

RESULTADOS DE LA MEDICIÓN DE CALCIO Y HIERRO EN LECHE EN POLVO. COMPARACIÓN INTERNACIONAL SIM 8 P 5.2

Ofelia Pérez Arvizu- Juan A. Guardado Pérez- Judith V. Lara Manzano
Centro Nacional de Metrología, Km. 4,5 Carr. a los Cués
76241 Querétaro, Qro. México
operez@cenam.mx, jguardad@cenam.mx, vlara@cenam.mx

Resumen: El CENAM participó en la prueba SIM-8 P 5.2, denominada “Leche en polvo y análisis en fórmula infantil”, para la medición de calcio y hierro. Las muestras de prueba fueron preparadas por digestión en horno de microondas. Se utilizaron dos técnicas de medición diferentes: espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente, ICP-AES, y espectrometría de masas de alta resolución con plasma acoplado inductivamente, ICP- HR-MS. Se presentan los resultados de las mediciones y sus incertidumbres estimadas. Los resultados satisfactorios obtenidos en esta prueba son soporte de las capacidades de medición del CENAM.

1. INTRODUCCIÓN

La equivalencia de las mediciones a nivel internacional se establece a través de pruebas de comparación entre los institutos nacionales de metrología, estas pruebas de comparación son a la vez un medio de demostrar las capacidades de medición y de certificación desarrolladas por los laboratorios de metrología en cada país. En lo que respecta a las mediciones químicas, el CENAM participa regularmente en pruebas de comparación organizadas por el SIM (Sistema Interamericano de Metrología) y por el CCQM (Comité Consultivo para la Cantidad de Sustancia) dependiente del Comité Internacional de Pesas y Medidas. Como parte de estas pruebas de comparación, el CENAM participó en la prueba SIM-8 P5.2 “Leche en polvo y análisis de fórmula infantil” que consistió en la medición de calcio y hierro en un material de referencia preparado con este propósito por el NIST (National Institute of Standards and Technology)

La medición de minerales en leche por nebulización directa de una disolución acuosa por plasma acoplado inductivamente, se reporta que tiene baja exactitud y poca sensibilidad, esto debido al contenido de grasa en la matriz de leche y a que las partículas suspendidas provocan una atomización incompleta en el plasma [1]. La técnica de digestión en horno de microondas se recomienda ampliamente para el tratamiento de este tipo de muestras ya que una combinación apropiada de condiciones de temperatura, presión y los ácidos utilizados, aunados a que el proceso se lleva a cabo en un sistema cerrado, logran una digestión total de la materia orgánica presente.

El CENAM participó en la prueba referida empleando las técnicas de espectrometría de masas de alta resolución con plasma acoplado inductivamente (ICP-HRMS), usando estándar interno para la medición de hierro, y espectrofotometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES), con calibración externa, para la medición de calcio. Para la preparación de las muestras se desarrolló un método de digestión por microondas. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en tal prueba por los laboratorios participantes, y los resultados obtenidos por el CENAM.

2. PARTE EXPERIMENTAL

El material de prueba fueron muestras de leche entera en polvo con un contenido de proteínas, grasas, carbohidratos y minerales, enriquecida con una mezcla vitamínica de acetato de retinil, acetato de di-alfa-tocoferol y ascorbato. Los paquetes de muestra (en forma de sobre) contenían cada uno aproximadamente 130 g de material y fueron sellados bajo una mezcla de dióxido de carbono y nitrógeno. La preparación de este material estuvo a cargo del NIST.

El material de referencia certificado SRM 1846 “Infant Formula” del NIST, posee características muy similares a las del material de prueba y fue proporcionado como material de control para los propósitos de la prueba.

Antes de proceder al análisis de los materiales tanto de prueba como de control, cada paquete de material debió agitarse vigorosamente con el fin de homogeneizarlo. Se proporcionaron tres sobres de

muestra desconocida para la medición de calcio y de hierro. Cada uno de estos sobres fue subdividido en dos porciones, de tal forma que se obtuvieron seis submuestras que fueron procesadas individualmente por digestión en horno de microondas.

2.1 Digestión en horno de microondas

Con el fin de digerir la matriz de leche y para favorecer la extracción y la medición de los minerales, se desarrolló un método de digestión en horno de microondas. Se utilizó un horno marca CEM, mod. 2100, con sensor de temperatura de fibra óptica y vasos tipo ACV para presión máxima de 1,38 MPa (200 psi). Para la digestión se tomaron submuestras del material de prueba y de control de 0,25 g y se mezclaron con 8 g de ácido nítrico concentrado grado ultrex (Baker), al concluir la digestión por microondas, cada muestra se llevó a un aforo final de 50 g. Las condiciones de digestión que se emplearon se describen en la tabla 1.

Parámetros	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3	Etapa 4	Etapa 5
Potencia /W	60	60	60	60	60
Presión/kPa	138	275	585	896	1206
Tiempo/min	8	8	10	10	10
Tiempo a presión/min	3	3	5	5	5

Tabla 1 Rampa de presión – temperatura para la digestión por microondas

2.2 Medición de calcio

La medición de calcio se realizó utilizando con un equipo ICP-AES (Iris, Intrepid Thermo Elemental) con cámara de nebulización ciclónica y un nebulizador tipo Meinhard de cuarzo de 1 ml/min. Las señales medidas por el instrumento se corrigieron mediante software para eliminar el ruido de fondo, para ello se midió un blanco y una muestra en el intervalo de longitud de onda deseado y se ajustó el nivel de ruido de cada pico. En la tabla 2 se muestran los parámetros instrumentales utilizados.

El instrumento se calibró mediante seis disoluciones calibrantes preparadas gravimétricamente a partir de un material de referencia certificado de calcio del CENAM (DMR-55a “Disolución espectrométrica de calcio”) en una matriz de HNO₃ al 2%, en fracción volumen.

Parámetros de medición	Valor
Potencia de radiofrecuencia / W	1050
Flujo de nebulización (L/min)	0,45
Flujo de gas auxiliar (L/min)	0,5
Tiempo de integración (s)	30
Longitud de onda analítica/ nm	184

Tabla 2 Condiciones de operación y parámetros para la medición de calcio por ICP-AES

La secuencia de análisis se diseñó de manera que fuesen medidas dos réplicas cada muestra en orden aleatorio según se describe a continuación:

- blanco de calibración (HNO₃ al 2% en fracción volumen)
- disoluciones calibrantes (en orden de menor a mayor concentración)
- blanco de calibración
- blanco de digestión (HNO₃ ultrex)
- calibrante de control en el caso de la medición por curva de calibración externa
- muestra o material de referencia de control, seleccionados de manera aleatoria

El proceso de medición se repitió durante tres días consecutivos. El material de referencia de control siguió el mismo proceso de digestión y de medición como muestra desconocida.

Las señales obtenidas de la medición de las disoluciones calibrantes se corrigieron por el blanco de calibración y las señales de la muestra desconocida y del material de referencia de control se corrigieron por el blanco de digestión.

2.3 Medición de hierro

El hierro fue medido usando un equipo ICP-HR-MS (Element1, Finnigan MAT) equipado con una cámara de nebulización tipo Scott estándar, nebulizador de teflón de 100 µL/min y conos de níquel. Las condiciones usadas en la medición de hierro se resumen en la tabla 3.

Parámetros de medición	Valor
Potencia de radiofrecuencia/ W	1100
Flujo de nebulización (µL/min)	0,68
Resolución (masa/carga)	4200
Modo de conteo	digital
Número de barridos por muestra	25

Tabla 3 Condiciones de operación y parámetros para la medición de hierro por ICP-HR-MS

La curva de calibración del instrumento se obtuvo de seis disoluciones calibrantes preparadas gravimétricamente a partir del material de referencia certificado de hierro de CENAM (DMR 86a “Disolución Espectrométrica de Hierro”) en matriz de HNO₃ al 2%, en fracción volumen. A cada una de las disoluciones calibrantes, así como a los blancos y a las disoluciones de muestra desconocida y de material de referencia de control, se les adicionó una disolución de galio como estándar interno. Esta disolución de galio se preparó gravimétricamente a partir de una disolución espectrométrica de galio proveniente de otra fuente.

Para la medición de hierro se siguió la misma secuencia de análisis que se utilizó en la medición de calcio.

El estándar interno añadido sirvió para corregir los posibles efectos que la matriz de la muestra hubiera podido ejercer sobre el sistema de nebulización y de detección del espectrómetro de masas en la medición de hierro. La corrección por estándar interno se realiza por medio de la siguiente ecuación:

$$FR = \frac{S_{elemento} - C_{MRC\text{interno}}}{S_{MRC\text{interno}}} \quad (1)$$

donde, *FR* se denomina factor de respuesta, *S_{elemento}* y *S_{MRCinterno}* son las señales obtenidas para el hierro y para el galio respectivamente, *C_{MRCinterno}* es la concentración de galio en los calibrantes.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los contenidos de calcio y de hierro en la muestra desconocida y en el material de referencia de control se determinaron a partir de la ecuación de la curva de calibración correspondiente. Los valores de concentración obtenidos tanto para calcio como para hierro en el material de referencia de control coinciden con los valores certificados del SRM del NIST, dentro de su intervalo de incertidumbre, lo cual asegura los resultados obtenidos para la muestra desconocida.

La estimación de las incertidumbres se hizo evaluando individualmente la incertidumbre de cada variable de influencia y combinándolas según se describe en la GUM [2] y en la guía Eurachem [3]. Los resultados obtenidos de las mediciones de calcio y hierro con sus respectivas incertidumbres se describen en las tablas 4 y 5 respectivamente.

Fuentes	valor	<i>u_s</i>	unidades
MRC de calcio	1004	3	mg/kg
ω(Ca) Calibrantes	30,356	0,090	mg/kg
Curva de calibración	36,4	0,2	mg/kg
Interpolación	36,8	0,2	mg/kg
Preparación muestras	7061	40	mg/kg
Señal de calcio	130,9	1,5	cps
Método de Digestión	1,000	0,022	
MRC de control	1,0082	0,0151	mg/kg
ω(Ca) en muestras	7116	182	mg/kg
Repetibilidad	7107	49	mg/kg
Incertidumbre combinada	7017	189	mg/kg

Tabla 4 Resultados de la medición de calcio en leche por ICP-AES

Fuentes	valor	<i>u_s</i>	unidades
MRC de hierro	998	3	mg/kg
MRC de galio	984	3	mg/kg
ω(Fe) en calibrantes	0,0120	0,000036	mg/kg
ω(Ga) en calibrantes	0,0250	0,000037	mg/kg
Curva calibración	0,0180	0,00014	mg/kg
Señal de hierro	164553	4419	cps
Señal de galio	120907	1103	cps
Preparación de muestras	5659,8	0,3	mg/kg
ω(Fe) en muestras	102	5	mg/kg
Repetibilidad	104,79	0,34	mg/kg
Incertidumbre combinada	104,7	5,1	mg/kg

Tabla 5 Resultados de la medición de hierro en leche por ICP-HR-MS

Los resultados de las mediciones de calcio y hierro en la muestra desconocida de leche el polvo, con su incertidumbre expandida asociada (a un nivel de confianza del 95%), en fracción masa, ω, son respectivamente

$$\omega(\text{Ca}) = (7107 \pm 378) \text{ mg/kg}$$

$$\omega(\text{Fe}) = (104,79 \pm 10,22) \text{ mg/kg}$$

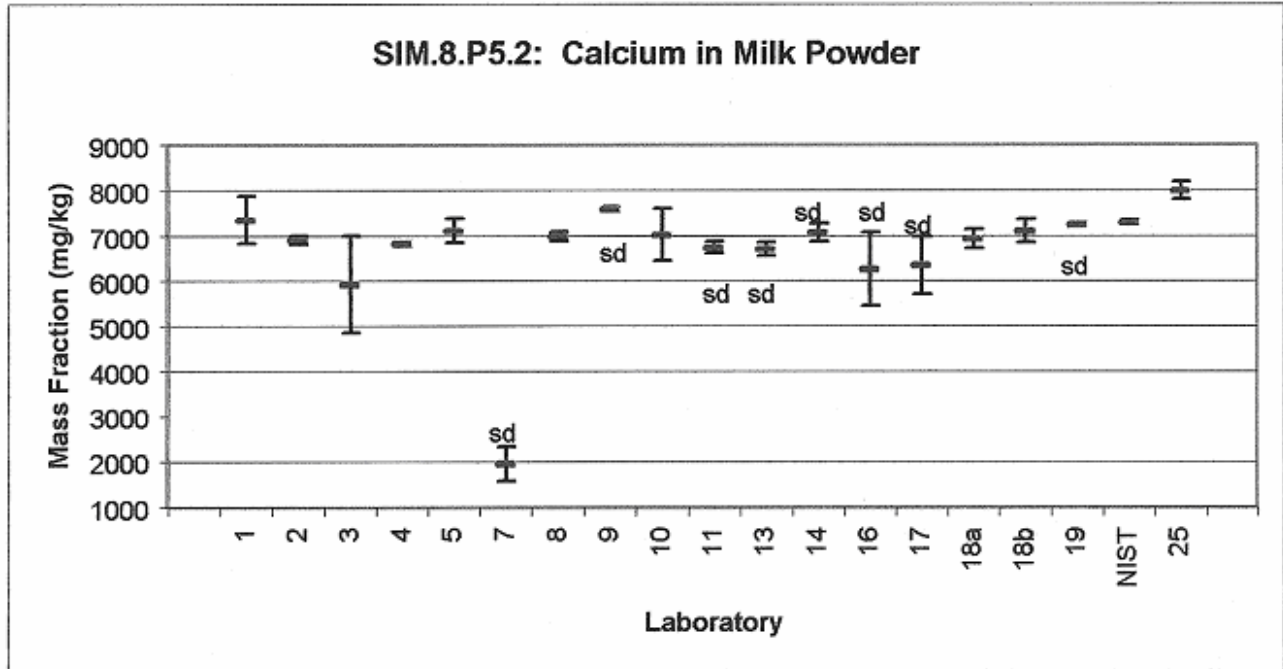


Fig 1 Resultados de calcio en leche en polvo de la prueba SIM.8.P5.2

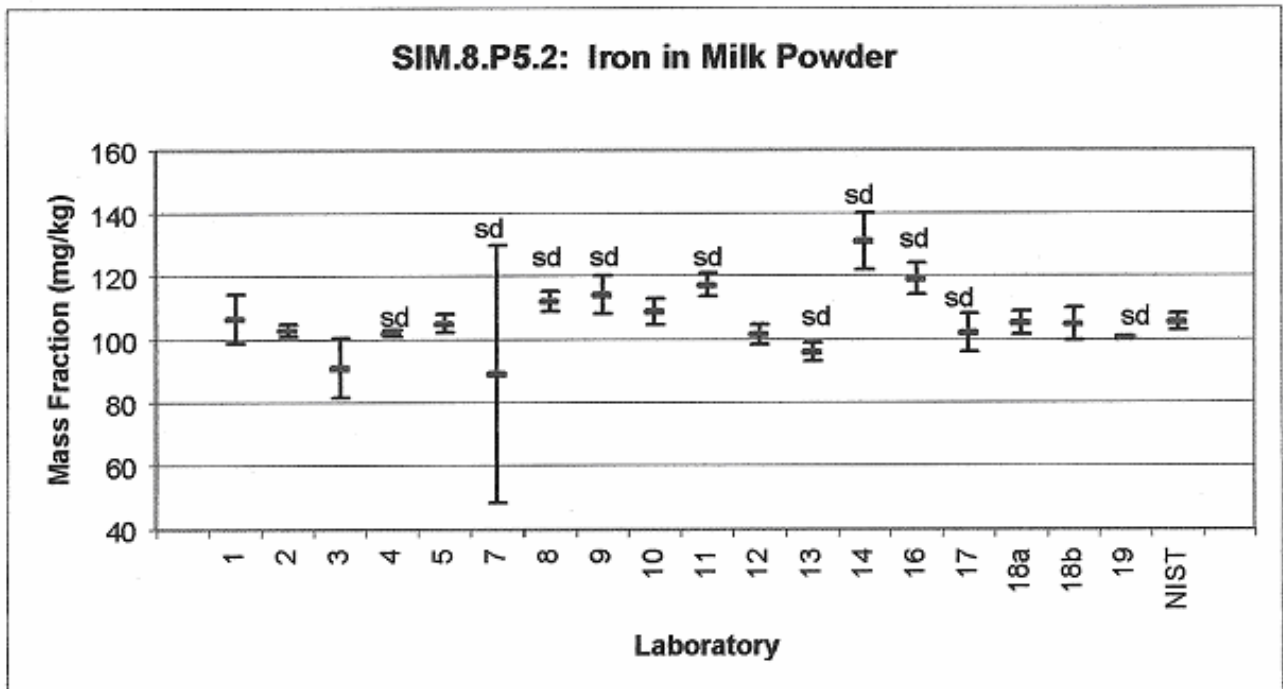


Fig 2 Resultados de hierro en leche en polvo de la prueba SIM.8.P5.2

Las figuras 1 y 2 son extractos del informe final de la prueba SIM-8 P5.2 donde se presentan los resultados obtenidos por todos los países participantes, los resultados del CENAM corresponden al laboratorio 18a y 18b. Con estos resultados se demuestra que los métodos de medición de calcio y de hierro desarrollados en el CENAM son adecuados. Así mismo, queda demostrada la competencia del CENAM en este tipo de mediciones.

Este trabajo se realizó en los laboratorios: Q018 (Preparación de muestras en área limpia), Q008 (Espectrometría de masas de alta resolución con plasma acoplado inductivamente) y Q003 (Espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente) del edificio Q en el Centro Nacional de Metrología, bajo la supervisión del Dr. Juan Antonio Guardado Pérez.

4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] J. A. Nóbrega, Y. Gélinas, A. Krusevska, R. M. Barnes, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, Vol. 12, 1997 (1243-1246)
- [2] Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure, BIPM/ISO, Ginebra, Suiza 1995
- [3] Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Eurachem/CITAC Guide, 2nd Ed. 2000