

Avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade de métodos de proteína bruta: estudo colaborativo

Repeatability and reproducibility evaluation of methods of crude protein: collaborative study

Gilberto Batista de Souza¹, Roberto J. Y. Fujieda², Carla Carraro³

¹ Embrapa Pecuária Suadeste – São Carlos – SP; ² Cargill Alimentos – Unidade Itapira – SP;

³ BRF – Jundiá – SP.

E-mail: gilberto.souza@embrapa.br

Resumo: Por meio de um estudo colaborativo interlaboratorial foram avaliadas a precisão sob condições de repetibilidade e de reprodutibilidade dos métodos de análise de proteína bruta (PB) Kjeldahl, Dumas e NIRS. Foram realizadas análises de PB em amostras de milho (A), farelo de trigo (B), ração (C), farelo de soja (D), farinha de vísceras (E) e hemoglobina (F). Observou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) no teor de PB entre os métodos avaliados. O método de NIRS foi o que apresentou menores valores de r e R a exceção para a matriz B e A respectivamente.

Palavras-chave: repetibilidade; reprodutibilidade; proteína bruta

Abstract: Through a collaborative interlaboratory study, we evaluated the precision under repeatability and reproducibility conditions of crude protein (CP) methods Kjeldahl, Dumas and NIRS. The CP analysis were carried out on maize samples (A), wheat meal (B), feed (C), soybean meal (D), poultry meal (E), and hemoglobin (C). It was observed that there was no significant difference ($p > 0.05$) in CP content between the evaluated methods. The NIRS method showed the smallest r and R values, the exception were the matrix B and A respectively.

Keywords: repeatability, reproducibility, crude protein.

1. INTRODUÇÃO

A Comissão de Métodos Analítico (CMA) do Sindicato da Indústria de Alimentação Animal (Sindirações) é um comitê com a participação de representantes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), indústrias de alimentação animal, laboratórios comerciais, universidades e centros de pesquisas que

desenvolvem métodos de análise para avaliação da qualidade de matérias primas e produtos acabados. Esse comitê é responsável pela elaboração e atualização dos métodos analíticos que fazem parte do Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (CBAA).

A seleção e o desenvolvimento de métodos de análise têm sido tradicionalmente um assunto de

grande importância para os laboratórios de análises. Possivelmente, essa maior ênfase é devida a maioria das organizações, sejam elas governamentais ou organismos de normalização internacionais, que trabalham no desenvolvimento de métodos de análises para incorporá-las em legislação ou normas internacionais, não têm qualquer mecanismo para avaliar quão bem tais métodos estão sendo aplicadas [1].

Nos últimos anos, os laboratórios analíticos vêm usando comparações interlaboratoriais para o controle externo da qualidade. Além desse papel, programas interlaboratoriais podem ser usados como uma alternativa para avaliar requisitos de qualidade, tais como precisão [2,3].

Precisão, segundo VIM [4], é “Grau de concordância entre indicações ou valores medidos, obtidos por medições repetidas, no mesmo objeto ou em objetos similares, sob condições especificadas” sendo normalmente expressa em termos de valores de repetibilidade e reprodutibilidade [1].

Com base em um modelo de comparação interlaboratorial, a CMA conduziu um estudo com o objetivo de avaliar os índices de repetibilidade (r) e de reprodutibilidade (R) para determinação de proteína bruta/nitrogênio total pelos métodos Kjeldahl, Dumas e Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIRS) em matrizes utilizadas na indústria de alimentação animal.

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os tipos de matrizes selecionadas para o estudo colaborativo foram milho moído, farelo de trigo, ração para bovinos, farelo de soja, farelo de vísceras e hemoglobina. As amostras foram preparadas pelos participantes, seguindo critério de preparo de amostras definidos pela comissão, amostras com granulometria passante em peneira de abertura de malha de 0,5 mm.

A participação foi voluntária sendo que para amostras de milho (A) e de farelo de trigo (B) participaram 14 laboratórios; para amostra de ração (C) participaram 12 laboratórios; farelo de soja (D) participaram 13 laboratórios e para as amostras de farinha de vísceras (E) e hemoglobina (F) participaram 7 laboratórios.

A distribuição das amostras foi periódica, seguindo o cronograma das reuniões da CMA que ocorre a cada dois meses. Cada participante recebeu um frasco contendo 100 g de amostra para a realização das análises de proteína bruta. Os métodos avaliados foram de acordo com o CBAA: Dumas [5], Kjeldahl [6-7], e NIRS [8].

Dentre as normas do ensaio colaborativo para a determinação dos valores dos índices r e R foram definidos: código para cada laboratório; cronograma para envio dos resultados; realização de sete replicatas para cada laboratório, tipos de matriz e métodos; uma planilha padrão em Excel[®] para envio dos resultados para a coordenação.

Os valores de r e R para cada matriz foram calculados conforme descrito no documento DOQ-CGCRE-008 [9] e segundo Chui e colaboradores [10]. Dessa forma, para o cálculo de r foi utilizado o valor da variância calculada para cada laboratório sob condições de repetibilidade. Para o cálculo de R foi utilizada análise de variância de fator único (ANOVA) para estimar as variâncias entre os laboratórios e dentro do laboratório, as quais são empregadas para calcular a variância de reprodutibilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentados os valores médios da porcentagem de proteína bruta por método e tipo de matriz. Observa-se que a realização do ensaio colaborativo contemplou uma ampla faixa de concentração de proteína bruta considerando seis tipos de matriz diferentes. Após a realização de ANOVA de fator único observou-se que não

houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) considerando-se a média dos laboratórios por método de análises. Para matriz hemoglobina (F) não foi possível aplicar ANOVA, no entanto, os valores médios para os três métodos estão coerentes com o a literatura [11].

Tabela 1. Teores médios de proteína bruta sob condições de repetibilidade.

Matriz	Kjeldhal	Dumas	NIRS	F Crítico	F	$p > 0,05$
A	7,77	7,82	7,63	2,67	0,43	0,661
B	14,77	15,09	14,74	2,57	2,53	0,103
C	19,08	19,16	19,55	2,64	0,90	0,427
D	44,60	45,20	44,91	3,49	1,49	0,265
E	63,84	65,07	64,22	3,89	2,31	0,142
F	90,22	92,39	90,10	-	-	-

A= Milho; B= Farelo de trigo; C= Ração Bovinos; D= Farelo de Soja; E= Farelo de vísceras; F= Hemoglobina

Na tabela 2 são apresentados os valores dos índices de repetibilidade (r), valores médios de todos os laboratórios. Para análise de proteína bruta considerando os seis tipos de matrizes e os três métodos avaliados, observa-se que os valores de r obtidos pelos laboratórios com o método NIRS foram inferiores aos valores de Dumas e Kjeldhal, sugerindo maior precisão para o método NIRS sob condições de repetibilidade.

Tabela 2. Média dos laboratórios dos valores dos índices de repetibilidade.

Método	A	B	C	D	E	F
Kjeldhal	0,42	0,40	0,48	0,66	0,67	0,79
Dumas	0,18	0,19	0,44	0,43	1,16	0,91
NIRS	0,12	0,22	0,26	0,25	0,28	0,16

A= Milho; B= Farelo de trigo; C= Ração Bovinos; D= Farelo de Soja; E= Farelo de vísceras; F= Hemoglobina

Na tabela 3 são apresentados os valores dos índices de reprodutibilidade (R) para cada matriz e para cada método de análise. Por meio dos valores de R observa-se que apenas para a matriz milho (A) o método Dumas apresentou o valor de R inferior ao método NIRS. Para as matrizes B, C, D, E e F o valor de R foi menor para o método NIRS o que sugere maior precisão quanto a

reprodutibilidade entre os laboratórios participantes do estudo de comparação interlaboratorial.

Tabela 3. Valores dos índices de reprodutibilidade.

Matriz	KJ	Dumas	NIRS
A	0,46	0,20	0,25
B	0,57	0,52	0,33
C	0,59	0,48	0,40
D	0,81	0,66	0,51
E	2,41	1,04	0,67
F	2,03	1,06	0,33

A= Milho; B= Farelo de trigo; C= Ração Bovinos; D= Farelo de Soja; E= Farelo de vísceras; F= Hemoglobina

4. CONCLUSÃO

Por meio do estudo colaborativo, é possível concluir que os teores de proteína bruta são comparáveis entre os três métodos avaliados (Kjeldahl, Dumas e NIRS), pois não apresentaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Ainda, em termos de precisão dos métodos sob condições de repetibilidade e condições de reprodutibilidade é possível concluir que o método Kjeldhal foi menos preciso, pois, para todos os tipos de matrizes apresentou índices de R maior, e índice r maior para as matrizes A, B, C e D, quando comparado com os métodos Dumas e NIRS.

5. REFERÊNCIAS

- [1] Wood, R. How to validate analytical methods. Food Contaminants Division, Joint Food Safety and Standards Group, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, c/o Institute of Food Research, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UQ, UK, *Trends in analytical chemistry*, vol. 18, nos. 9+10, p. 624-632, 1999.
- [2] Daille, R.; Maetz, P.; *J. Accred. Qual. Assur.*, 11, 8. 2006.

- [3] Chui, Q. S. H.; Barros, C. B.; Silva, T. D.; Parâmetros r e R obtidos de programa interlaboratorial - como usá-los. Laboratório de Metrologia Química, Universidade São Francisco, Rua Alexandre Rodrigues Barbosa, 45, 13250-901 Itatiba – SP, Brasil. *Quim. Nova*, Vol. **32**, No. 8, 2209-2213, 2009.
- [4] Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos fundamentais e gerais de termos associados (**VIM 2012**). Duque de Caxias, RJ: *INMETRO*, 2012. 94p.
- [5] CBAA, Método nº 45 - Proteína - Método Dumas. *Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal*, p 168-170, 2013.
- [6] CBAA, Método nº 46 - Proteína Bruta - Método Kjeldahl Recebimento em Ácido Bórico. *Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal*, p 171-179, 2013.
- [7] CBAA, Método nº 47 - Proteína Bruta - Método Kjeldahl Recebimento em Ácido Sulfúrico. *Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal*, p 180-189, 2013.
- [8] CBAA, Método nº 11 - Espectrofotometria de Reflectância no Infravermelho Próximo (NIR). *Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal*, p 40-41, 2013.
- [9] INMETRO. Orientações sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo: *DOQ-CGCRE-008: revisão 04-jul/2011*. Rio de Janeiro, 2011.
- [10] Chui, Q. S. H.; Antonoff, H. B.; Olivieri, J. C.; *Quim. Nova*, **25**, 657. 2002.
- [11] CBAA, Matérias-primas - Sangue. *Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal*, p 60, 2013.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a comissão de métodos analíticos pelo desempenho e dedicação no levantamento dos dados utilizados nesse estudo e ao Sindirações por facilitar as atividades desse grupo.