

MATERIAL DE REFERENCIA DE LECHE EN POLVO Y SU EMPLEO EN RONDAS INTERLABORATORIALES PARA ALIMENTOS: HOMOGENEIDAD E INCERTIDUMBRE



Calderón, B.^[1]; Molina, G.^[1]; Lois, M.^[2]; Vargas, A.^[2] & Soto, J.^[1]

^[1] Laboratorio Costarricense de Metrología (LACOMET), Ciudad de la Investigación, Sede Universitaria Rodrigo Facio, San José, Costa Rica. Tel: (506) 2283-6580. Fax: (506) 2283-5133. email: bcalderon@lacomet.go.cr, gmolina@lacomet.go.cr

^[2] Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), Universidad de Costa Rica, Sede Universitaria Rodrigo Facio, San José, Costa Rica. Tel: (506) 2511-7217. Fax: (506) 2253-3762. email: pridaa.cita@ucr.ac.cr

Introducción

La necesidad de contar con mediciones confiables es una premisa fundamental del desarrollo económico y comercial mundial en la actualidad. El aseguramiento de la calidad, en términos de su confiabilidad y veracidad, es un requisito de competitividad para cualquier empresa que desee participar en un mercado cada vez más globalizado y más exigente respecto al cumplimiento de requisitos. En el caso de un laboratorio, una de las formas más utilizadas para lograr la demostración objetiva de su competencia para realizar un análisis o calibración es la obtención de resultados satisfactorios en ensayos de aptitud.

Las evaluaciones realizadas en los ensayos de aptitud consisten en una comparación de los resultados de los laboratorios con una referencia aceptada, por lo que la confiabilidad de dicha referencia debe ser garantizada. Por esta razón, los materiales de referencia, utilizados y distribuidos en rondas de intercomparación, necesitan ser suficientemente homogéneos, de acuerdo a los requerimientos de las normativas internacionales (ISO 17043:2010⁽¹⁾ e ISO 13528:2005⁽²⁾). Esto quiere decir que la varianza de la composición analizada de las porciones del material entregado debe ser estrictamente pequeña en relación con la varianza de los resultados analíticos producidos cuando el material es analizado por los laboratorios participantes de la ronda.

En esta investigación, se preparó un candidato a material de referencia en leche en polvo para ser implementado en el PRIDAA y con esto evaluar el desempeño de los laboratorios nacionales e internacionales de la región. El material de referencia se sometió a un proceso de certificación de homogeneidad en los parámetros de Fe y Ca utilizando los lineamientos de la Guía ISO 35⁽³⁾ y la norma ISO 13528:2005.

Resultados

1) Validación de los métodos. La validación de los métodos proporcionó los parámetros del desempeño mostrados en el cuadro 1 y en la figura 1, los cuales cumplen con los requisitos de repetibilidad de IUPAC⁽⁴⁾ para su uso en ensayos de aptitud.

Cuadro 1. Parámetros del desempeño de las validaciones de los métodos utilizados para las mediciones de Ca y Fe en leche en polvo.

Metal	r (adim)	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)	RSD (%)	R (%)
Fe	1,00	0,004	0,012	1,0	99
Ca	1,00	0,02	0,06	1,0	97

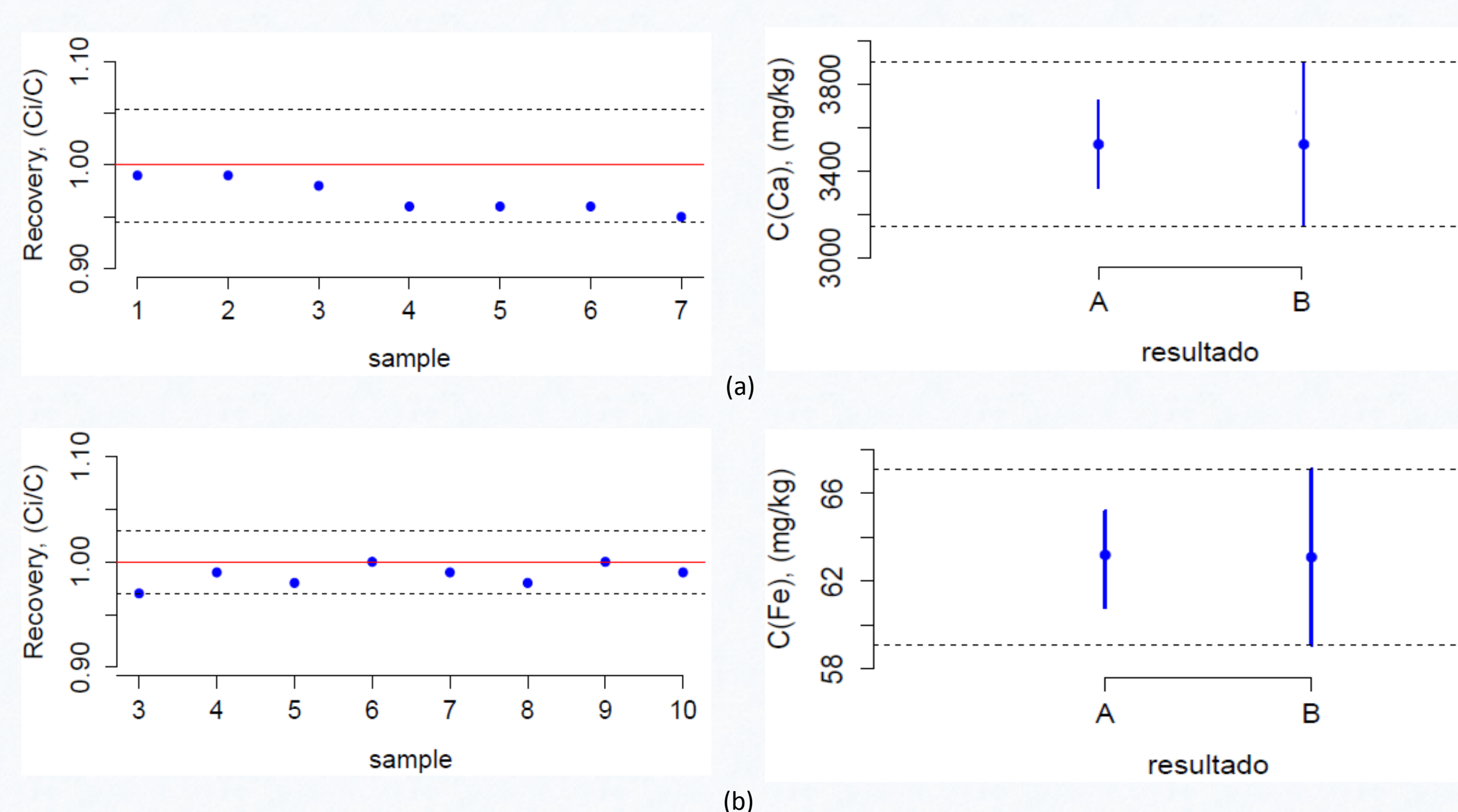


Figura 1. Recuperación de los métodos utilizados y comparación del valor reportado por el MRC NIST 1846 y el valor obtenido experimentalmente para las mediciones de Ca (a) y Fe (b) en leche en polvo.

3) Incertidumbre por homogeneidad entre botellas. Las incertidumbres por homogeneidad entre botellas (u_{bb}) para cada una de las concentraciones se muestran en el cuadro 3, así como su relación porcentual con respecto a una desviación típica de una ronda interlaboratorial (σ_p) del PRIDAA para estas mediciones.

Conclusiones

- 1) Estadísticamente, ambos parámetros se consideran homogéneos en el material, de acuerdo con los lineamientos de la Guía ISO 35.
- 2) Es necesario considerar la incertidumbre por homogeneidad del material en las muestras de Ca para evitar sobreestimaciones en los criterios de evaluación de los participantes.
- 3) En matrices complejas, como los alimentos, se debe evaluar la homogeneidad del parámetro de interés y su aporte de incertidumbre, para un ensayo de aptitud.

Referencias

- (1) INTE ISO/IEC 17043:2010. *Evaluación de la conformidad – Requisitos generales para los ensayos de aptitud.*
 (2) ISO 13528:2005. *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.*

Metodología

Inicialmente se validaron los métodos utilizando el MRC 1846 NIST, una fórmula infantil que posee certificadas sus concentraciones de Fe y Ca, entre otros. Para esta validación, se estimaron parámetros estadísticos como el r de la recta de calibración, los límites LOD y LOQ del método, la repetibilidad por medio del RSD y la recuperación del método. En el caso de la repetibilidad, se comparó con los requisitos de la IUPAC en ensayos de aptitud.

Posteriormente, se produjo el material de referencia a partir de una leche en polvo comercial (spray dried, 100 g). Para evaluar la homogeneidad, se tomaron de manera aleatoria 10 bolsas del material y éstas se subdividieron en dos partes iguales. De éstas se extrajeron 5,00 g, aproximadamente, para cada parámetro a medir. Es decir, 20 muestras para la medición de Fe y 20 muestras para la medición de Ca.

Seguidamente, todas las muestras fueron sometidas a una calcinación a 550 °C durante 16 h, a una digestión ácida utilizando HCl (G.R.) y a un ligero calentamiento durante 5 min. Para el caso del Fe, se extrajo una alícuota de esta disolución y se le adicionó un buffer NaOAc/HOAc, hidroxilamina y 1,10-Ofenantrolina. Luego del respectivo aforo, se realizó la medición de Fe de las muestras mediante un espectrofotómetro en rango UV-visible. Para el caso de las mediciones de Ca, se extrajo una alícuota de esta disolución y se puso en contacto con una resina iónica tipo III durante 1 h. Luego de filtrar y del respectivo aforo, se adicionaron La₂O₃ y KCl al 10 %, y se pasó a realizar la medición de Ca de las muestras mediante un espectrofotómetro de absorción atómica con llama.

Por último, los datos fueron introducidos en una hoja de cálculo validada donde fueron sometidos a las pruebas de Cochran⁽²⁾, bondad de ajuste Kolmogorov-Smirnov y una análisis de varianza de un factor. A partir de estos resultados, se les realizó una prueba F⁽³⁾ para determinar la homogeneidad de las muestras y la incertidumbre entre botellas de acuerdo con la Guía ISO 35.

2) Evaluación de la homogeneidad. La aplicación de la prueba de bondad de ajuste Kolmogorov-Smirnov para una distribución normal resultó positiva para ambos casos (figura 2). Además, la prueba de Cochran no reveló la presencia de muestras con desviaciones anómalas (figura 2). El ANOVA de un factor utilizado para la evaluación de la homogeneidad del material concluyó que no existe evidencia estadística para considerarlo heterogéneo (prueba F, cuadro 2).

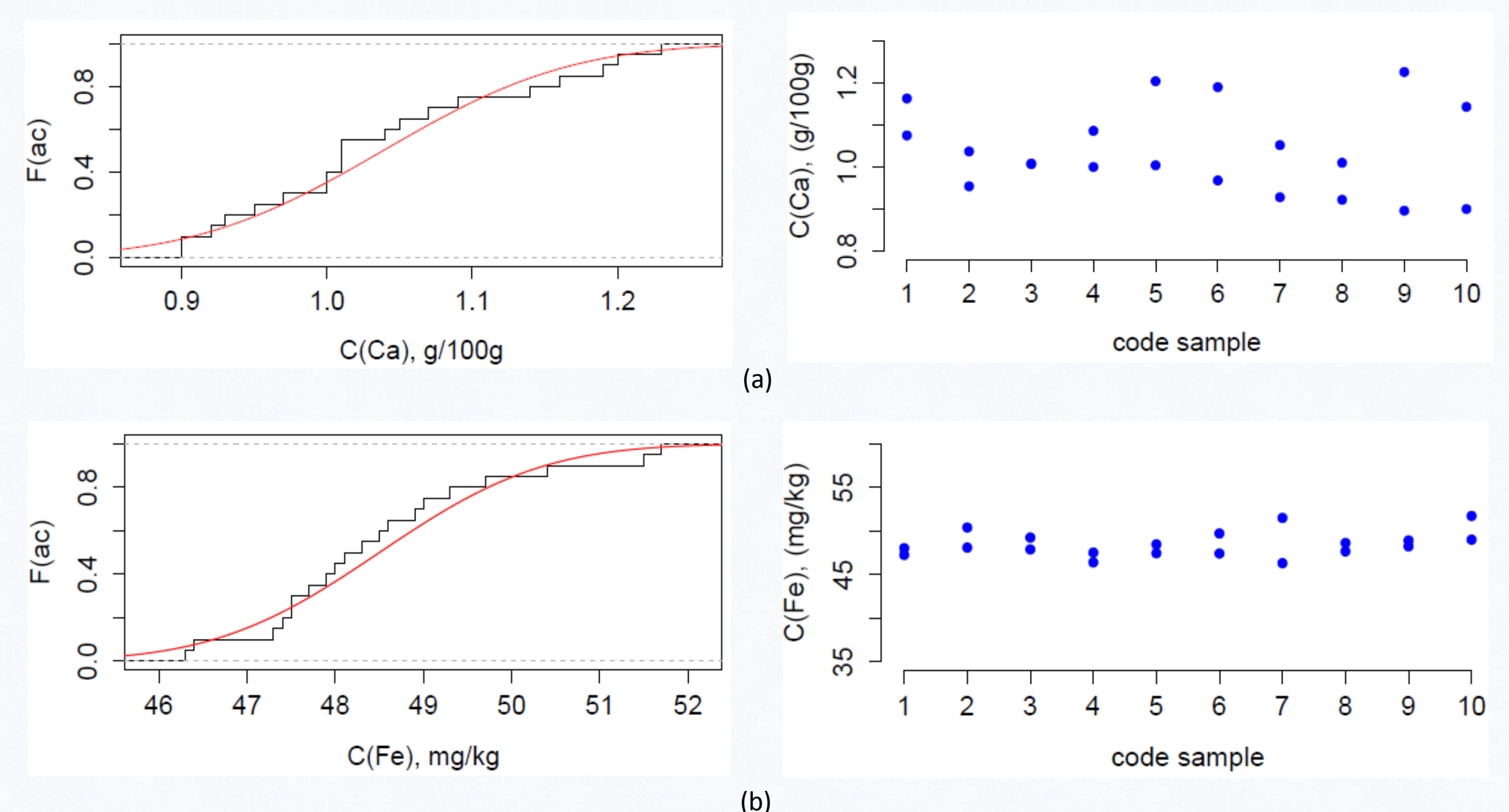


Figura 2. Resultados más importantes para Ca (a) y Fe (b) de la evaluación de la homogeneidad del material de referencia de leche en polvo.

Cuadro 2. Resultados prueba F para evaluación de homogeneidad de Fe y Ca en el material de referencia.

Metal	H_0	F_{calc} (adim)	F_{crit} (adim)	¿Homogéneo?
Fe	$F_{calc} \leq F_{crit}$	0,67	3,02	Sí
Ca		0,35		Sí

Cuadro 3. Incertidumbre por homogeneidad entre botellas de Fe y Ca, y su relación porcentual con σ_p .

Metal	u_{bb}	u_{bb}/σ_p
Fe	0,756 mg/kg	1 %
Ca	0,058 g/100 g	66 %

(3) ISO Guide 35:2006. *Reference Materials – General and statistical principles for certification.*

(4) IUPAC (2006). *The International Harmonized Protocol for Proficiency Testing for Analytical Chemistry Laboratories.*