

ENSAYO DE APTITUD REALIZADO EN LATU PARA VALIDAR EL MÉTODO DE CALIBRACIÓN Y USO DE PIPETAS DE VIDRIO Y PIPETAS AUTOMÁTICAS

Claudia Santo, Pablo Constantino, Andrea Sica

Laboratorio Tecnológico del Uruguay
Av. Italia 6201, 11500, Montevideo, Uruguay.
csanto@latu.org.uy

RESUMEN

Se realizó en 2008 un ensayo de aptitud con la participación de varios analistas (nuevos en su mayoría) de los laboratorios de ensayo del LATU. Para la misma se utilizaron dos pipetas, una de vidrio de 1 ml, clase A y una pipeta automática de volumen regulable entre 0 y 1 ml, la cual se calibró para el valor correspondiente a 1 ml. Se pidió que cada analista repitiera entre 6 y 10 veces cada pipeta, con el fin de evaluar la repetibilidad en la medición. Se evaluó la media de cada analista para cada pipeta y se estimó la incertidumbre expandida del valor medio obtenido por cada analista. Se presentan los gráficos con las medias y las incertidumbres obtenidas para cada tipo de pipeta. Se realiza un estudio comparativo de los mismos. Como conclusión se evalúa la reproducibilidad de cada tipo de instrumento, en base a lo cual se realizan recomendaciones para su uso y calibración.

1. INTRODUCCIÓN

El LATU es una institución certificada por la norma ISO 9001 [1] y aproximadamente 250 ensayos químicos y físicos se encuentran acreditados por la norma ISO 17025 [2]. Está implementado por lo tanto un Sistema de Gestión que asegura la calidad de los resultados emitidos. En el punto 7.6 de la ISO 9001, así como en el punto 5.6 de la ISO 17025 se establece la necesidad de utilizar equipamiento calibrado durante la realización de los ensayos.

Como estamos hablando de una institución grande, que incluye diferentes Departamentos analíticos especializados, la cantidad de material volumétrico que se utiliza en los mismos es muy grande. En el pasado todo el material volumétrico era calibrado en el área de volumen correspondiente al Departamento de Metrología. Para mejorar la gestión de los recursos y la calidad de los resultados analíticos se implementó la política de calibrar el material volumétrico por parte del personal de cada uno de los departamentos que hace uso del mismo. Esto tiene la ventaja de asegurar que el material se calibre en las mismas condiciones y con la misma metodología con que se usa, disminuyendo de esta forma los errores sistemáticos en el uso y favoreciendo el entrenamiento del personal que utiliza el material volumétrico, haciéndolo participar del proceso de calibración.

Para evaluar la competencia del personal, la calibración del equipamiento y el aseguramiento de calidad en los distintos Departamentos, se han implementado

Ensayos de Aptitud en calibración de material volumétrico periódicos en el que participan los nuevos analistas (de forma de validar la forma de uso del material volumétrico) y analistas más experimentados (para evaluar si sus resultados siguen estando en tolerancia).

Debemos tener en consideración que los problemas detectados en la calibración del material volumétrico, reflejan problemas en el uso del mismo, o sea en todos los procesos que involucren material volumétrico.

Frente a la gran cantidad de métodos químicos existentes que involucran, a su vez, un número creciente de matrices y analitos, nos enfrentamos, desde el punto de vista metrológico, ante la falta de oferta de interlaboratorios y/o de materiales de referencia para cada método y en cada analito y matriz. Es en estos casos que se debe recurrir a la evaluación de los métodos químicos, asegurando metrológicamente cada subproceso involucrado (por ejemplo: uso de material volumétrico, extracciones, separación cromatográfica, etc.). Teniendo esto en cuenta es importante tener el subproceso de uso de material volumétrico en control.

En cada Ensayo de Aptitud, se selecciona un par de ítems de material volumétrico que son calibrados por técnicos del Departamento de Metrología para asignarles el valor de referencia. El método utilizado está plasmado en un procedimiento interno de calibración basado en las normas ISO 4787 [3] e ISO 648 [4] por ejemplo en el caso de pipetas. Luego los

¹ This paper is reproduced from the Proceedings of the Simposio de Metrología 2008, CENAM, México, with permission of its authors and the Simposio's organizers.

mismos se hacen circular según un plan especificado entre los analistas de los distintos Departamentos analíticos del LATU para que procedan a su calibración utilizando el mismo procedimiento. Luego de realizada la misma, los resultados de calibración acompañados de sus respectivas incertidumbres son informados al organizador, quien procesa los datos, evalúa los mismos y confecciona un reporte. Luego se realiza una reunión de devolución con los participantes donde se discuten los resultados, se asignan causas probables a las tendencias y desviaciones y se evalúan posibles acciones correctivas y preventivas a implementar.

En el caso del ensayo de aptitud objeto del presente estudio se evaluó la competencia de distintos analistas en el uso y calibración de una pipeta aforada de vidrio de 1 ml (la cual fue seleccionada de forma de que los errores de manipulación se vieran amplificadas por su forma de construcción y descarga) y una pipeta automática de volumen variable en la cual se seleccionó un volumen de 1 ml.

Los resultados obtenidos sirvieron no solo para evaluar la calidad de las mediciones de volumen en los Departamentos, sino también para comparar el comportamiento en el uso de estos dos tipos de pipetas y las fuentes de incertidumbre asociadas a cada una y su cuantificación.

2. PARTICIPANTES

Participaron 10 analistas de distintos departamentos del LATU, 8 de ellos pertenecientes al área química y los 2 restantes al área de volumen del Departamento de Metrología.

El valor de referencia fue calculado como el promedio ponderado de los valores obtenidos por los técnicos del área de volumen del Departamento de Metrología en el caso de la pipeta aforada y por la media aritmética de los participantes en el caso de la pipeta automática. Las mediciones de volumen son trazables al Sistema Internacional, ya que se tiene un sistema de calidad basado en la ISO 17025, y las capacidades de masa y temperatura están declaradas en el apéndice C del acuerdo de reconocimiento mutuo del CIPM. Además se ha participado en Intercomparaciones en volumen en el marco del SIM en forma exitosa.

3. RESULTADOS

3.1. Resultados Pipeta de Vidrio

Tabla 1. Resultados obtenidos para la pipeta aforada.

Analista	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Resultado Laboratorio/cm ³	0,9612	0,9655	0,9696	0,9983	0,9677	0,9925	0,9995	0,9708	0,9800	0,9926
Incertidumbre Analista/cm ³	0,0077	0,0018	0,0044	0,0054	0,0073	0,0079	0,0029	0,0012	0,021	0,0084
Valor de referencia/cm ³	0,9653	0,9653	0,9653	0,9653	0,9653	0,9653	0,9653	0,9653	0,9653	0,9653
Incertidumbre Valor Referencia/cm ³	0,0150	0,0150	0,0150	0,0150	0,0150	0,0150	0,0150	0,0150	0,0150	0,0150
Error /cm ³	-0,0041	0,0002	0,0044	0,0330	0,0024	0,0272	0,0342	0,0055	0,0147	0,0273
Error relativo	-0,0041	0,0002	0,0044	0,0330	0,0024	0,0272	0,0342	0,0055	0,0147	0,0273
Error normalizado	-0,24	0,01	0,28	2,07	0,14	1,61	2,24	0,37	0,57	1,59

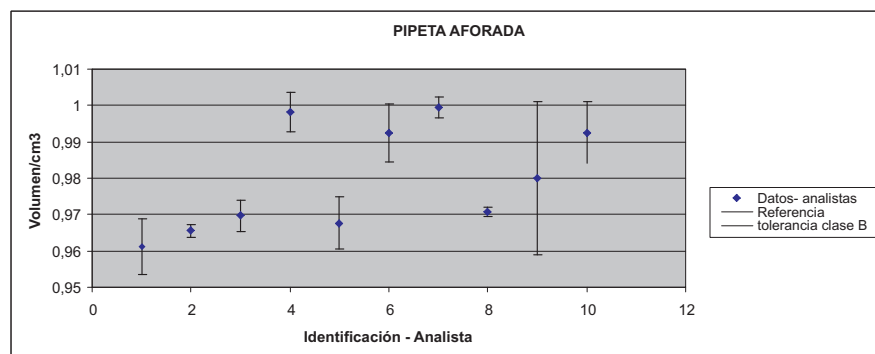


Fig.1. Gráfico de resultados con su incertidumbre- pipeta aforada.

3.2. Resultados de Pipeta Automática

Tabla 2. Resultados obtenidos para la pipeta automática

Laboratorio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Resultado Laboratorio/cm ³	1,0035	1,0056	0,9933	1,0004	1	0,9993	0,9986	1,0028	0,9995	1,0053
Incertidumbre Laboratorio/cm ³	0,0008	0,0008	0,0049	0,0044	0,0002	0,0007	0,0015	0,0008	0,0013	0,0032
Valor de referencia/cm ³	1,00083	1,00083	1,00083	1,00083	1,00083	1,00083	1,00083	1,00083	1,00083	1,00083
Incertidumbre Valor Referencia/cm ³	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
Error /cm ³	0,0027	0,0048	-0,0075	-0,0004	-0,0008	-0,0015	-0,0022	0,0020	-0,0013	0,0045
Error relativo	0,0027	0,0048	-0,0075	-0,0004	-0,0008	-0,0015	-0,0022	0,0020	-0,0013	0,0045
Error normalizado	0,53	0,94	-1,08	-0,06	-0,17	-0,30	-0,43	0,39	-0,26	0,75

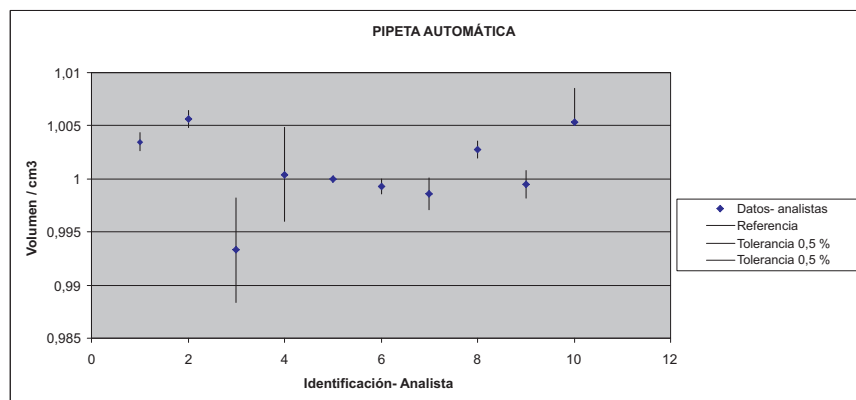


Fig. 2. Gráfico de resultados con su incertidumbre- pipeta automática.

3.3. Resultados de Repetibilidad de las dos Pipetas

Tabla 3. Desvíos estándar de los valores obtenidos para cada pipeta.

ANALISTA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PIPETA DE VIDRIO/ml	0,0108	0,0024	0,0130	0,0024	0,0065	0,0110	0,0027	0,0019	0,0182	0,0030
PIPETA AUTOMÁTICA/ml	0,0007	0,0009	0,0059	0,0050	0,0027	0,0009	0,0019	0,0009	0,0017	0,0017

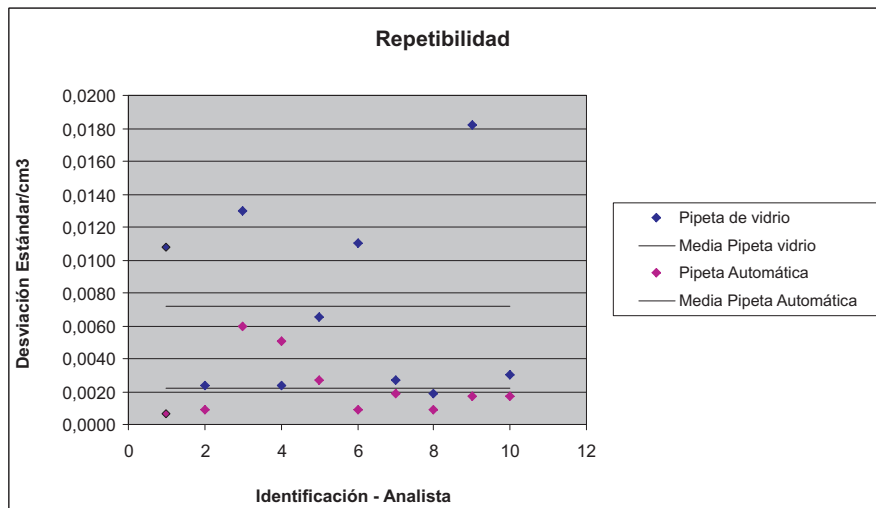


Fig. 3. Gráfico de desvíos estándar

NOTAS:

$$A) \quad E_n = \frac{E}{\sqrt{U^2_{LATU} + U^2_{LAB}}}$$

E_n - Error normalizado

E - Error = Valor informado por el analista – Valor de referencia

U_{LATU} - Incertidumbre en el valor de referencia
En el caso de la pipeta aforada se tomó igual a la tolerancia de la misma y en caso de la automática a un 0,5 % de su volumen.

U_{LAB} - Incertidumbre en el valor informado por el analista.

Un error normalizado superior a 1 implica que el error en la medición es significativo.

Es una medida del número de incertidumbres (valores que surgen de combinar la incertidumbre en el valor de referencia con la informada por cada analista) que estamos alejados del valor de referencia.

Para ver la significancia real en un posible resultado, por ejemplo de una solución valorada, si se sigue el mismo procedimiento que el utilizado en la calibración se ve en la fila de “errores relativos”. Por ejemplo el valor final de una solución valorada preparada por cada analista participante tendrá un error relativo mayor o igual que el que aparece en esta fila de la tabla.

4. DISCUSIÓN

En el caso de la pipeta aforada, 4 de los 10 analistas presentan errores normalizados mayores que 1.

En el caso de la pipeta automática todos los errores normalizados son inferiores a 1.

Inferimos que la pipeta automática tiene mejor reproducibilidad

Podemos ver además que en el caso de las pipetas automáticas los valores de repetibilidad son mejores

5. CONCLUSIONES

A los efectos de analizar los resultados obtenidos y tomar las acciones correctivas necesarias, en caso de resultados no conformes para el uso propuesto, es importante tener en cuenta que algunas de las posibles causas de errores sistemáticos pueden ser:

En el caso de la pipeta aforada:

- Errores en el enrase
 - Diferencias en la forma de vaciado de la misma respecto a la especificada en el procedimiento, sobre todo en la descarga final, ya que se debe dejar el tiempo de escurrido especificado y no realizar ningún movimiento brusco con la misma que provoque la descarga de las últimas gotas que no caen por gravedad
- Con estos errores considerados en la mayoría de los casos se obtendrían valores superiores a los que se obtienen si se sigue el procedimiento en todos sus términos

En el caso de la pipeta automática:

- Diferencias en la forma y la fuerza utilizadas para presionar el mecanismo de vaciado de la misma

En ambas pipetas:

- Errores en las mediciones de temperatura
- Errores originados por la calidad del agua destilada utilizada.

Se observa que en el caso de la pipeta aforada, hubo problemas de manipulación por parte de algunos analistas, que hacen que la reproducibilidad de los resultados no sea buena. Se eligió una pipeta de 1 ml clase B, de formato tal que los posibles errores de manipulación se vieran amplificadas, de forma de evidenciar y corregir los mismos. Esta evaluación se realizó en la reunión de discusión de resultados, donde se discutieron las posibles causas de los errores constatados, planteándose todas las posibilidades evaluadas. Se detectó que los valores que están por encima, en su mayor parte se deben a que se realizó algún movimiento brusco de la pipeta, el cual provocó la salida de la última porción de agua de su interior que en otras condiciones no se hubiera dado. Pueden haber existido problemas también en la visualización del menisco. Se resolvió entonces proceder a un entrenamiento exhaustivo del personal para unificar los criterios de uso, sobre todo en el caso de bajos volúmenes, ya que en los ensayos de aptitud anteriores, con volúmenes mayores, los resultados han sido buenos. Como en este caso se usó una pipeta que amplificaba los problemas, convendría repetir el estudio una vez finalizado el entrenamiento además con una pipeta de las

mejores de plaza y comparar el desempeño de ambas con cada analista.

En el caso de la pipeta automática, los valores obtenidos tienen una mayor reproducibilidad, lo que evidencia que el método de descarga es el mismo en todas las ocasiones y no parece depender apreciablemente de la fuerza y la forma en que cada analista realiza la descarga.

Teniendo esto en cuenta y observando los valores de repetibilidad en la Fig. 3 se evidencia que la repetibilidad y reproducibilidad de las mediciones de volumen en el caso de la pipeta automática son mejores que en el caso de la pipeta aforada de vidrio.

Este ejercicio nos hace llegar a las siguientes conclusiones:

- Cuando se usa material volumétrico aforado, sobre todo cuando sus volúmenes son pequeños, debe procederse a una apropiada selección del mismo
- Debe mantenerse un entrenamiento continuo del personal en el uso adecuado del material volumétrico
- Es recomendable, en el caso de querer minimizar las incertidumbres, que la persona que usa el material volumétrico sea la misma que lo calibra. Vemos en ambos tipos de pipetas que los valores de repetibilidad son mucho mejores que los de reproducibilidad, lo que nos hace concluir que si es la misma persona que usa y calibra, se obtendrán menores incertidumbres en los resultados
- El uso de pipetas automáticas disminuye la influencia del analista en los volúmenes entregados, siempre y cuando estas sean de buena calidad.

REFERENCIAS

- [1] ISO/IEC 17025:2005 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (2005) International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- [2] ISO 9001 Quality management systems – Requirements (2000) International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- [3] ISO 4787 Laboratory glassware volumetric glassware Methods for use and testing of capacity (1984) International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- [4] ISO 648 Laboratory glassware One-mark pipettes (1977) International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.