

Ensayo interlaboratorio en HPLC.

Información que puede obtenerse de un ensayo de aptitud.

Gutierrez, Alicia ⁽ⁱ⁾; Puglisi, Celia⁽ⁱⁱ⁾; Cappa, María de los Angeles⁽ⁱ⁾; Castro, Liliana ⁽ⁱⁱ⁾

⁽ⁱ⁾INTI-Cereales y Oleaginosas

⁽ⁱⁱ⁾Programa de Metrología en Química

Introducción

El INTI ha organizado tres ejercicios interlaboratorio en mediciones por cromatografía líquida. En el primer ejercicio, organizado por el Centro de Química en 1999, las muestras fueron parabeno y metil parabeno. En el segundo ejercicio, organizado por el Centro de Cereales y Oleaginosas en 2002, las muestras fueron sorbato de potasio y benzoato de sodio. En el tercero, actualmente en curso, organizado por el Centro de Plásticos, se analiza ácido tereftálico.

En todos los casos se enviaron como muestras incógnita, sustancias puras disueltas en solventes, sin dificultades de matriz, y las mismas sustancias sólidas para preparar las soluciones de calibración. Estos ejercicios fueron diseñados para que puedan participar laboratorios que utilizan el equipo de HPLC, aunque no fuera para estas mediciones específicamente.

De esta manera se puede evaluar la capacidad del operador en distintos aspectos de la medición cromatográfica, tales como la preparación de las soluciones de calibración, el funcionamiento del equipo, la selección de las condiciones cromatográficas, el procesamiento de resultados, entre otras.

En particular en el ejercicio para la medición de sorbato y benzoato se realizó una validación del método ya que se solicitó a los participantes que informaran su límite de cuantificación y que realizaran mediciones para evaluar repetibilidad y reproducibilidad. También se evaluó el ajuste de la recta de calibración.

Metodología

Se enviaron dos muestras en solución acuosa conteniendo benzoato de sodio y sorbato de potasio en dos niveles de concentración de cada sal y las correspondientes sales sólidas para preparar las disoluciones de calibración, por lo que el resultado del análisis permite verificar el funcionamiento de los equipos de medición y la

correcta manipulación de la muestra y de las soluciones de calibración.

Se solicitó además evaluar el límite de detección y consignar los datos necesarios para ajustar la curva de calibración. Se evaluaron estos parámetros de la validación del método, utilizando una planilla propia para el ajuste de la recta de calibración y el cálculo de la incertidumbre estadística proveniente de dicho ajuste.

Evaluación de los Resultados

Los datos enviados por los participantes se sometieron a las pruebas de Cochran y Grubbs^{[1][2]}.

Este procedimiento permitió seleccionar los datos estadísticamente aceptables, a partir de los cuales se calculó el valor medio y la desviación estándar interlaboratorio.

El resumen de los resultados puede verse en la *tabla 1*.

Con el objeto de estudiar la repetibilidad y reproducibilidad de los participantes se analizaron los promedios y desviaciones estándar obtenidos por cada participante en tres días consecutivos, así como el promedio y desviación estándar total de cada muestra.

Los valores típicos obtenidos son:

Repetibilidad: 1%

Reproducibilidad: 3%

Se utilizó la planilla excel antes mencionada para ajustar la curva de calibración utilizando algunos datos enviados por los participantes y comparar los resultados con los diferentes métodos de cálculo.

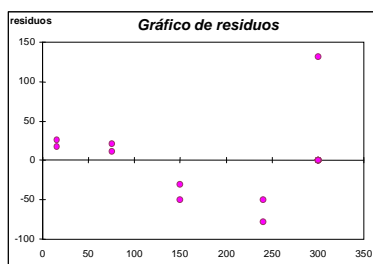
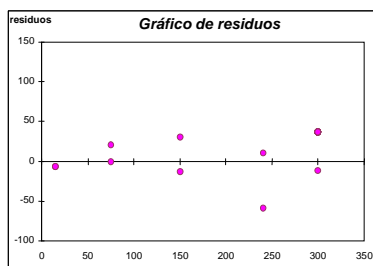
A modo de ejemplo, en la *tabla 2* se muestran los datos correspondientes al Día 1.

Analizando estos datos puede verse que en algunos casos la incertidumbre asociada al ajuste por cuadrados mínimos es muy elevada, por ejemplo en el caso de los laboratorios 4, 7, 10 y

11. Un análisis detallado de los datos enviados por estos participantes, utilizando la planilla mencionada muestra que esta incertidumbre se debe a la gran dispersión de los resultados, o bien a que algún punto de la curva de calibración esta muy apartado del resto. Estos defectos pueden provenir de errores en la preparación de las disoluciones de calibración o de la baja precisión en las mediciones. Esto se evidencia claramente en el análisis de los gráficos de residuos.

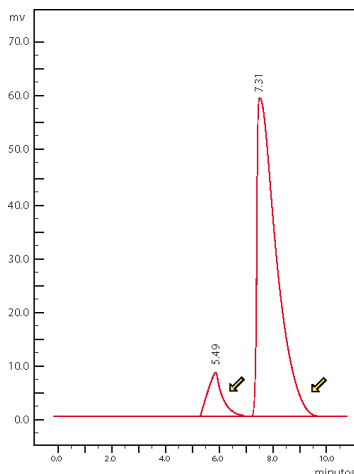
A continuación se muestran dos gráficos de residuos obtenidos a partir de los datos enviados por los participantes.

El primer gráfico muestra una buena distribución de los residuos y el segundo una mala distribución de los residuos, lo que trae aparejado errores al medir las muestras.



Por último, se solicitó a los participantes que enviaran los cromatogramas de las mediciones realizadas. Esto permitió analizar las posibles causas de error en las mediciones.

Como ejemplo, se muestra un cromatograma en el que puede observarse una asimetría en los picos (cola posterior) para bajos tiempos de retención, aunque hay buena resolución, lo cual indica que no fueron seleccionadas correctamente las condiciones cromatográficas.



Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran claramente la utilidad de este tipo de ejercicios para validar métodos de ensayo y aportar elementos para mejorar la calidad de las mediciones.

Referencias

- [1] The international harmonized protocol for the proficiency testing of (chemical) analytical laboratories. Pure & Appl. Chem., Vol. 65, 9, 2123 - 2144 (1993).
- [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] ISO 5725. Parts 1-6 (1994). Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results.
- [4] ASTM E 691 - 79. Standard practice for conducting an interlaboratory test program to determine the precision of test methods.
- [5] Protocol for the design, conduct and interpretation of method - performance studies. Pure & Appl. Chem., Vol. 67, 2, 331 - 343 (1995).
- [6] Drapper, N. R. Smith, H., Applied regression Analysis, J. Wiley & Sons, 1st. Ed., 1996.

Para mayor información contactarse con:
cpuglisi@inti.gov.ar

Tabla 1

Analito		Valor nominal (mg/l)	Valor medio interlab. (mg/l)	Desviación estándar interlab. (s_e) (mg/l)	Desviación estándar interlab. relativa porcentual ($s_{e, \text{relativa}} \%$)
Benzoato de sodio	M 1	252,18	250,1	5,3	2,1
	M 2	51,78	50,0	2,1	4,2
Sorbato de potasio	M 1	85,91	86,0	1,7	2,0
	M 2	53,88	53,5	1,3	2,4

Tabla 2

Lab.	Benzoato de Sodio M1			Benzoato de Sodio M2		
	Valor Informad	valor curva calib	Incert.	Valor Informad	valor curva calib	Incert.
1	250,35	250,4	2,4	48,70	48,7	2,4
2	252,94	253,9	2,5	50,57	51,7	2,5
3	241,60	241,6	2,1	47,95	47,9	1,0
4	250,75	250,7	9,1	47,35	47,4	9,3
5	259,53	259,6	3,6	52,01	52,0	3,6
6	252,93	252,9	4,0	49,50	49,5	4,1
7	237,44	237,7	4,7	47,26	47,5	4,7
8	250,00	251,3	0,4	50,35	50,6	0,4
9	251,25	251,2	2,2	50,48	50,5	2,2
10	223,45	223,4	23,1	50,75	50,8	24,2
12	242,45	242,4	4,7	52,41	52,8	4,3
13	247,60	247,6	2,5	48,15	48,2	2,5
14	258,15	258,2	3,3	51,42	51,4	2,9
16	255,75	255,9	3,8	54,00	53,7	3,4