

**INTI**

Instituto Nacional de  
Tecnología Industrial

Premio Nacional a la Calidad 1999  
Organismo Certificado ISO 9002

## **Resultados del Interlaboratorio**

**“Análisis de sorbato y benzoato en matriz jugo  
concentrado de naranja”**

## **LISTA DE PARTICIPANTES**

### **CIATI AC**

Bartolomé Mitre y 20 de Junio  
Villa Regina, Río Negro

### **INTI - CEIAL**

Coordinación de jugos, miel, azucarados y productos derivados  
Parque Tecnológico Miguelete – Edificio n° 40  
San Martín, Buenos Aires

### **INTI – CEMCUYO**

Aráoz 1511 y Acceso Sur  
Luján de Cuyo, Mendoza

### **INTI - CEMES**

Ruta 14 – Km 124  
Concepción del Uruguay, Entre Ríos

### **INTI - CITECA**

Parque Tecnológico Miguelete – Edificio n° 47  
San Martín, Buenos Aires

### **INTI - CITIL**

Parque Tecnológico Miguelete – Edificio n° 5  
San Martín, Buenos Aires

## 1. INTRODUCCION

La organización de este ejercicio tuvo dos objetivos fundamentales.

Uno de ellos fue evaluar la metodología de preparación de muestras de sorbato y benzoato en matriz, para poder complementar el interlaboratorio de HPLC realizado anteriormente para sorbato y benzoato en solución acuosa con la organización de un nuevo interlaboratorio en matriz real.

El otro objetivo fue el de ofrecer a los laboratorios del INTI la posibilidad de controlar y comparar sus resultados de ensayo, obtenidos mediante la utilización de sus métodos analíticos para el análisis de una muestra con matriz real.

Los profesionales que participaron en la organización y evaluación de este ensayo son:

Lic. Alicia Gutiérrez (CEIAL - INTI)

Lic. María de los Angeles Cappa (CEIAL - INTI)

Dra. Celia Puglisi (PMQ - INTI)

Lic. Liliana Castro (PMQ - INTI)

## 2. MUESTRAS ENVIADAS

### 2.1 Preparación de las muestras

La muestra enviada fue preparada a partir de una muestra comercial de jugo concentrado de naranja que solo contenía benzoato de sodio.

A la muestra se le agregó una cantidad conocida de sorbato de potasio (Sorbic acid Potassium salt, marca Fluka, pureza mayor a 99%).

Esta muestra fue homogeneizada y fraccionada en seis envases, llenados en forma correlativa e identificados del 1 al 6.

### 2.2 Valor de referencia

La concentración de sorbato de potasio calculada en base al agregado gravimétrico es:

Sorbato de potasio: 13,77 ± 0,01 mg/kg

Las incertidumbres en los valores de concentración se calcularon utilizando los procedimientos recomendados en la Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Eurachem, 2º Ed. 2000.

## 3. RESULTADOS ENVIADOS POR LOS PARTICIPANTES

### 3.1. Datos enviados

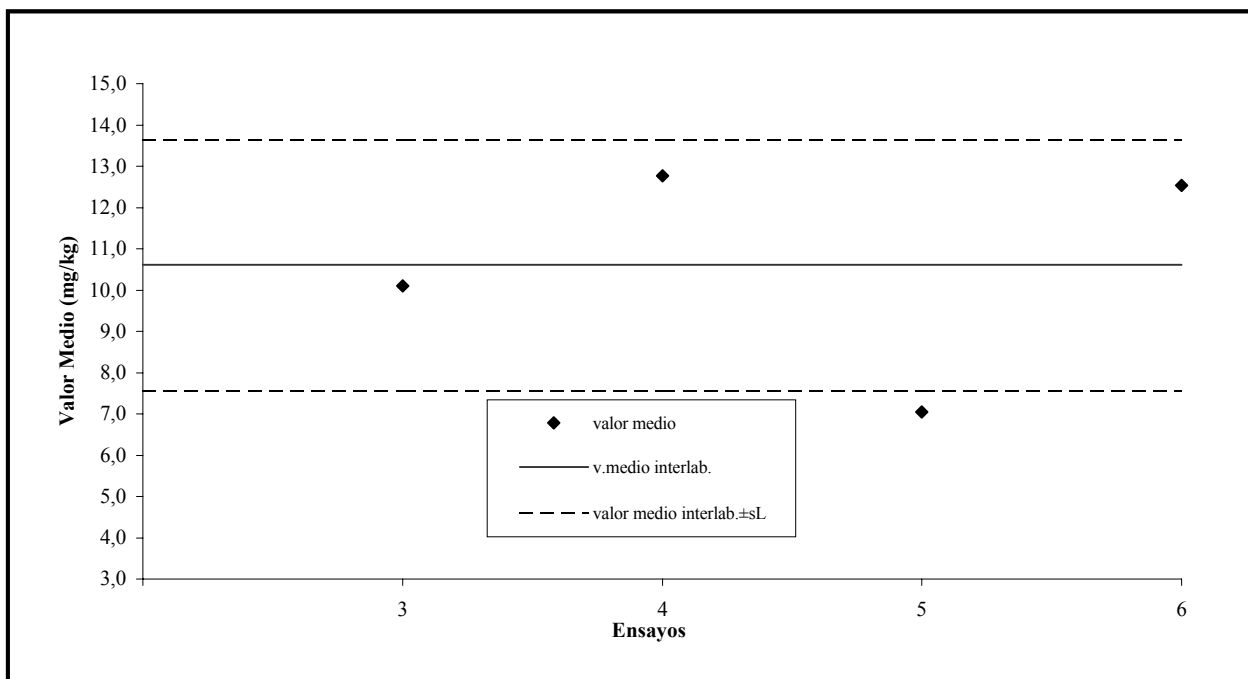
Los datos enviados por los participantes pueden verse en la siguiente tabla

Sorbato de potasio				
Lab. n°	unidades	Dato 1	Dato 2	Dato 3
1	mg/kg	<25	<25	<25
2	% m/m	no detecta	no detecta	no detecta
3	mg/kg	9,9	10,3	10,1
4	mg/kg	12,3	12,6	13,4
5	mg/kg	7,31	7,01	6,84
6	mg/kg	12,5	11,9	13,2

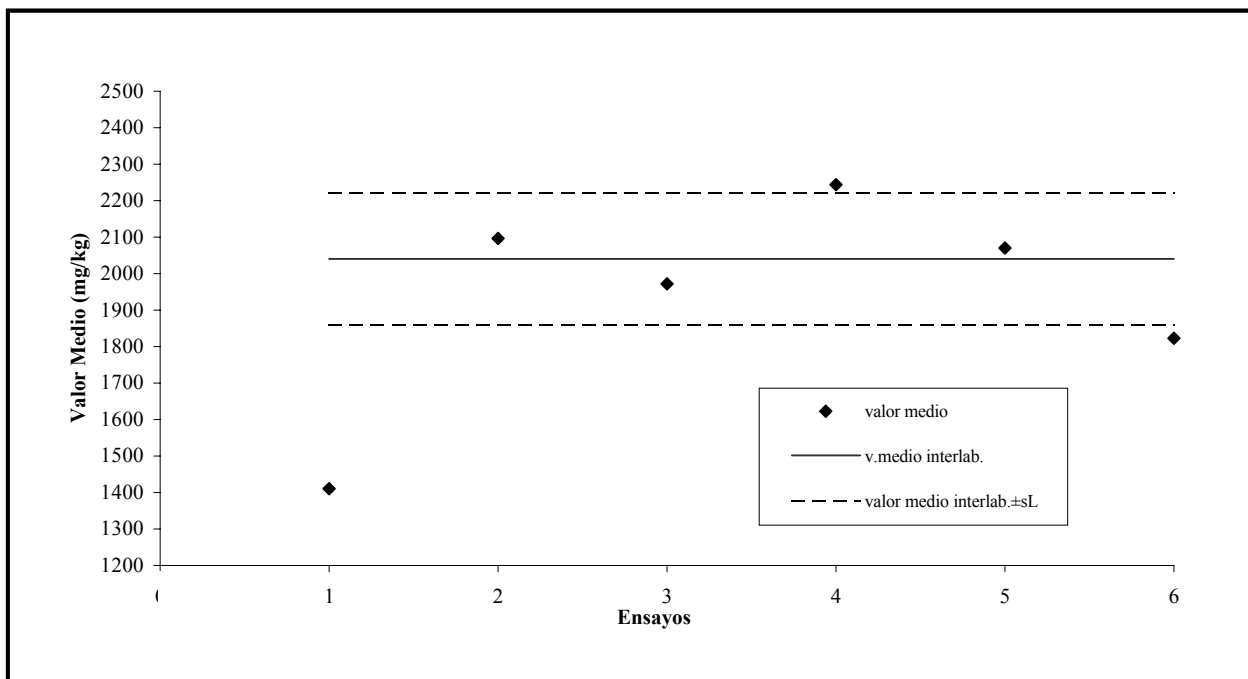
Benzoato de sodio				
Lab. n°	unidades	Dato 1	Dato 2	Dato 3
1	mg/kg	1363	1474	1396
2	% m/m	0,205	0,211	0,213
3	mg/kg	1935	1999	1983
4	mg/kg	2229	2232	2273
5	mg/kg	2089	2067	2054
6	mg/kg	1821	1802	1843

En los gráficos 1 y 2 se muestran los datos enviados por los participantes y los valores medios interlaboratorio obtenidos con el procedimiento descrito en el ítem 5.

**Gráfico 1**  
**Datos enviados por los participantes - Sorbato de potasio**



**Gráfico 2**  
**Datos enviados por los participantes - Benzoato de sodio**



### 3.2. Método de ensayo

Los laboratorios realizaron el ensayo utilizando diferentes métodos.

Uno de los laboratorios utilizó para la determinación espectrofotometría en el ultravioleta según la Norma ISO 5519: 1978 para la determinación de sorbato y la Norma IRAM 15717 para la determinación de benzoato. El resto de los participantes midieron por HPLC.

A continuación se muestra un resumen con la información enviada por estos participantes que incluye el detalle de los equipos utilizados y las condiciones cromatográficas.

Fase estacionaria	Supelcosil LC-18	POLYLC ODS (C-18)	Octadecilsilano (C18)	Hypersil C18	Lichrospher 100 – RP 18
Tamaño de partícula (µm)	5	5	5	5	5
Dimensiones de la columna (mm x mm)	250 x 4,6	250 x 4,6	125 x 4	250 x 4,6	250 x 4
Fase móvil	80% 0,3g NH <sub>3</sub> AcO/H <sub>2</sub> O HPLC pH:4,2 20% ACN	Buffer/ Acetonitrilo 95:5	Ac. Acético 3% llevada a pH:3 con sn. saturada de NaAcetato	90% buffer fosfato pH: 6,7 10% CH <sub>3</sub> OH	90% buffer fosfato pH: 6,6 10% CH <sub>3</sub> OH
Long. de onda (nm)	Benzoato: 225,40 Sorbato: 255,40	234	254	227	235,8 450,1(referencia)
Flujo (ml/min)	1	1,7	1,2	1,2	1
Vol. de inyección (µl)	20	20	10	20	10
Tipo de inyección	Manual a loop lleno	Manual	Automática	Loop lleno	Automática

#### 4. EVALUACION DEL DESEMPEÑO DE LOS LABORATORIOS

La evaluación del desempeño de los laboratorios participantes se realizó de acuerdo con los procedimientos aceptados internacionalmente y que se citan en la Bibliografía. Se utilizó como criterio el cálculo del parámetro “z”, definido de la siguiente manera:

$$z = (x_{1/2} - x_{ref}) / s_L$$

Donde:

$x_{1/2}$  = promedio para cada laboratorio =  $\sum x_i / r$

$x_{ref}$  = valor asignado a la concentración de los analitos de la muestra enviada.

En este caso se utilizó el valor medio interlaboratorio obtenido con el procedimiento descrito en el ítem 5.

$r$  = número de replicados informados (1, 2, 3)

$s_L$  = desviación estándar (estimador de la reproducibilidad o variancia entre laboratorios)

Este último parámetro es el obtenido mediante el tratamiento estadístico, es decir, representa el desvío estándar de los datos estadísticamente aceptables.

**De acuerdo con la definición del parámetro z, es posible clasificar a los laboratorios de la siguiente forma:**

**$|z| \leq 2$  satisfactorio,  $2 < |z| < 3$  cuestionable,  $|z| \geq 3$  no satisfactorio**

Los valores del parámetro z así obtenido pueden verse en la siguiente tabla.

Lab. n°	Sorbato de potasio (mg/kg)	Benzoato de sodio (mg/kg)
1	---	-3,5
2	---	0,3
3	-0,2	-0,4
4	0,7	1,1
5	-1,2	0,2
6	0,6	-1,2

## 5. TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS

El tratamiento de los resultados se realizó de acuerdo con los procedimientos internacionalmente aceptados y que se citan en la Bibliografía.

En la primera etapa de la evaluación se procedió al examen crítico de los datos, descartándose aquellos que resultan obviamente discordantes.

A partir de los datos estadísticamente aceptables, se calculó el valor medio y la desviación estándar interlaboratorio.

El resumen de los resultados obtenidos se encuentra en la siguiente tabla:

	<b>Valor medio interlab. (mg/kg)</b>	<b>Desviación estándar interlab. (s<sub>L</sub>) (mg/kg)</b>	<b>Desviación estándar interlab. relativa porcentual (s<sub>L</sub> relativa %) (mg/kg)</b>
<b>Sorbato de potasio</b>	<b>10,6</b>	<b>3,0</b>	<b>28 %</b>
<b>Benzoato de sodio</b>	<b>2041</b>	<b>179</b>	<b>9 %</b>

En la siguiente tabla pueden verse los desvíos del promedio de los resultados de cada laboratorio respecto del valor medio interlaboratorio.

<b>Lab. n°</b>	<b>Sorbato de potasio (mg/kg)</b>		<b>Benzoato de sodio (mg/kg)</b>	
	<b>v. medio</b>	<b>%desv. v. m. interlab.</b>	<b>v. medio</b>	<b>%desv. v. m. interlab.</b>
<b>1</b>	< 25	---	1411	-30,9
<b>2</b>	No detecta	---	2097	2,7
<b>3</b>	10,1	-4,8	1972	-3,4
<b>4</b>	12,8	20,3	2245	10,0
<b>5</b>	7,1	-33,5	2070	1,4
<b>6</b>	12,5	18,1	1822	-10,7

## 6. COMENTARIOS

De los resultados obtenidos en el presente ejercicio puede observarse que el método espectrofotométrico utilizado por el participante n°1 no es comparable con el método HPLC utilizado por el resto de los participantes.

Dado que el método espectrofotométrico implica hacer un arrastre con vapor de agua de los aditivos, puede suceder que esta etapa introduzca una importante fuente de incertidumbre.



## ANEXO

### Definiciones de repetibilidad y reproducibilidad de un método de ensayo

**Resultado de un ensayo:** Es el valor de una característica obtenido mediante la realización de un método determinado. El método puede especificar que se realicen un cierto número de observaciones y que reporte el promedio como resultado del ensayo. También puede requerir que se apliquen correcciones estándar. Por lo tanto puede suceder que un resultado individual provenga de varios valores observados.

**Precisión:** Es el grado de acuerdo entre resultados mutuamente independientes de un ensayo, que se obtuvieron bajo condiciones especificadas.

**Repetibilidad:** Indica el grado de acuerdo entre resultados mutuamente independientes de un ensayo, obtenidos utilizando el mismo método, en idénticos materiales, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y en un corto intervalo de tiempo.

**Desviación estándar de repetibilidad:** Es la desviación estándar de los resultados de un ensayo obtenido en las condiciones mencionadas en el párrafo anterior. Es un parámetro de la dispersión de los resultados de un ensayo en condiciones de repetibilidad.

**Valor de repetibilidad  $r$ :** Es el valor por debajo del cual se espera que se encuentre, con una probabilidad del 95%, la diferencia absoluta entre dos valores individuales del resultado de un ensayo, obtenidos en condiciones de repetibilidad.

**Reproducibilidad:** Indica el grado de acuerdo entre resultados mutuamente independientes de un ensayo obtenidos con el mismo método, en idénticos materiales, en diferentes laboratorios, con diferentes operadores y utilizando distintos equipos.

**Desviación estándar de la reproducibilidad:** Es la desviación estándar de resultados de ensayos obtenidos en condiciones de reproducibilidad. Es un parámetro de la dispersión de la distribución de resultados de un ensayo en condiciones de reproducibilidad.

**Valor de reproducibilidad  $r$ :** Es el valor por debajo del cual se espera que se encuentre, con una probabilidad del 95%, la diferencia absoluta entre dos valores individuales del resultado de un ensayo, obtenidos en condiciones de reproducibilidad.

## Tratamiento de los resultados

### Definiciones Generales

$n$  = número de datos

$x_i$  = datos

Valor medio =  $\bar{x} = \text{media aritmética} = (\sum x_i) / n$

Desviación estándar =  $S_d = [ \sum (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1) ]^{1/2}$

% de desviación respecto del valor medio =  $[ (x_i - \bar{x}) / \bar{x} ] 100$

% de desviación respecto del valor de referencia =  $[ (x_i - \text{val. ref.}) / \text{val. ref.} ] 100$

### Definición del parámetro $z$

El primer paso para evaluar un resultado es calcular cuan apartado está ese dato del valor asignado o del valor de la referencia, es decir:  $x_i - \text{val. ref.}$  ( 5 ).

Muchos esquemas de evaluación de datos utilizan la relación entre esta diferencia y el valor de la desviación estándar para comparar los resultados.

El valor de la desviación estándar que se utiliza puede ser fijado a priori por acuerdo de los participantes basándose en expectativas de desempeño. También puede ser estimado a partir de los resultados del interlaboratorio luego de eliminar los datos discordantes o fijarlo en base a métodos robustos para cada combinación de analito, material y ejercicio.

Cuando puede considerarse que un sistema analítico “se comporta bien”,  $z$  debiera presentar prácticamente una distribución normal, con un valor medio de cero y una desviación estándar unitaria. En estas condiciones, un valor de  $|z| > 3$  sería muy raro de encontrar en tal sistema e indica un resultado no satisfactorio, mientras que la mayoría de los resultados debieran tener valores tales que  $|z| < 2$ .

Es posible establecer entonces la siguiente clasificación:

$|z| \leq 2$  satisfactorio       $2 < |z| < 3$  cuestionable       $|z| \geq 3$  no satisfactorio

### Prueba de Grubbs

Para calcular la estadística del test de Grubbs simple, se calcula el promedio para cada laboratorio (por lo menos de tres datos) y luego la desviación estándar de esos  $L$  promedios (designada como la  $s$  original). Se calcula la desviación estándar del conjunto de los promedios luego de haber eliminado el promedio más alto ( $s_a$ ) y lo mismo luego de haber eliminado el promedio más bajo ( $s_b$ ).

Entonces se calcula la disminución porcentual en la desviación estándar como sigue:

$100 \times [ 1 - (s_b / s) ]$       y       $100 \times [ 1 - (s_a / s) ]$

El más alto de estos dos decrecimientos porcentuales se compara con el valor crítico de Grubbs para el número de laboratorios considerado (probabilidad = 2,5 %) y cuando lo excede se rechaza, recomenzando el ciclo.

### **Prueba de Cochran**

Dado un conjunto de desviaciones estándar  $s_i$ , todas calculadas a partir del mismo número de replicados de resultados de ensayo, el criterio de Cochran resulta:

$$C = s_{\max}^2 / \sum s_i^2$$

Este valor de C se compara con el valor crítico de las correspondientes tablas para un 95% de nivel de confianza.

Se entra en la tabla con el número de observaciones asociadas a cada variancia (triplicado en este caso) y el número de variancias comparadas (número de participantes).

Si C excede el valor crítico tabulado, el dato del laboratorio correspondiente es rechazado y se reinicia el ciclo.

## BIBLIOGRAFIA

1. ISO 5725. Parts 1-6 (1994). Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results.
2. ISO - CASCO 322 . Proficiency testing by interlaboratory comparisons.  
Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes. ISO/IEC Guide 43-1  
Part 2: Selection and use of proficiency testing schemes by laboratory accreditation bodies. ISO/IEC Guide 43-2
3. ASTM E 691 - 79. Standard practice for conducting an interlaboratory test program to determine the precision of test methods.
4. Protocol for the design, conduct and interpretation of method - performance studies. Pure & Appl. Chem., Vol. 67, 2, 331 - 343 (1995).
5. The international harmonized protocol for the proficiency testing of (chemical) analytical laboratories. Pure & Appl. Chem., Vol. 65, 9, 2123 - 2144 (1993).
6. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Eurachem, Second edition (2000).
7. Guide to the expression of uncertainty in measurement. ISO, Geneva, Switzerland 1993.