

Relatório Final da Comparação Interlaboratorial  
para Caracterizar um Candidato a MRC na  
Matriz Fórmula Infantil para Lactentes  
Parâmetros Orgânicos, Teor de Água e Teor de  
Cinzas



Inmetro  
Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

**PEP-Inmetro**

Programa de Ensaio de Proficiência do Inmetro

# COMPARAÇÃO INTERLABORATORIAL PARA CARACTERIZAR UM CANDIDATO A MATERIAL DE REFERÊNCIA CERTIFICADO NA MATRIZ FÓRMULA INFANTIL PARA LACTENTES

## PARÂMETROS ORGÂNICOS, TEOR DE ÁGUA E TEOR DE CINZAS

Período de inscrição: 14/04/15 a 22/04/15

### RELATÓRIO FINAL N° 005/16

#### ORGANIZAÇÃO PROMOTORA DO ENSAIO DE PROFICIÊNCIA



Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Inmetro  
Divisão de Comparações Interlaboratoriais e Ensaio de Proficiência– Dicep  
Endereço: Av. Nossa Senhora das Graças, 50 – Xerém – Duquede Caxias  
RJ – Brasil – CEP: 25250-020  
E-mail para contato: pep-inmetro@inmetro.gov.br

#### COMITÊ DE ORGANIZAÇÃO

Adelcio Rena Lemos (Inmetro/Dimci)  
Janaína Marques Rodrigues (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Paulo Roberto da Fonseca Santos (Inmetro/Dimci) - CoordenadorPEP-Inmetro  
Viviane Silva de Oliveira Correa (Inmetro/Dimci)

#### COMITÊ TÉCNICO

Eliane Cristina Pires do Rego (Inmetro/Dquim/Labor)  
Gabriel Fonseca Sarmanho (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Janaína Marques Rodrigues (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Joyce Costa Andrade (Inmetro/Dimci)  
Luiz Henrique da Conceição Leal (Dplan/Dgcor)  
Renata Cristina Scarlato (Inmetro/Dquim/Labor)  
Werickson Fortunato de Carvalho Rocha (Inmetro/Dimci/Dquim)

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	3
2. Preparação dos Itens de Comparação.....	4
3. Caracterização do Item de Comparação.....	4
4. Requisitos do Sistema da Qualidade e Aderência ao Guia ABNT ISO Guia 34:2012.....	6
5. Análise Estatística dos resultados reportados pelos Laboratórios Participantes.....	10
6. Valores de propriedade do candidato a MRC.....	18
7. Confidencialidade .....	20
8. Conclusões .....	20
9. Participantes .....	21
10. Referências Bibliográficas.....	22

## **1. Introdução**

As comparações interlaboratoriais (CI) são amplamente utilizadas para vários propósitos e seu uso tem aumentado significativamente em nível internacional. Dentre as aplicações das CI destaca-se a atribuição de valores a materiais de referência e avaliação de sua adequação para uso em ensaios ou procedimentos de medição específicos [1].

Por definição, Material de Referência (MR) é um material suficientemente homogêneo e estável com respeito a uma ou mais propriedades especificadas, que foi estabelecido como sendo adequado para o seu uso pretendido em um processo de medição [2].

Já um Material de Referência Certificado (MRC) é um material de referência, caracterizado por um procedimento metrologicamente válido para uma ou mais propriedades especificadas, acompanhado de um certificado que fornece o valor de propriedade especificada, sua incerteza associada e uma declaração de rastreabilidade metrológica [2].

A utilização de MRC nos processos de calibração e ensaio é uma exigência da norma NBR ISO/IEC 17025 [3], uma vez que estes materiais são ferramentas essenciais para o controle da qualidade dos processos de medição, pois conferem rastreabilidade e confiabilidade ao resultado.

A certificação de um material de referência é realizada conforme os requisitos dos Guias ISO da série 30, em especial os ISO Guias 30, 31, 34 e 35 [2-6]. O ABNT ISO Guia 34 [5] estabelece que o processo de certificação de um Material de Referência (MR) requer um estudo criterioso de todas as fontes de incerteza que impactam na validade dos valores certificados. De uma forma geral, estas fontes são oriundas das etapas envolvidas na certificação do material, ou seja, a caracterização, o estudo de homogeneidade, o estudo de estabilidade inerente ao transporte (estabilidade de curta duração) e o estudo de estabilidade inerente ao armazenamento (estabilidade de longa duração).

O ABNT ISO Guia 34 [5] também estabelece que o produtor deva utilizar e documentar procedimentos tecnicamente válidos na caracterização de materiais de referência. Dentre estes procedimentos está o uso de um ou mais métodos com exatidão demonstrável através de uma comparação interlaboratorial.

Com base no exposto acima, esta Comparação Interlaboratorial teve como objetivo específico caracterizar quanto aos parâmetros teor de água, teor de carboidratos, teor de cinzas, teor de lipídios e teor de proteínas o candidato a Material de Referência Certificado (MRC) na matriz fórmula infantil para lactentes, estimando o valor de cada propriedade e a respectiva contribuição da incerteza da caracterização.

## **2. Preparação dos Itens de Comparação**

O material utilizado para a preparação do candidato a Material de Referência Certificado (MRC) foi uma fórmula infantil para lactentes da marca NAN Pró1 adquirida no mercado local em latas de 800 g. Todo o conteúdo das latas foi homogeneizado com o objetivo de se obter um lote uniforme e homogêneo. O manuseio da matriz foi feito de forma a se garantir a integridade da mesma, evitando qualquer efeito de absorção de umidade e/ou perda de estabilidade.

O lote é constituído de 300 unidades do candidato a MRC, tendo cada uma 80 g de Fórmula Infantil acondicionados em frasco de vidro âmbar com capacidade de 100 mL. Cada frasco foi devidamente etiquetado e embalado em sacos metálicos com sistema zip.

Esta comparação foi coordenada pelo Inmetro, através da Divisão de Comparações Interlaboratoriais e Ensaio de Proficiência – Dicep (Protocolo nº 001/2015 – Dimci/Dicep). Foram enviados para cada participante do processo de certificação 02 itens de comparação, ou seja, dois frascos de vidro de 100 mL, sendo que no Frasco 01 deveriam ser analisados os parâmetros teor de carboidratos totais e teor de proteínas, e no Frasco 02 os parâmetros teor de água, teor de lipídios e teor de cinzas.

Os frascos foram devidamente identificados, contendo no rótulo o nome da comparação interlaboratorial, a identificação numérica de cada frasco.

Cada participante recebeu 1 (uma) caixa de isopor, contendo os dois itens de comparação, devidamente lacrada e identificada. A caixa foi preenchida com gelo seco, para manter a integridade física dos itens de comparação durante o transporte aos participantes.

Cada participante foi orientado a, no ato do recebimento do item de comparação, realizar uma inspeção para verificar se houve algum dano que pudesse invalidar as medições e verificar se as amostras continuavam sob condições de refrigeração ou na temperatura ambiente. O resultado da inspeção foi registrado no formulário de recebimento de item de comparação. Após o recebimento, foi solicitado aos participantes que as amostras fossem armazenadas em seu recipiente original e protegidas da luz, não excedendo a temperatura de – 20 °C.

## **3. Caracterização do Item de Comparação**

A caracterização de um material de referência (MR) é a determinação de um ou mais valores de propriedades químicas, físicas, biológicas ou tecnológicas relevantes ao uso pretendido [2]. A forma de caracterização escolhida para este material foi à realização de medições envolvendo uma rede de laboratórios, ou seja, uma comparação interlaboratorial. Nesta comparação cada laboratório utilizou um método de medição de sua rotina.

Participaram desta comparação interlaboratorial 15 (quinze) laboratórios, incluindo o Laboratório de Análise Orgânica da Divisão de Metrologia Química do Inmetro.

Os participantes da CI utilizaram os métodos de medição de sua rotina conforme informado previamente ao Inmetro, sendo solicitado que todos os métodos de medição estivessem validados. Cada parâmetro foi analisado em duplicata verdadeira, e os resultados obtidos registrados no formulário de registro de resultados. A cada abertura do frasco para tomada de amostra, o laboratório analisou concomitantemente o parâmetro teor de água em duplicata verdadeira, registrando os resultados obtidos. Os laboratórios foram orientados que, quando possível, analisassem o parâmetro teor de água através dos métodos de perda por dessecação e por Titulação Karl Fischer Coulométrica. Contudo, somente um laboratório, além do Inmetro, conseguiu atender a esta solicitação.

Para cada laboratório participante foi solicitado que emitisse os resultados em base úmida e em base seca, assim como informasse o teor de água utilizado para a conversão do respectivo resultado de base úmida para base seca. Neste relatório estão informados somente os resultados obtidos em base seca, uma vez que estes é que serão utilizados na caracterização do candidato a material de referência certificado.

Os laboratórios realizaram os testes seguindo os métodos relacionados na Tabela 1.

Tabela 1 – Métodos utilizados pelos diferentes laboratórios participantes da etapa de caracterização do material de referência

<b>PARÂMETROS</b>	<b>MÉTODO</b>			
Teor de água	Perda por dessecação	Titulação Karl Fischer	Microondas	----
Teor de carboidratos totais	Lane-Eynon	Cálculo por Diferença	----	----
Teor de cinzas	Incineração (forno mufla)	----	----	----
Teor de lipídios	Roese-Gottlieb/Mojonnier	Hidrólise ácida (HCl) com posterior extração em Soxhlet com éter de petróleo	Gerber	Extração (não especificou o solvente)
Teor de proteínas	Sistema Kjeldahl	Nitrogênio total por combustão conforme o princípio de Dumas	----	

Os laboratórios preencheram um formulário com os resultados encontrados bem como as condições de análise e enviaram para a coordenação da comparação interlaboratorial.

#### **4. Requisitos do Sistema da Qualidade e Aderência ao Guia ABNT ISO Guia 34:2012**

Primeiramente foi realizada uma análise criteriosa das informações prestadas pelos laboratórios participantes no formulário de registros de resultados. Esta análise teve por objetivo identificar a situação dos laboratórios quanto a alguns requisitos do sistema da qualidade e verificar se os laboratórios atendem ao requisito 4.5.3 do guia ABNT ISO Guia 34:2012 que especifica que "...Para subcontratados que executam medições ou ensaios, as especificações devem incluir os requisitos conforme descritos na ABNT NBR ISO/IEC 17025..." Sendo assim, somente foram considerados aptos a terem os resultados incluídos na análise estatística desta CI os laboratórios que declararam, em cada parâmetro, o método de medição validado, o equipamento utilizado para a medição calibrado e a balança calibrada. Os laboratórios que no formulário de registros de resultados responderam "não" a pelo menos um destes requisitos foram considerados inaptos a participar da análise estatística.

As respostas "sim" ou "não" no formulário de registro de resultados às perguntas se o laboratório é acreditado para os ensaios realizados nesta CI na matriz fórmula infantil, ou em uma matriz similar, ou ainda se participou de um ensaio de proficiência (EP) no parâmetro em questão em matriz alimentícia, ou se utilizou, quando da realização das análises para esta CI, algum MR (material de referência), MRC (material de referência certificado) ou padrão, não foram consideradas como critério de decisão da inclusão ou não na análise estatística para o estabelecimento dos valores de propriedade. Estas respostas foram somente para se obter um perfil quanto a alguns requisitos da qualidade associados à determinação analítica. É importante ressaltar que o ABNT ISO Guia 34:2012 não considera como obrigatório os laboratórios que participam da determinação do valor de propriedade de um MR ou MRC serem acreditados, participarem de EP ou utilizarem um MR ou MRC como controle de qualidade, tais características são desejáveis e agregam valor e confiabilidade à determinação do material (principalmente o uso de um MRC), mas não são obrigatórias.

Os laboratórios que declararam o método como não validado, porém informaram terem utilizado uma metodologia normalizada, tendo explicitado a norma que foi utilizada, foram considerados aptos a terem os resultados incluídos na análise estatística desta CI.

Os laboratórios que utilizaram a metodologia de determinação por diferença na análise do parâmetro teor de carboidratos, foram avaliados, quanto ao atendimento ao requisito 4.5.3 do guia ABNT ISO Guia 34:2012, nas respostas informadas para os demais parâmetros.

Diante do exposto acima, estão listados a seguir os laboratórios que atenderam aos requisitos e compuseram a análise estatística para gerar o valor de propriedade de cada parâmetro do candidato a material de referência certificado na matriz fórmula infantil para lactentes:

- Teor de água: CI 03/03, CI 03/20, CI 03/23, CI 03/44, CI 03/45, CI 03/49, CI 03/52, CI 03/61 e CI 03/79.
- Teor de carboidratos: CI 03/26, CI 03/28, CI 03/39, CI 03/41, CI 03/51, CI 03/54, CI 03/58 e CI 03/70.
- Teor de cinzas: CI 03/14, CI 03/33, CI 03/50, CI 03/55, CI 03/68, CI 03/80, CI 03/84 e CI 03/97.
- Teor de lipídios: CI 03/15, CI 03/17, CI 03/30, CI 03/35, CI 03/40, CI 03/47, CI 03/57, CI 03/85 e CI 03/94.
- Teor de proteínas: CI 03/07, CI 03/08, CI 03/13, CI 03/22, CI 03/24, CI 03/38, CI 03/77, CI 03/89 e CI 03/98.

Os laboratórios apresentados a seguir atenderam aos requisitos do ABNT ISO Guia 34:2012, mas não fizeram parte da análise estatística porque utilizaram uma metodologia com princípio diferente da utilizada pelos demais laboratórios. Como somente um laboratório utilizou a referida metodologia para cada parâmetro, não foi possível realizar uma comparação entre o resultado obtido por esta metodologia e aqueles oriundos da metodologia utilizada pelos demais laboratórios.

- Teor de água: CI 03/12 e CI 03/93.

Estes laboratórios realizaram, respectivamente, as análises por micro-ondas e por titulação Karl-Fischer volumétrica. O Laboratório de Análise Orgânica do Inmetro (laboratório que participou desta CI e está identificado neste relatório como Inmetro) também determinou o parâmetro teor de água por titulação Karl Fischer coulométrica. Os resultados obtidos por esta técnica não compuseram a análise estatística desta CI.

- Teor de lipídios: CI 03/35 e CI 03/78. Estes laboratórios realizaram as análises, respectivamente, por procedimento direto de extração (sem hidrólise) e pelo método de Gerber.
- Teor de proteínas: CI 03/16: Este laboratório realizou a análise pelo método de nitrogênio total por combustão.

As Tabelas 2, 3, 4, 5, e 6 apresentam, para cada parâmetro, o percentual de respostas “sim”, “não” e “não responderam” fornecidas pelos laboratórios participantes às perguntas constantes do formulário de registro de resultados.



Tabela 2: Respostas dadas pelos laboratórios no formulário de registro de resultados para o parâmetro teor de água.

<b>Teor de água</b>	<b>% de respostas "sim"</b>	<b>% de respostas "não"</b>	<b>% "sem resposta"</b>
O laboratório é acreditado para este ensaio nesta matriz (fórmula infantil)?	35,71	64,29	0
O laboratório é acreditado em uma matriz similar à fórmula infantil?	71,43	28,57	0
O laboratório participou de algum EP no parâmetro em questão na matriz alimentícia?	71,43	21,43	7,14
O método está validado?	57,14	42,86	0
O equipamento/vidraria está calibrado (a) - em relação ao equipamento usado na medição da propriedade?	78,57	21,43	0
Algum MR, MRC ou padrão foi utilizado?	21,43	78,57	0
A balança está calibrada?	85,71	14,29	0

Tabela 3: Respostas dadas pelos laboratórios no formulário de registro de resultados para o parâmetro teor de carboidratos considerando a determinação pela metodologia de Lane-Eynon.

<b>Teor de carboidratos</b>	<b>% de respostas "sim"</b>	<b>% de respostas "não"</b>	<b>% "sem resposta"</b>
O laboratório é acreditado para este ensaio nesta matriz (fórmula infantil)?	20	80	0
O laboratório é acreditado em uma matriz similar à fórmula infantil?	60	40	0
O laboratório participou de algum EP no parâmetro em questão na matriz alimentícia?	40	40	20
O método está validado?	40	60	0
O equipamento/vidraria está calibrado (a) - em relação ao equipamento usado na medição da propriedade?	60	40	0
Algum MR, MRC ou padrão foi utilizado?	20	80	0
A balança está calibrada?	60	40	0

A Tabela 3 não contempla as respostas dadas pelos laboratórios que fizeram análise para o parâmetro teor de carboidratos pela metodologia de determinação por diferença, pois esta metodologia não é uma determinação analítica, sendo obtida pela diferença entre 100 e a soma dos resultados obtidos para os demais parâmetros. Desta forma, para o parâmetro teor de carboidratos pela metodologia de determinação por diferença, a aderência ao requisito 4.5.3 do ABNT ISO Guia 34:2012 foi feita considerando se a metodologia reportada pelo laboratório para os parâmetros analisados (demais parâmetros além do teor de carboidratos) estava ou não validada, ou se era proveniente de uma norma. Sendo assim, os sete laboratórios (100 %) foram considerados aptos a comporem a análise estatística desta CI.

Tabela 4: Respostas dadas pelos laboratórios no formulário de registro de resultados para o parâmetro teor de cinzas.

Teor de cinzas	% de respostas "sim"	% de respostas "não"	% "sem resposta"
O laboratório é acreditado para este ensaio nesta matriz (fórmula infantil)?	53,85	46,15	0
O laboratório é acreditado em uma matriz similar à fórmula infantil?	61,54	38,46	0
O laboratório participou de algum EP no parâmetro em questão na matriz alimentícia?	61,54	15,38	23,08
O método está validado?	61,54	38,46	0
O equipamento/vidraria está calibrado (a) - em relação ao equipamento usado na medição da propriedade?	69,23	30,77	0
Algum MR, MRC ou padrão foi utilizado?	23,08	76,92	0
A balança está calibrada?	92,31	7,69	0

Tabela 5: Respostas dadas pelos laboratórios no formulário de registro de resultados para o parâmetro teor de lipídios.

Teor de lipídios	% de respostas "sim"	% de respostas "não"	% "sem resposta"
O laboratório é acreditado para este ensaio nesta matriz (fórmula infantil)?	33,33	66,67	0
O laboratório é acreditado em uma matriz similar à fórmula infantil?	60	40	0
O laboratório participou de algum EP no parâmetro em questão na matriz alimentícia?	80	6,67	13,33
O método está validado?	73,33	26,67	0
O equipamento/vidraria está calibrado (a) - em relação ao equipamento usado na medição da propriedade?	60	40	0
Algum MR, MRC ou padrão foi utilizado?	26,67	73,33	0
A balança está calibrada?	93,33	6,67	0

Tabela 6: Respostas dadas pelos laboratórios no formulário de registro de resultados para o parâmetro teor de proteínas.

Teor de proteínas	% de respostas "sim"	% de respostas "não"	% "sem resposta"
O laboratório é acreditado para este ensaio nesta matriz (fórmula infantil)?	50	50	0
O laboratório é acreditado em uma matriz similar à fórmula infantil?	57,14	35,72	7,14
O laboratório participou de algum EP no parâmetro em questão na matriz alimentícia?	78,57	7,14	14,29
O método está validado?	57,14	35,72	7,14
O equipamento/vidraria está calibrado (a) - em relação ao equipamento usado na medição da propriedade?	64,29	35,71	0
Algum MR, MRC ou padrão foi utilizado?	35,71	64,29	0
A balança está calibrada?	92,86	7,14	0

## 5. Análise Estatística dos resultados reportados pelos Laboratórios Participantes

Os métodos estatísticos que constam no protocolo são os testes de Kolmogorov-Smirnov, Anderson-Darling, Shapiro-Wilk e Ryan-Joiner além do gráfico qq-plot (para avaliar a aderência dos dados à distribuição normal) e os testes de Dixon, Cochran e Grubbs, o critério de rejeição de Chauvenet e o gráfico de Box-Plot (para detectar a presença de valores dispersos (*outliers*)) [7-12].

Contudo, somente os gráficos [8] de Box-Plot e qq-plot foram utilizados, devido às especificidades dos dados, ou seja, devido à pequena quantidade de participantes os testes estatísticos de aderência não conseguem captar de forma adequada a aderência dos dados à normalidade; e ainda os métodos de detecção de *outliers* relacionados no protocolo são aplicáveis apenas se os dados provêm de uma distribuição normal.

Sendo assim, foram utilizados os seguintes métodos estatísticos: gráfico da densidade de Kernel [13] (para investigar a distribuição dos dados) e os métodos de Hampel, Tukey ajustado, regra da mediana [14] e o gráfico de Dotplot [8] (para detectar a presença de *outliers*).

Todos os conjuntos de dados apresentam desvios da normalidade para cada um dos parâmetros analisados. Este fato pode ser visualizado nos gráficos diagnósticos, sobretudo no qq-plot e na densidade de Kernel. É importante destacar, entretanto, que a inferência sobre a distribuição paramétrica dos dados pode ser prejudicada pela baixa quantidade de observações disponível. Diante do exposto, utilizou-se métodos não paramétricos (Hampel, Tukey ajustado e regra da mediana) para investigar a presença de *outliers*, pois estes métodos são mais adequados para pequenas amostras.

As Tabelas 7, 8, 9, 10 e 11 apresentam os resultados obtidos por todos os laboratórios participantes em cada um dos parâmetros desta CI. Assim como, as Figuras 1, 2, 3, 4 e 5 apresentam graficamente a análise estatística realizada para avaliar a distribuição dos resultados e a existência de *outliers*.

Os resultados estão expressos exatamente como reportados pelos laboratórios, sem ter sido feito qualquer arredondamento ou alteração nas casas decimais pela organização desta comparação interlaboratorial.

Alguns laboratórios analisaram todos, ou alguns, parâmetros nos dois frascos, de forma que não atenderam ao que foi solicitado no protocolo desta CI, ou seja, do Frasco 01 deveriam ser retiradas as amostras para as medições dos parâmetros teor de carboidratos e teor de proteínas e do Frasco 02, as amostras para as medições dos parâmetros teor de água, teor de lipídios e teor de cinzas.

Para estes casos, o comitê técnico desta CI considerou como resultado do laboratório aquele correspondente ao frasco que deveria ser utilizado para o respectivo parâmetro. É importante

ressaltar que, anteriormente à realização da CI, foi feita uma consulta aos laboratórios que demonstraram interesse prévio na participação, perguntando a estes se conseguiriam analisar todos os parâmetros em um único frasco, tendo a maioria respondido que não. Este fato direcionou o comitê técnico a optar pelo envio de dois frascos, dividindo-os por parâmetros.

Tabela 7: Resultados dos laboratórios para o parâmetro teor de água.

Código de identificação	Método analítico	Replicata1	Replicata2
CI 03/20	Perda por dessecação a 85 °C	1,7358	1,7281
CI 03/03	Perda por dessecação a 102 °C	1,9885	1,9256
CI 03/45 <sup>a</sup>	Perda por dessecação a 105 °C	2,62	2,68
CI 03/44	Perda por dessecação a 85 °C	1,4146	1,4329
CI 03/23	Perda por dessecação a 100 °C (uso de vácuo)	1,8693	1,7564
CI 03/61	Perda por dessecação a 102 °C	1,9157	1,8923
CI 03/79 <sup>a</sup>	Perda por dessecação a 70 °C (uso de vácuo)	0,91	0,98
CI 03/52	Perda por dessecação a 102 °C	2,0516	2,0544
CI 03/49	Perda por dessecação a 102 °C	2,03	2,11
Inmetro	Perda por dessecação a 105 °C	1,83647	1,80151
CI 03/82 <sup>b</sup>	Perda por dessecação a 105 °C	0,9041	0,9235
CI 03/29 <sup>b</sup>	Perda por dessecação a 105 °C	1,88	1,87
CI 03/93 <sup>b</sup>	Perda por dessecação a 105 °C	1,7662	1,7728
CI 03/34 <sup>b</sup>	Perda por dessecação a 102 °C	1,74	1,72
CI 03/12 <sup>c</sup>	Microondas	4,98	5,48
CI 03/93 <sup>c</sup>	Titulação karl Fischer volumétrica	1,4	1,4
Inmetro <sup>c</sup>	Titulação karl Fischer coulométrica	2,065434	2,05911

<sup>a</sup>Laboratórios cujos resultados foram considerados valores dispersos (*outliers*).

<sup>b</sup>Laboratórios que não atenderam ao requisito 4.5.3 do guia ABNT ISO Guia 34:2012.

<sup>c</sup>Laboratório que utilizou uma metodologia com princípio diferente da utilizada pelos demais laboratórios.

O laboratório CI 03/79 foi classificado como *outlier* pelos métodos de Hampel, Regra da mediana e Tukey ajustado. Já o laboratório CI 03/45 foi considerado *outlier* pelos métodos da Regra da mediana e Tukey ajustado.

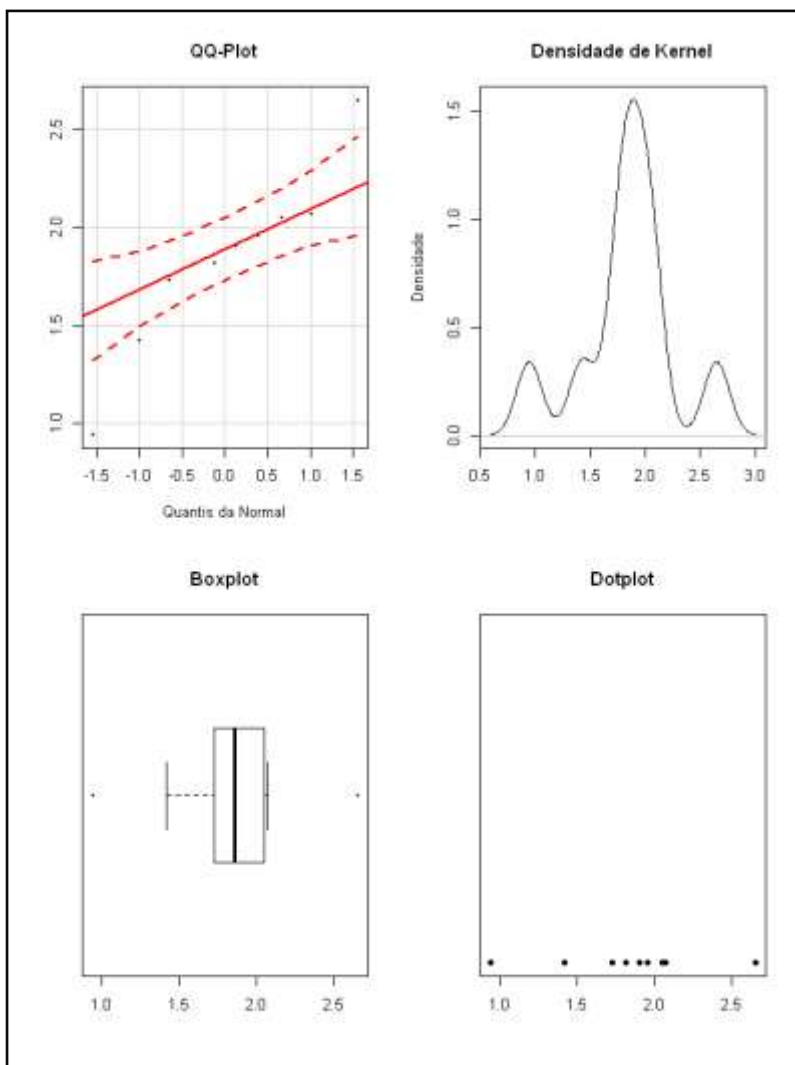


Figura 1: Representação gráfica da análise estatística para avaliar a distribuição e a presença de valores dispersos para o parâmetro teor de água. No eixo x dos gráficos de Densidade de Kernel, Boxplot e Dotplot estão os resultados encontrados pelos laboratórios.

Tabela 8: Resultados dos laboratórios para o parâmetro teor de carboidratos.

Código de identificação	Método analítico	Base seca	
		Replicata1	Replicata2
CI 03/51	Determinação por diferença	58,99	58,96
CI 03/70 <sup>a</sup>	Determinação por diferença	75	74
CI 03/41	Determinação por diferença	59,5772	59,6463
CI 03/54	Determinação por diferença	58,4073	58,5856
CI 03/58	Determinação por diferença	58,8969	58,9167
CI 03/26	Determinação por diferença	59,3324	59,3971
CI 03/28	Determinação por diferença	57,07	57,05
CI 03/41 <sup>a</sup>	Lane-Eynon	53,7924	52,7037
CI 03/39	Lane-Eynon	55,76	56,63
CI 03/54	Lane-Eynon	57,8851	57,8657
Inmetro	Lane-Eynon	60,77776	60,34114
CI 03/04 <sup>b</sup>	Lane-Eynon	58,8826	58,6635
CI 03/90 <sup>b</sup>	Lane-Eynon	59,6969	58,6596

O laboratório CI 03/70 foi classificado como *outlier* pelos métodos de Hampel, Regra da mediana e Tukey ajustado. Já o laboratório CI 03/41 (determinação por Lane-Eynon) foi considerado *outlier* pelos métodos de Hampel e Regra da mediana.

O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney [15] foi utilizado para avaliar se havia ou não diferença estatisticamente significativa entre os métodos de Lane-Eynon e Determinação por diferença. O resultado obtido foi de p igual a 0,2949, o que indica, sendo  $p > 0,05$ , que os resultados obtidos por ambas os métodos são estatisticamente equivalente e serão utilizados na determinação do valor de propriedade para o parâmetro teor de carboidratos.

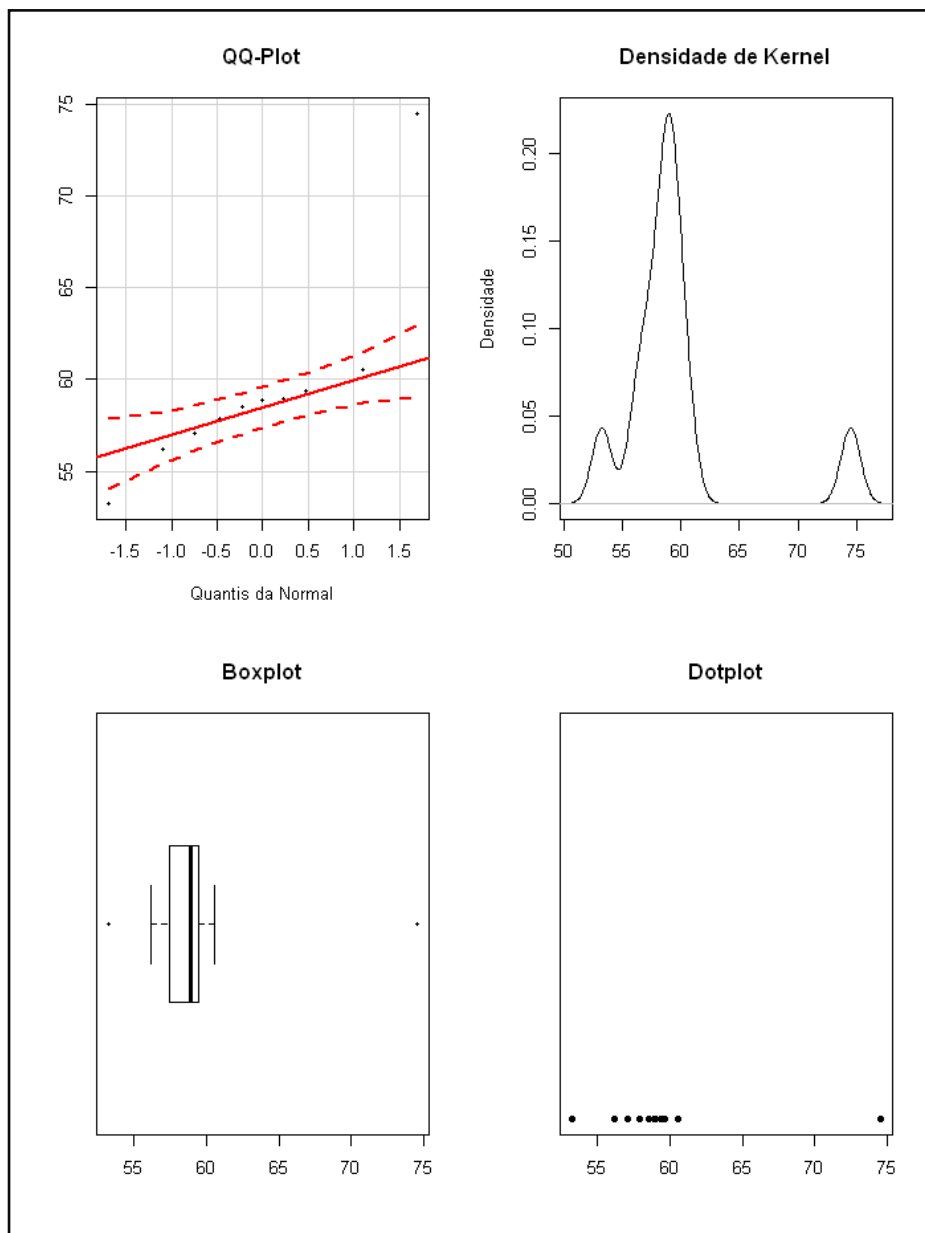


Figura 2: Representação gráfica da análise estatística para avaliar a distribuição e a presença de valores dispersos para o parâmetro teor de carboidratos. No eixo x dos gráficos de Densidade de Kernel, Boxplot e Dotplot estão os resultados encontrados pelos laboratórios.

Tabela 9: Resultados dos laboratórios para o parâmetro teor de cinzas.

Código de identificação	Método analítico	Base seca	
		Replicata1	Replicata2
CI 03/97	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,11	2,11
CI 03/68	Incinerção (forno mufla) a 402 °C	2,14	2,12
CI 03/55 <sup>a</sup>	Incinerção (forno mufla) a 525 °C	2,002	2,0604
CI 03/80	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,11	2,1
CI 03/33	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,0897	2,0801
CI 03/50 <sup>a</sup>	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,04	2,02
CI 03/14	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,1014	2,0889
CI 03/84	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,10	2,12
Inmetro	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,11473	2,08023
CI 03/02 <sup>b</sup>	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	1,9411	1,8897
CI 03/06 <sup>b</sup>	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,0315	2,0465
CI 03/10 <sup>b</sup>	Incinerção (forno mufla)	1,7773	1,7916
CI 03/60 <sup>b</sup>	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,0844	2,0832
CI 03/72 <sup>b</sup>	Incinerção (forno mufla) a 550 °C	2,1074	2,1148

<sup>a</sup>Laboratórios cujos resultados foram considerados valores dispersos (*outliers*).

<sup>b</sup>Laboratórios que não atenderam ao requisito 4.5.3 do guia ABNT ISO Guia 34:2012.

Os laboratórios CI 03/50 e CI 03/55 foram classificados como *outliers* pelos métodos de Hampel e Regra da mediana.

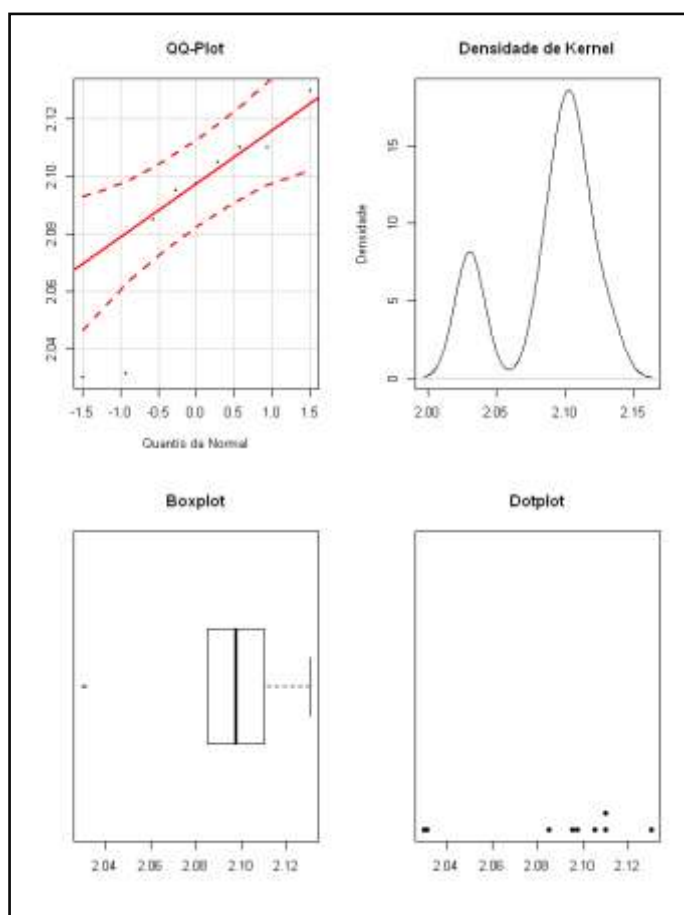


Figura 3: Representação gráfica da análise estatística para avaliar a distribuição e a presença de valores dispersos para o parâmetro teor de cinzas. No eixo x dos gráficos de Densidade de Kernel, Boxplot e Dotplot estão os resultados encontrados pelos laboratórios.

Tabela 10: Resultados dos laboratórios para o parâmetro teor de lipídios

Código de identificação	Método analítico	Base seca	
		Replicata1	Replicata2
CI 03/15	Roese-Gottlieb/Mojonnier	28,31	28,53
CI 03/47	Roese-Gottlieb/Mojonnier	28,3763	28,5314
CI 03/17	Roese-Gottlieb/Mojonnier	28,8582	28,8351
CI 03/57	Roese-Gottlieb/Mojonnier	28,6862	28,2982
CI 03/40	Roese-Gottlieb/Mojonnier	28,7763	28,7848
CI 03/85	Roese-Gottlieb/Mojonnier	28,3422	28,36
CI 03/94	Roese-Gottlieb/Mojonnier	28,96	28,99
CI 03/30 <sup>a</sup>	Hidrólise ácida (HCl) com posterior extração em Soxhlet com éter de petróleo	27,48	27,22
CI 03/57	Hidrólise ácida (HCl) com posterior extração em Soxhlet com éter de petróleo	28,6234	28,5424
Inmetro <sup>a</sup>	Hidrólise ácida (HCl) com posterior extração em Soxhlet com éter de petróleo	23,96917	24,34018
CI 03/37 <sup>b</sup>	Roese-Gottlieb/Mojonnier	24,9436	25,6158
CI 03/37 <sup>b</sup>	Hidrólise ácida (HCl) com posterior extração em Soxhlet com éter de petróleo	28,6557	28,6643
CI 03/83 <sup>b</sup>	Hidrólise ácida (não informou o ácido) com posterior extração em Soxhlet (não informou o solvente)	27,8200	27,9000
CI 03/95 <sup>b</sup>	Hidrólise ácida (HCl) com posterior extração em Soxhlet (não informou o solvente)	20,1998	20,2068
CI 03/35 <sup>c</sup>	Extração (não informou o solvente)	13,4	14,6
CI 03/78 <sup>c</sup>	Método de Gerber	31,1244	32,2547

<sup>a</sup> Laboratórios cujos resultados foram considerados valores dispersos (*outliers*).



<sup>b</sup> Laboratórios que não atenderam ao requisito 4.5.3 do guia ABNT ISO Guia 34:2012.

<sup>c</sup> Laboratório que utilizou uma metodologia com princípio diferente da utilizada pelos demais laboratórios.

Os laboratórios CI 03/30 e o Inmetro foram classificados como *outliers* pelos métodos de Hampel e Regra da mediana.

O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney [15] foi utilizado para avaliar se havia ou não diferença estatisticamente significativa entre os métodos de Extração em Soxhlet com hidrólise ácida prévia e Roese-Gottlieb/Mojonnier. O resultado obtido foi de  $p$  igual a 0,07211, o que indica, sendo  $p > 0,05$ , que os resultados obtidos por ambos os métodos são estatisticamente equivalentes e serão utilizados na determinação do valor de propriedade para o parâmetro teor de lipídios.

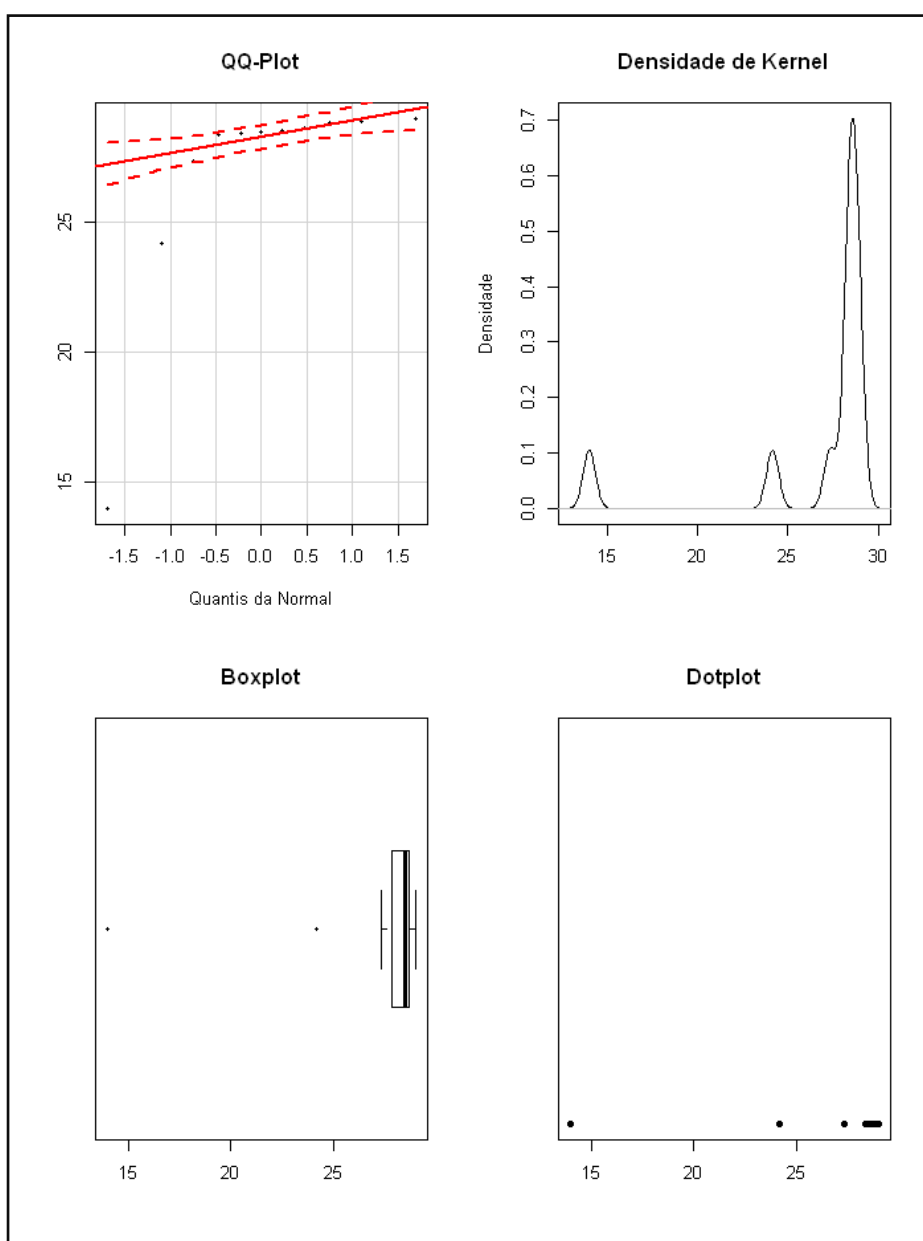


Figura 4: Representação gráfica da análise estatística para avaliar a distribuição e a presença de valores dispersos para o parâmetro teor de lipídios. No eixo x dos gráficos de Densidade de Kernel, Boxplot e Dotplot estão os resultados encontrados pelos laboratórios.

Tabela 11: Resultados dos laboratórios para o parâmetro teor de proteínas.

Código de identificação	Método analítico	Base seca	
		Replicata1	Replicata2
CI 03/77	Sistema Kjeldahl	9,44	9,38
CI 03/08	Sistema Kjeldahl	9,692	9,6965
CI 03/22	Sistema Kjeldahl	10,0342	10,2195
CI 03/89	Sistema Kjeldahl	10,17	10
CI 03/98 <sup>a</sup>	Sistema Kjeldahl	14,44	14,81
CI 03/24 <sup>a</sup>	Sistema Kjeldahl	11,2989	11,3898
CI 03/07	Sistema Kjeldahl	10,1978	10,0262
CI 03/13	Sistema Kjeldahl	10,21	10,02
CI 03/38	Sistema Kjeldahl	9,8401	9,8154
Inmetro	Sistema Kjeldahl	9,51516	9,640365
CI 03/11 <sup>b</sup>	Sistema Kjeldahl	9,3782	9,8566
CI 03/25 <sup>b</sup>	Sistema Kjeldahl	9,616	9,6342
CI 03/31 <sup>b</sup>	Sistema Kjeldahl	9,81	9,85
CI 03/69 <sup>b</sup>	Sistema Kjeldahl	10,1602	10,1649
CI 03/16 <sup>c</sup>	Nitrogênio total por combustão conforme o princípio de Dumas	9,8868	9,9665

<sup>a</sup>Laboratórios cujos resultados foram considerados valores dispersos (*outliers*).

<sup>b</sup>Laboratórios que não atenderam ao requisito 4.5.3 do guia ABNT ISO Guia 34:2012.

<sup>c</sup>Laboratório que utilizou uma metodologia com princípio diferente da utilizada pelos demais laboratórios.

O laboratório CI 03/98 foi classificado como *outlier* pelos métodos de Hampel, Regra da mediana e Tukey ajustado. Já o laboratório CI 03/24 foi considerado *outlier* pelos métodos da Regra da mediana e Tukey ajustado.

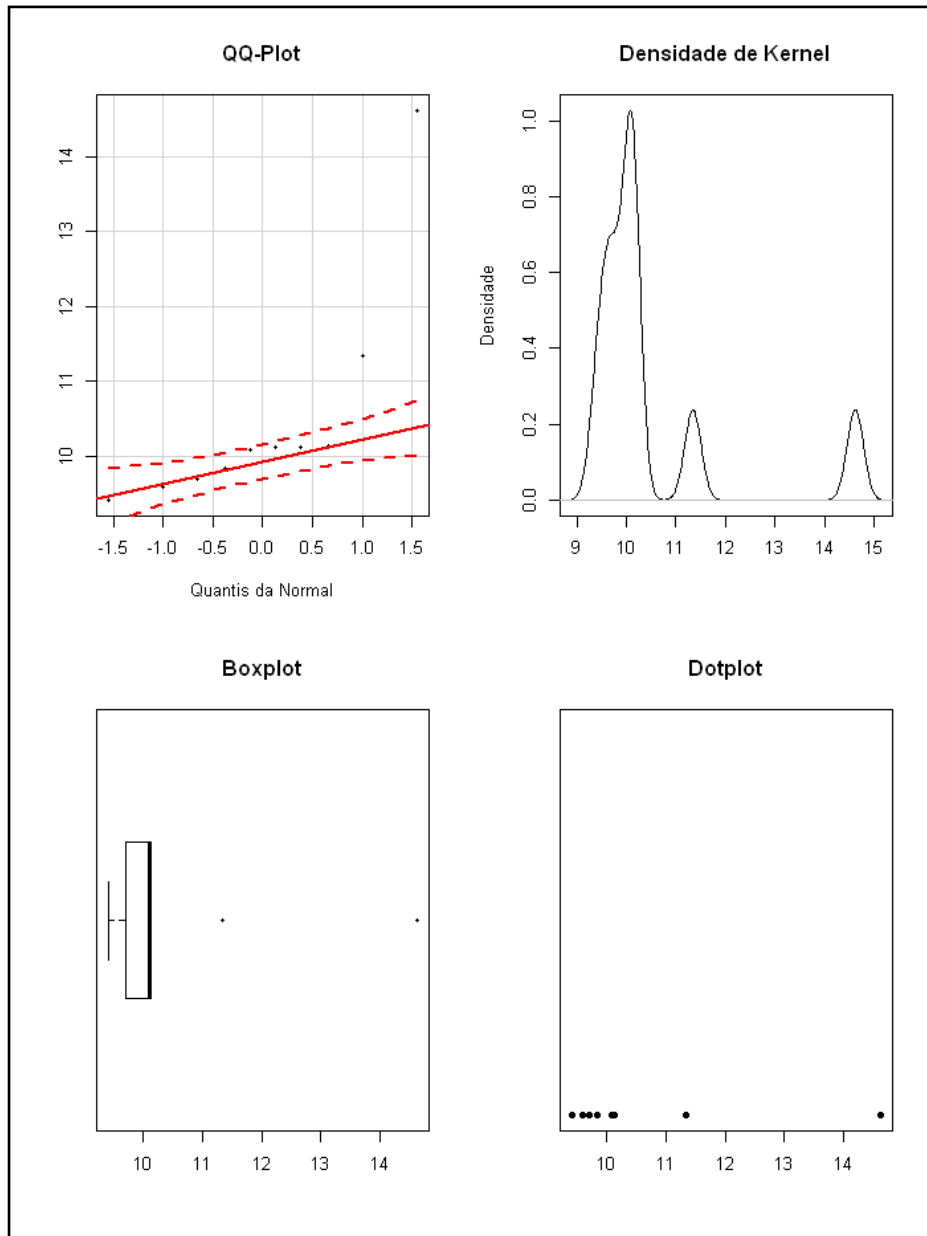


Figura 5: Representação gráfica da análise estatística para avaliar a distribuição e a presença de valores dispersos para o parâmetro teor de proteínas. No eixo x dos gráficos de Densidade de Kernel, Boxplot e Dotplot estão os resultados encontrados pelos laboratórios.

## 6. Valores de propriedade do candidato a MRC

Após a definição dos laboratórios cujos resultados foram considerados válidos para serem utilizados no cálculo dos valores de propriedade do candidato a MRC objeto desta comparação, a próxima etapa foi calcular o valor de propriedade para cada parâmetro e a respectiva incerteza.

O valor de propriedade de cada parâmetro foi calculado conforme a Equação 1

$$\bar{Y} = \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p Y_i \quad (1)$$

Onde:

$\bar{Y}$  média global obtida dos participantes, após a avaliação estatística.

$Y_i$ : média do i-ésimo participante, após a avaliação estatística.

$p$ : número de laboratórios utilizados no cálculo do valor de propriedade.

A contribuição de incerteza inerente à caracterização do material foi calculada com base no desvio padrão ( $s$ ) associado à média global, conforme apresenta a Equação 2:

$$u_{car} = \frac{s}{\sqrt{p}} \quad (2)$$

Onde,  $u_{car}$  é a contribuição de incerteza inerente à caracterização.

O desvio padrão ( $s$ ) foi calculado conforme a Equação 3:

$$s^2 = \frac{1}{p-1} \sum_{i=1}^p (Y_i - \bar{Y})^2 \quad (3)$$

A Tabela 12 apresenta o valor de propriedade com sua respectiva incerteza padrão ( $u_{car}$ ) para os parâmetros teor de água, teor de carboidratos, teor de cinzas, teor de lipídios e teor de proteínas.

Tabela 12: Valores de propriedade e contribuição da incerteza inerente à caracterização do candidato a MRC na matriz fórmula infantil para lactentes.

Parâmetro	Valor de propriedade (g/100 g amostra)	Contribuição da incerteza inerente à caracterização ( $u_{car}$ ) (g/100 g amostra)
Teor de água	1,846	0,073
Teor de carboidratos	58,56	0,45
Teor de cinzas	2,1046	0,0054
Teor de lipídios	28,613	0,080
Teor de proteínas	9,87	0,10

É importante ressaltar que a incerteza padrão ( $u_{car}$ ) apresentada na Tabela 12 é uma incerteza não expandida e que a incerteza padrão combinada de um material de referência é a combinação das contribuições das seguintes fontes de incerteza: incerteza inerente à caracterização do material, incerteza inerente à heterogeneidade da amostra, incerteza inerente à estabilidade do material sob condições de transporte e incerteza inerente à estabilidade do material sob condições de

armazenamento. Sendo assim, a incerteza padrão ( $u_{car}$ ) reflete, para cada parâmetro, somente a contribuição da etapa de caracterização do material, atingindo o objetivo desta CI.

## **7. Confidencialidade**

Cada participante recebeu, via e-mail seus códigos de identificação correspondentes à sua participação na CI, que são conhecidos somente pelo próprio participante e pela coordenação da CI. Estes códigos foram utilizados como identificação do participante no preenchimento do formulário de registro de resultados. Os resultados poderão ser utilizados em trabalhos e publicações pelo Inmetro, respeitando-se a confidencialidade de cada participante.

Conforme estabelecido no item 4.10.4 da ABNT ISO/IEC 17043:2011, em circunstâncias excepcionais, uma autoridade reguladora pode requerer os resultados e a identificação dos participantes da CI ao provedor. Se isto ocorrer, o provedor notificará esta ação aos participantes.

## **8. Conclusões**

Esta comparação interlaboratorial atingiu o seu propósito de estabelecer valores de propriedade para o candidato a material de referência certificado de fórmula infantil para lactentes nos parâmetros teor de água, teor de carboidratos totais, teor de cinzas, teor de lipídios e teor de proteínas, atendendo aos requisitos do ABNT ISO Guia 34:2012.

Apesar do propósito desta comparação não ser a avaliação da proficiência dos laboratórios, cabe a cada laboratório participante realizar uma análise crítica de seu desempenho face os critérios e a análise estatística utilizada. É importante ressaltar que, os laboratórios que não atenderam ao requisito 4.5.3 do guia ABNT ISO Guia 34:2012 não foram avaliados estatisticamente de forma comparativa com os demais laboratórios. Contudo, especialmente os laboratórios CI 03/12 e CI 03/93 no parâmetro teor de água e o laboratório CI 03/35 no parâmetro teor de lipídios, apresentaram resultados visualmente discrepantes em relação aos demais laboratórios.

O percentual de respostas “sim” no formulário de registro de resultados para as perguntas que foram consideradas critério de aderência ao ABNT ISO Guia 34:2012 foi superior a 60 %, excetuando-se aquele fornecido para a pergunta se o método era validado na determinação do teor de carboidratos pela metodologia de Lane-Eynon, que foi de 40 %. Contudo, para esta metodologia, um dos laboratórios que respondeu “não” a esta pergunta, declarou utilizar uma metodologia normalizada e, portanto, foi considerado apto a participar da análise estatística. O percentual acima de 60 % ainda não é considerado um percentual ótimo, porém, reflete ao menos, que a maioria dos laboratórios participantes possui metodologia validada, equipamentos e balanças calibradas. Em relação à calibração das balanças, mais de 85% dos laboratórios declararam terem utilizado balanças calibradas, sendo este critério o de maior percentual de respostas “sim”.

A caracterização de um material candidato a MRC é somente uma etapa na certificação do material. Após esta etapa ainda é preciso definir a estabilidade dos parâmetros em estudo e, o material somente poderá ser certificado no parâmetro que se apresentar estável durante o estudo de certificação do candidato a MRC.

Finalizando, o Inmetro, na figura do comitê técnico e de organização desta CI, agradece aos laboratórios que participaram desta comparação interlaboratorial, o que tornou possível a conclusão da etapa de caracterização do projeto de certificação deste candidato a MRC.

## 9. Participantes

A lista dos laboratórios que participaram da comparação interlaboratorial utilizada para a etapa de caracterização deste candidato à MRC estão descritos na Tabela 13.

Tabela 13–Participantes da CI.

<b>Instituição</b>	
1.	Bioagri Análise de Alimentos Ltda. Laboratório Físico – químico.
2.	Embrapa Agroindústria de Alimentos. Laboratório de Físico-química.
3.	Fundação Ciência e Tecnologia (CIENTEC). Laboratório de Química de Alimentos.
4.	IBERPHARM Laboratórios do Brasil Ltda.
5.	Instituto Adolfo Lutz. Núcleo de Química, Física e Sensorial – Centro de Alimentos.
6.	Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI). INTI-Lácteos PTM – Laboratorio de Ensayos Físicos y Químicos.
7.	Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI). INTI-Lácteos– Laboratorio Materiales de Referencia.
8.	Labor Três. Laboratórios e Consultoria Técnica Ltda.
9.	Laboratório Analítico de Alimentos e Bebidas (UFRRJ) – LAAB-RURAL.
10.	Laboratório Tecnológico Del Uruguay (LATU).
11.	Nestlé Brasil Ltda. Nestlé Quality Assurance Center.
12.	Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI). Provedor de Ensaio de Proficiência – PEP Senai/SC LANAL.
13.	Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI). Metrologia Química e Volumétrica – Senai/BA.
14.	TÜV SÜD SFDK Laboratório de Análise de Produtos Ltda.
15.	Laboratório de Análise Orgânica (Labor/Dquim/Inmetro)

Total de participantes: 15 laboratórios.

## **10. Referências Bibliográficas**

- [1] ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011, Avaliação da conformidade – Requisitos gerais para ensaio de proficiência.
- [2] ISO Guide 30:2015, Reference materials - Selected terms and definitions.
- [3] ABNT NBR 17025:2005, Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração, 2ª Edição, 2005.
- [4] ISO Guide 31:2015, Contents of certificates, labels and accompanying documentation.
- [5] ABNT ISO GUIA 34:2012, Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência.
- [6] ABNT ISO GUIA 35:2012, Materiais de referência – Princípios gerais e estatísticos para certificação.
- [7] Razali, N. M. and Wah, Y. B. (2011) Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. *Journal of Statistical Modeling and Analytics*,2(1): 21-33.
- [8] R. McGill, J. W. Tukey and W. A. Larsen (1978) *Am. Stat.*, 32(1), 12.
- [9] R. B. Dean and W. J. Dixon (1951) "Simplified Statistics for Small Numbers of Observations". *Anal. Chem.*, 1951, 23 (4), 636–638.
- [10] W.G. Cochran, The distribution of the largest of a set of estimated variances as a fraction of their total, *Annals of Human Genetics (London)* 11(1), 47–52.
- [11] Grubbs, Frank E. (1950). "Sample criteria for testing outlying observations". *Annals of Mathematical Statistics* 21 (1): 27–58.
- [12] Chauvenet, William. *A Manual of Spherical and Practical Astronomy V. II.* 1863. Reprint of 1891. 5th ed. Dover, N.Y.: 1960. pp. 474–566.
- [13] Rosenblatt M (1956) Remarks on some nonparametric estimates of a density function. *Ann Math Stat* 27(3):832–837.
- [14] *Robust Statistics - The Approach Based on Influence Functions*, Frank R. Hampel, Elvezio M. Ronchetti, Peter J. Rousseeuw and Werner A. Stahel, Wiley, 1986 (republished in paperback, 2005).
- [15] Wilcoxon, Frank (1945). "Individual comparisons by ranking methods". *Biometrics Bulletin* 1 (6): 80–83.
-



Programa de Ensaio de Proficiência do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia - PEP-Inmetro  
Av. Nossa Senhora das Graças, 50 - Xerém - Duque de Caxias - RJ - Brasil CEP: 25250-020  
Tel/Fax: +55 21 2679-9745 - [www.inmetro.gov.br](http://www.inmetro.gov.br) - E-mail: [pep-inmetro@inmetro.gov.br](mailto:pep-inmetro@inmetro.gov.br)