

Experiencia de la aplicación de la trazabilidad de las mediciones en un laboratorio acreditado mediante el empleo de materiales de referencia certificados.

Rodes Yanet Valdivia Medina¹, Sandra Pedro Valdés¹, Rogelio Mayarí Navarro², Ma. del Carmen Espinosa Lloréns², Margaret Suárez Muñoz³

¹ Instituto Nacional de Investigaciones en Metrología (INIMET). Consulado No. 206, entre Ánimas y Trocadero. Centro Habana. Ciudad de La Habana. *E-mail*: rodes@inimet.cu, sandra@inimet.cu

² Dpto. de Estudios sobre Contaminación Ambiental (DECA), Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ave. 25 y 158, Cubanacán, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. Apartado Postal 6990. Tlf. 271-8897. Fax (537) 336321. *E-mail*: deca@infomed.sld.cu.

³ Centro Nacional de Medicina Natural y Tradicional. Vice-dirección de Termalismo, Ciudad de La Habana, Cuba. Avenida 243 #19815 Reparto Fontanar Boyeros, Ciudad Habana, Cuba. C. P 19250. patricia@fctn.isctn.edu.cu.

RESUMEN: En el campo ambiental, en específico, los materiales de referencia son de gran utilidad en los procesos de validación de métodos analíticos, para las determinaciones analíticas de contaminantes en aguas residuales, así como en el aseguramiento de la calidad de las mediciones realizadas en los laboratorios ambientales. Es necesario señalar la importancia particular de contar, en este campo, con métodos que ofrezcan resultados con precisión y veracidad, ya que éstos se usan con fines regulatorios o legales. Los materiales de referencia certificados (MRC) apoyan el establecimiento de la trazabilidad al SI de las mediciones elementales que realizan los laboratorios analíticos en cualquier tipo de muestra, jugando un papel importante en las actividades nacionales e internacionales de normalización, en los ensayos de aptitud y en la acreditación de laboratorios. La selección de los MRC debe tener en cuenta no solamente el nivel de incertidumbre requerido para el objetivo deseado, sino también su disponibilidad, costo e idoneidad química y física para el propósito a alcanzar. En este trabajo se proporciona información sobre la experiencia de la aplicación de la trazabilidad de las mediciones en el Departamento de Estudios sobre Contaminación Ambiental (DECA), laboratorio acreditado, mediante el empleo de materiales de referencia certificados, trazables al NIST, específicos para los ensayos de Demanda Química de Oxígeno (DQO), demostrándose que los resultados que ofrecen los mismos son precisos y veraces, y que proporcionan trazabilidad a ese órgano metrológico de reconocido prestigio internacional.

ABSTRACT: In the environmental field, in specific, the reference materials are of great utility in the processes of validation of analytical methods, for the analytical determinations of pollutants in waste waters, as well as in the quality assurance measurements carried out in the environmental laboratories. It is necessary to point out the peculiar importance of counting, in this field, with methods that offer accurate and reliable results, since these are used with regulatory or legal purposes. The certified reference materials (CRM) allow establishing the traceability to the SI of the elementary measurements that the analytical laboratories carry out in any kind of sample, playing an important role in the national and international activities of normalization, in the proficiency tests and in the accreditation of laboratories. The selection of the CRM should keep in mind not only the level of uncertainty required for the wanted objective, but also its accessibility, cost and chemical and physics suitability for the purpose to reach. In this work information is provided about the experience of the application of the traceability of the measurements in the Environmental Pollution Studies Department (DECA), applying CRM, traceable to the NIST, specific for the chemical oxygen demand (COD) analysis, being demonstrated that the results are accurate, precise and traceable to that metrological institution of recognized international reputation.

Palabras Clave: Materiales de referencia certificados, ensayos, aguas residuales, trazabilidad, precisión, veracidad.

Key words: Certified reference materials, analysis, wastewaters, traceability, precision, accuracy.

INTRODUCCIÓN

La metrología es el campo del conocimiento relativo a las mediciones, siendo sus principales temas de estudio las unidades de medida y sus patrones, la medición, los instrumentos de medición y aquellas cualidades referidas a la ejecución de estas mediciones. De acuerdo con esto se puede decir que la metrología en química es el campo del conocimiento relativo a las mediciones químicas.¹

Trazabilidad es la propiedad del resultado de una medición o el valor de un patrón, por el cual puede ser relacionado con los patrones de referencia, usualmente patrones nacionales o internacionales, a través de una cadena ininterrumpida de comparaciones, teniendo establecidas las incertidumbres.²

La mayoría de los patrones de medición son la realización de las unidades del *Sistema Internacional de Unidades (SI)*. El enlace entre la realización del patrón y el SI se establece generalmente a través de métodos de medición.

La comparación de los resultados de las mediciones a través de ensayos de aptitud se ha convertido en un tema importante. Esta comparación requiere trazabilidad a referencias y como consecuencia de esto en todo el mundo se requiere de la trazabilidad de los resultados de las mediciones al SI de unidades.¹

Un material de referencia (MR) es un material o sustancia del cual uno o más de sus valores propios son suficientemente homogéneos y están bien establecidos para ser usados para la calibración de un instrumento, la evaluación de un método de medición, o para la asignación de valores a los materiales. A su vez, un material de referencia certificado (MRC) es un material de referencia, acompañado de un certificado, donde uno o más de sus valores propios están certificados por un procedimiento que establece su trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la que están expresados los valores propios y para los cuales cada valor certificado está acompañado por una incertidumbre para un nivel de confianza establecido.³

Los materiales de referencia certificados apoyan el establecimiento de la trazabilidad al SI de las mediciones elementales que realizan los laboratorios analíticos. En el campo ambiental, en específico, los materiales de referencia son de gran utilidad en los procesos de validación de métodos analíticos, para las determinaciones analíticas de contaminantes en aguas residuales, así como en el aseguramiento de la calidad de las mediciones. Es necesario señalar la importancia particular de contar, en este campo, con métodos que ofrezcan resultados con precisión y veracidad, ya que éstos se usan con fines regulatorios o legales.³

En este trabajo se ofrecen los resultados obtenidos en la aplicación de la trazabilidad de las mediciones mediante el empleo de materiales de referencia certificados en el método de DQO, uno de los ensayos acreditados con que cuenta el DECA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material de Referencia Interno.

Solución de hidrógeno ftalato de potasio ($\text{HOOC}_6\text{H}_4\text{COOK}$) de concentración 400 mg DQO. (Estándar de Hidrógeno Ftalato de Potasio para análisis sustancia patrón primario para valoración con una pureza entre 9,95 a 100,05% e Hidrógeno Ftalato de Potasio material de referencia directamente frente a material de referencia del NIST).

Material de Referencia Certificado.

Material de Referencia Certificado ULTRACheck (TM) de la firma UltraScientific, específico para aguas y aguas residuales; trazable al National Institute of Standards and Technology (NIST).

Demanda Química de Oxígeno (DQO): Ultracheck Demand Standard, QCI-730, Código de Lote: 72808⁴.

Procedimiento del método de ensayo

En el siguiente esquema se muestra el procedimiento para el método de ensayo de DQO, de acuerdo con lo establecido en el método normalizado correspondiente.⁵

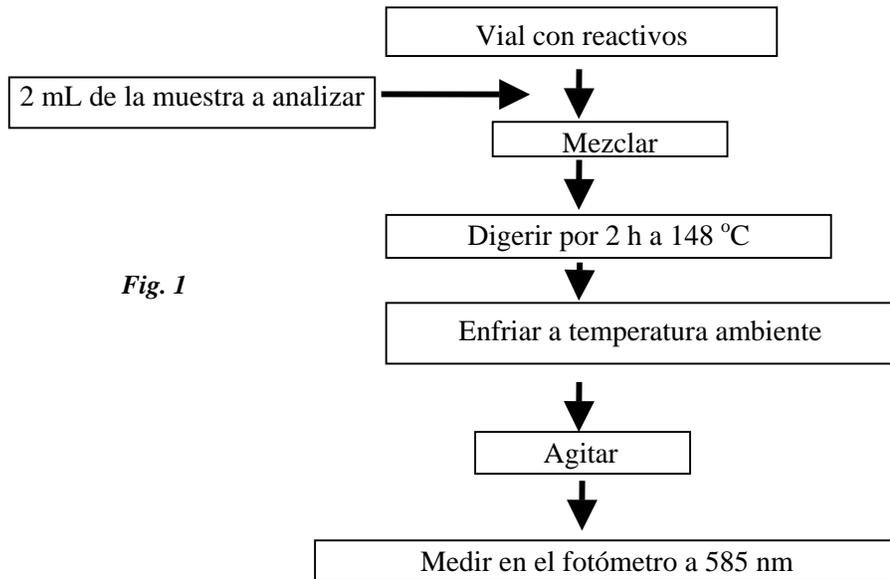


Fig. 1

Trazabilidad

Se emplearon materiales de referencia de óptima calidad trazables al SI. Para asegurar la trazabilidad de la medición se utilizó reactivo Hidrógeno Ftalato de Potasio, material de referencia preparado en el DECA directamente frente al material de referencia certificado del NIST.

El instrumento de medición para medir la masa fue una Balanza Analítica Digital Mettler Modelo AE 163, con una incertidumbre de 0,06 mg/L.

En cuanto a la medición de volumen se utilizaron matraces clase A con incertidumbres de $\pm 0,2$ mL para 500 mL y $\pm 0,3$ para 1000 mL y se dispensó el volumen con un dispensador digital del tipo SCHOTT-Geräte con una incertidumbre expandida de 0,02 mL.

En las operaciones de medición de la propiedad en la caracterización del material de referencia en cuanto a un error muy común que es el empleo de curvas de calibración no adecuadas, se utilizaron curvas estandarizadas obtenidas con los datos del trabajo con estos materiales de referencia en los últimos años.

El fotómetro de filtro utilizado para la determinación de DQO WTW presenta una incertidumbre expandida de 0,5 %T. La bureta de 50 mL tiene una incertidumbre de $\pm 0,1$ mL.

Evaluación de la estabilidad y la homogeneidad del MR interno desarrollado en el laboratorio.

Para el desarrollo de estos estudios se siguieron los lineamientos establecidos en las normas cubanas de materiales de referencia.^{6,7}

Evaluación de la precisión

La precisión del método de ensayo estudiado se evaluó comparando la desviación típica en el laboratorio bajo condiciones de repetibilidad (s_w), con el valor requerido de la desviación típica en el laboratorio, (σ_{wo}), para lo cual se calcula la siguiente relación:

$$\chi_c^2 = \left(\frac{s_w}{\sigma_{wo}} \right)^2 \quad \dots(1)$$

cuyo resultado se compara con el obtenido aplicando la ecuación (2):

$$\chi^2 - tabla = \frac{\chi_{(n-1);0.95}^2}{n-1} \quad \dots(2)$$

χ^2 - tabla = estadígrafo de la distribución de χ^2 con grados de libertad ($n - 1$) y 0,95 dividida por los grados de libertad ($n - 1$).

Evaluación de la veracidad

La veracidad del proceso de medición se comprueba comparando la media \bar{x} con el valor certificado, μ y utilizando como criterio de aceptación:

$$-a_2 - 2\sigma_D \leq \bar{x} - \mu \leq a_1 + 2\sigma_D \quad (3)$$

Se trabajó con $a_1 = a_2 = 0$, considerando la decisión del laboratorio de acogerse a lo que aparece en la NC ISO Guía 33⁸, referido a la asignación de valores a estos parámetros.

Procesamiento Estadístico.

Se empleó el programa de computación Microsoft EXCEL-2000⁹ y el paquete de programas estadístico Statistica for Windows¹⁰, calculándose la media (\bar{x}), la desviación típica (s), el coeficiente de variabilidad (CV, %) y el recobrado (Rec, %).

Para la detección de posibles valores fuera de límites se utilizó la dócima de Grubbs, utilizando las reglas descritas en ISO 5725 (1994)¹¹.

Los límites de aceptación fueron calculados de acuerdo con la fórmula $\bar{x} \pm t_{0,05} (s)/\sqrt{n}$, donde $t_{0,05}$ es el percentil de la distribución t-Student para ($n - 1$) grados de libertad, según APHA⁵.

Resultados y Discusión

En la figura 2 se muestra el diagrama de bloques del procedimiento general de medición de un método ultravioleta-visible¹², aplicable al método de la DQO, donde se puede observar la aplicación de materiales de referencia, tanto para el control de los resultados del método como para la calibración del equipo de medición.

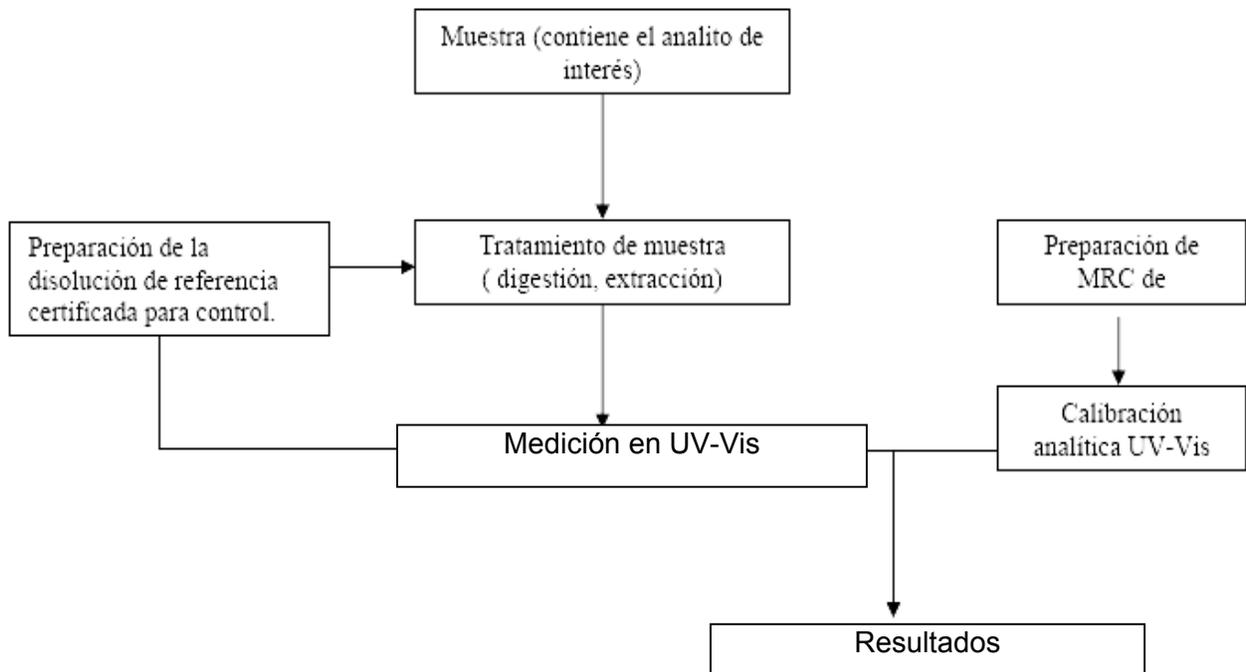


Fig. 2. Diagrama de bloques del procedimiento general de medición de un método ultravioleta-visible.

A continuación se muestran los resultados de las pruebas de estabilidad y homogeneidad del material de referencia interno desarrollado en el laboratorio para este método de ensayo.

Estabilidad

En el caso de la preparación del material de referencia interno de DQO, se realizaron los ensayos de estabilidad con el material concentrado y con la posterior dilución de los 20 mL a 1L. De lo observado en las figuras 3 y 4 puede concluirse que la solución más concentrada, como se esperaba, es mucho más estable que la diluida, ya que mientras la primera es estable aproximadamente por 6 meses, la segunda sólo se mantiene estable por 64 días, en condiciones de refrigeración.

Por todo esto, para el uso de este material de referencia, debe establecerse que el material después de abierto y preparada la solución puede mantenerse en refrigeración por 64 días, lo cual no concuerda totalmente con lo reportado por APHA⁵ para este tipo de soluciones, ya que en el mismo se plantea que una solución de 500 mg /L de DQO es estable en envases de plástico o vidrio, al menos por tres meses. Consideramos que debido a las condiciones de humedad y temperatura de nuestro país, se ve más favorecido el crecimiento microbiológico, principal causa de degradación de este MR, que hacen que la estabilidad sea menor en este caso que la reportada por la literatura. Esto es importante, teniendo en cuenta que se trata de no agregar preservos a este material de referencia ya que su adición podría contribuir al aumento de la DQO del material.

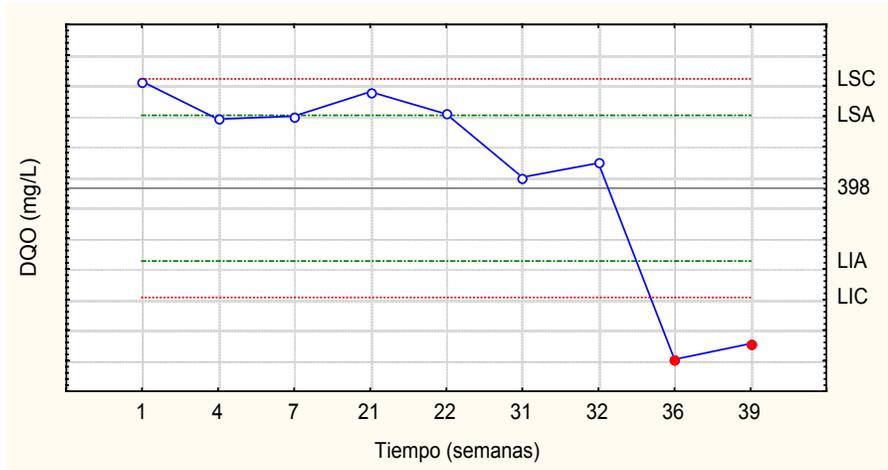


Fig. 3. Gráfico de estabilidad para DQO, solución concentrada en condiciones de refrigeración (mg/L).

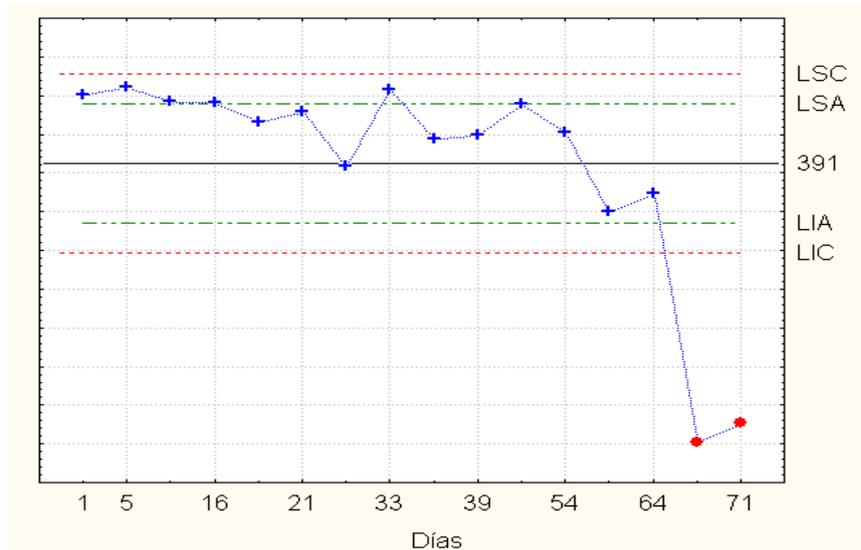


Fig. 2. Gráfico de estabilidad para DQO, solución diluida en condiciones de refrigeración (mg/L).

- LCS Límite de control superior
- LCI Límite de control inferior
- LAS Límite de advertencia superior
- LAI Límite de advertencia inferior

Homogeneidad

Para comprobar la homogeneidad del material de referencia interno se utilizaron los datos obtenidos en un ensayo de aptitud. En el análisis de los componentes de la varianza para el caso del método de ensayo de la DQO, puede observarse (tabla I) que a ésta contribuyen dos componentes, uno para cada factor (Laboratorio y Frasco). De éstos el factor de mayor contribución en este caso es el del laboratorio con un 89.57 % de la variación total. Como el por ciento de la varianza para el factor Frascos es mucho menor que el del Laboratorio y que el Error puede decirse que el material de referencia es homogéneo.¹³

Tabla I. Análisis de varianza de componentes para los resultados del estudio interlaboratorio para DQO.

| Análisis de varianza para los resultados | | | | | |
|--|-------------------|------------|----------------|----------------------|------------|
| Fuente | Suma de cuadrados | Diferencia | Cuadrado Medio | Varianza Componentes | Por ciento |
| Laboratorio | 14709.3 | 4 | 3677.33 | 601.217 | 89.57 |
| Frasco | 252.667 | 5 | 50.5333 | 0.0 | 0.0 |
| Error | 1400.67 | 20 | 70.0333 | 70.0333 | 10.43 |
| Total (corregido) | 16362.7 | 29 | | | |

En la tabla II se muestran los principales resultados obtenidos al realizar los experimentos con el MRC señalado, así como los valores reportados en el certificado que acompaña al mismo. Los valores que se reportan como *s* en el certificado, es asumido como tal por los autores de este trabajo, ya que no aparece así de forma explícita en ese documento. Debe señalarse que la práctica común, en la cual un valor más o menos es situado junto al valor certificado sin explicación, puede ser interpretada finalmente de cuatro formas diferentes⁴.

- puede ser el valor de t-Student multiplicado por la desviación típica de una sola determinación;
- el valor de t-Student multiplicado por la desviación típica de la media;
- el rango de todos los valores analíticos;
- un rango subjetivo del valor certificado.

En el caso del certificado que acompaña al MRC utilizado se comprobó que el valor precedido por el signo \pm no corresponde a los casos a) y b). El caso c) se reporta como un intervalo de valores aceptables (*advisory range*).

Tabla II. Principales resultados obtenidos al realizar los experimentos con el MRC.

| n | Valores Laboratorio | | | | Valores Certificados | | | |
|----|---------------------|----|----|-------------------------|----------------------|-----|----|--------------------------|
| | X | DE | CV | Intervalo de aceptación | X | DE | CV | Intervalo de aceptación* |
| 13 | 50 | 2 | 4 | 48,9-51,1 | 51,1 | 0,5 | - | 34,5-63,7 |

* Calculado según "National Standards for Water Proficiency Testing Studies Criteria Document", US EPA, December, 1998, al nivel del 95% de confianza.

En la Tabla III se muestran los resultados alcanzados al comparar la desviación típica del laboratorio, obtenido bajo condiciones de repetibilidad (S_w) y la reportada en el certificado (haciendo la salvedad que se explicaba anteriormente) para la evaluación de la precisión del método estudiado. En todos los casos se obtuvo una precisión adecuada, teniendo en cuenta el criterio de aceptación.

Tabla III. Evaluación de la Precisión

| S_w (n) | σ_{wo} | $\chi_{calculada}$ | $\chi^2_{tabla (n-1; 95\%)}$ | $\chi^2_{tabla (n-1; 95\%)/(n-1)}$ |
|-----------|---------------|--------------------|------------------------------|------------------------------------|
| 2 (13) | 0,5 | 1,31 | 21,026 | 1,75 |

Como se puede observar, no existen evidencias de que el proceso de medición no sea tan preciso como se requiere, ya que $\chi_c^2 \leq \chi^2 - \text{tabla}$.

Aplicando los criterios generales de la NC ISO Guía 33⁸, utilizando los valores dados en el certificado del MRC, y comparando el sesgo con respecto a $2\sigma_D$ se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla IV

Tabla IV. Evaluación de la Veracidad

| $\bar{x}_{\text{lab}} (n)$ | $\bar{x}_{\text{cert.}}$ | Sesgo | σ_c | σ_D^* | $2\sigma_D$ |
|----------------------------|--------------------------|-------|------------|--------------|-------------|
| 50 (13) | 51,1 | -1,1 | 1,31 | 10,33 | 20,66 |

* Se tienen en cuenta los intervalos de aceptación que aparecen en el certificado.

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede afirmar que el método es tan exacto como se requiere

La NC ISO Guía 33⁸ explica que el usuario de un MRC, debe establecer los intervalos de aceptación experimentalmente, o hacer estimados basados en informaciones existentes para estos parámetros, que sean más apropiados y no circunscribirse únicamente a las indicaciones generales que aparecen en esta norma.

Por ello se decidió aplicar también los criterios específicos para los ensayos de aguas y aguas residuales, que se ofrecen por la APHA⁵. En este caso, los límites escogidos consideran los intervalos de aceptación de los porcentajes de recobrado, de acuerdo con los diferentes métodos de ensayo aplicados en este campo.

Se calculó el porcentaje de recobrado (Tabla V), de los valores hallados con respecto al valor certificado y se compararon con los intervalos ofrecidos por APHA⁵, observándose, en este caso, que el método ofrecía una veracidad adecuada a los fines con que se utiliza, lo cual concuerda con la evaluación de la Tabla IV, brindándole mayor solidez a los resultados alcanzados.

Tabla V. Comparación de los resultados con los criterios recomendados por APHA⁵.

| \bar{x}_{Lab} | $\bar{x}_{\text{Cert.}}$ | Rec (%) | Intervalo (APHA) |
|------------------------|--------------------------|---------|------------------|
| 50 | 51,1 | 98 | 90-110 |

De nuevo se obtiene que el método es tan exacto como se requiere, concordando con los resultados obtenidos al compararlos con aquellos que aparecen en el certificado del MRC.

Las evaluaciones realizadas siguiendo las recomendaciones de la norma relacionada con el uso de los MRC demuestran que el método de DQO empleado en el Laboratorio ofrece resultados precisos y veraces. Mediante el análisis realizado se demuestra que no hay diferencias entre los valores hallados en el laboratorio y los reportados en el MRC, por lo que este método de ensayo ofrece resultados trazables al NIST.

CONCLUSIONES

Se demostró que el material de referencia interno de DQO es homogéneo y estable durante 64 días, en condiciones de refrigeración, la solución diluida y durante aproximadamente 6 meses la solución más concentrada. Estos resultados permiten cumplimentar con lo establecido en las normas cubanas relacionadas con la producción de materiales de referencia.

Las evaluaciones realizadas siguiendo las recomendaciones de la norma relacionada con el uso de los MRC demuestran que el método de DQO empleado en el Laboratorio ofrece resultados precisos y veraces.

Mediante el análisis realizado se demuestra que no hay diferencias entre los valores hallados en el laboratorio y los reportados en el MRC, por lo que este método de ensayo ofrece resultados trazables al NIST.

BIBLIOGRAFÍA

1. CNM-MRD-PT-033 /Centro Nacional de Metrología/2002. Trazabilidad en las mediciones químicas. Dirección de Metrología de Materiales. Centro Nacional de Metrología, México D.F., 2002.
2. NC OIML V 2: 1995. Vocabulario internacional de términos generales y básicos de metrología. ONN. Ciudad de La Habana, 1995.
3. NC ISO Guía 30:1998, Términos y definiciones usados en relación con los materiales de referencia. ONN, Ciudad de La Habana, 1998.
4. ULTRAScientific, ULTRAcHeck™, Instructions for Use and Certificate for Analysis. Demand. USA, 2000.
5. APHA, AWWA, WEF,. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th Edition. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, 1998.
6. ISO GUIA 34:1998. Lineamientos del sistema de calidad para la producción de materiales de referencia. ONN. Ciudad de La Habana, 1998.
7. ISO GUIA 35:1998. Certificación de materiales de referencia. Principios generales y estadísticos. ONN. Ciudad de La Habana, 1998.
8. NC ISO Guía 33:1998, Uso de los materiales de referencia certificados. ONN, Ciudad de La Habana, 1998.
9. Microsoft © Excel2000, ver 9. Microsoft, USA, 2000.
10. STATISTICA for Windows, StatSoft, Inc., USA, 1998.
11. ISO 5725. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Parts 1 – 4, 1994.
12. CENAM. EMA. 2004. Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplea la técnica de Espectrofotometría de Ultravioleta-Visible, revisión 00. México D.F., 2004.
13. Jiménez Chacón J. Computación para la Calidad. Diplomado de la Calidad en los Laboratorios Analíticos. Universidad de La Habana, Ciudad de La Habana, 2002.