.8	See 1.8	See 1.8	See 1.8	See 1.8 Only if information is not available

3. Adaptation of the validated method in another laboratory					
3.1 Purity and suitability of chemicals, reagents and ad(ab)sorbents		Test reagent blank, applicability of ad(ab)sorbents and reagents. Perform derivatization without and with sample.	No interfering response above 0.3 LCL.	No interfering response above 0.5 AL.	Some of the most common problems in method transfer involve differences in selection of reagents, solvents and chromatographic media, or in equipment capabilities. Whenever possible, try to confirm actual materials and equipment used by the method developer, if that information is not provided with the method or publication, as received. Substitutions can be tried after the method is working within your laboratory.
3.2 Analyte stability in extracts and standard solutions	See 1.10	See 1.1	See 1.1	See 1.1	This testing may be omitted if full information on analyte stability is provided with the method or if the method is replacing a previously used method for the analyte and the stability information has been previously generated for the previous method.
3.3 Calibration function Matrix effect	LCL to 2 (3) times AL	Test the response functions of representative analytes included in the method at ≥ 3 analyte levels plus blank. For non-linear response, determine response curve at ≥ 7 levels and ≥ 3 replicates. Test the matrix effect with representative analytes and matrices.	For linear calibration: regression coefficient for analytical standard solutions (r) ≥ 0.99 . The SD of relative residuals ($S_{y\&}$) ≤ 0.1 For polynomial function (r) ≥ 0.98 .	For linear calibration: regression coefficient (r) ≥ 0.98 . The SD of relative residuals ≤ 0.2 For polynomial function (r) ≥ 0.95 .	Sees: 1.2
3.4 Analytical range accuracy and precision, limit of detection, limit of quantitation	Blank extract and or AL	Analyse representative analyte/matrix combinations: ≥ 5 analytical portions each of blank samples spiked at 0 and AL, and 3 portions spiked at 2 AL. The recovery tests should be divided among the analysts, who will use the method, and instruments that will be involved in the analysis.	Average recovery and CV_A should be within the ranges given in Table 3.	All recoveries detectable at LCL. Reference materials at AL: analyte detected.	See comments in 1.3.

3.5 Specificity and selectivity of analyte detection	At AL	Check performance characteristics of detectors used and compare them with those specified in the method. Check response of one blank of each representative commodity, otherwise perform test as described in section 1.4.	Measured response is solely due to the analyte. The detector performance (sensitivity and selectivity) should be equal or better than specified in the method. See section 1.4	The rate of false negative samples (β error) at AL should typically be < 5%.	The relative response of specific detectors can substantially vary from model to model. Proper checking of specificity of detection is critical for obtaining reliable results. Compare blank response observed with typical peaks reported in blank extracts See other comments under section 1.4.
3.6 Analyte "homogeneity"	At about AL or well detectable residues	Test two representative commodities of different nature	$CV_{sp} < 10\%$	$CV_{sp} < 15\%$ For screening methods it may be desirable to take a portion in which residues can be expected to be highest (e.g. citrus peel) and achievement of homogeneity may be unnecessary.	The tests are performed to confirm similarity of application conditions and applicability of parameters obtained by the laboratory validating the method. When the test results in similar CV_{sp} as reported, the conditions of sample processing may be considered similar and further tests are not required for the validation of the method.
3.7 Analyte stability in extracts and standard solutions	See 1.1	See 1.1	See 1.1	See 1.1	This testing may be omitted if full information on analyte stability is provided with the method or if the method is replacing a previously used method for the analyte and the stability information has been previously generated for the previous method.