

DETERMINACIÓN DE Ca⁺⁺ EN EL CANDIDATO A MATERIAL DE REFERENCIA DE LECHE ENTERA EN POLVO (DMR-274F), POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON FUENTE DE PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP-MS).

Mercado Pedraza, E. B.^{a*}, Arce Osuna, M.^b, Villaseñor Ortega, F.^a y Regalado Contreras, L.^b

^a Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Avenida Garcia Cubas 1200, Fovissste, 38010, Celaya, Guanajuato, México.

^b Centro Nacional de Metrología, Dirección de análisis orgánicos, Carretera a Los Cues KM 4.5, El Marqués, 76246 Santiago de Querétaro, Querétaro, México.

* bere_3181@hotmail.com.

RESUMEN

El calcio en los organismos vivos viene principalmente de los alimentos y del agua, la leche de vaca entre otros alimentos es una fuente rica en calcio. Para la comercialización de la leche de vaca en México, la norma NOM-051-SCFI/SSA1-2010 exige que se informe al consumidor el contenido nutrimental. Por otra parte para demostrar su competencia técnica, para la acreditación por esta norma los laboratorios analíticos que miden calcio, requieren participar en ensayos de aptitud técnica y hacer uso de materiales de referencia certificados en el control de calidad de sus mediciones. La incertidumbre del resultado de la medición de Ca⁺⁺ que se realizan por métodos convencionales en los laboratorios es adecuada para su propósito, pero no para la certificación de un material de referencia (MR), por lo que se desarrolló un método de mayor jerarquía metroológica para la cuantificación de Ca⁺⁺ en el candidato a MR DMR-274f de leche entera en polvo y se validó parcialmente empleando como control el material de referencia certificado (MRC) SRM-1849a, aplicando espectrometría de masas con fuente de plasma acoplada inductivamente (ICP-MS) con celda de colisión, los resultados demostraron ser adecuados para el proceso de certificación del candidato a MR.

ABSTRACT

The main supply of calcium in life organisms come mostly from food and water and cow milk is a rich source of calcium for humans. In Mexico the nutritional content of commercial food needs to be informed to the consumers in the label as is regulated by NOM-051-SCFI/SSA1-2010. For accreditations purposes the analytical services laboratories require demonstrating their measurement capabilities in food including calcium in cow milk, mainly by a good performance in proficiency testing and by using certified reference materials (CRM) within their measurements quality control. The uncertainty of Ca⁺⁺ analysis using conventional methods in the analytical laboratory is suitable for the purpose, but not for the certification of a reference material (RM), in this work a higher metrological level method for the quantification of Ca⁺⁺ in the MRC candidate DMR-274f-whole cow milk powder was developed and partially validated using the SRM-1849a as control. This inductively coupled plasma with collision cell and mass spectrometry detector (ICP-MS) method had been successfully applied and its results had been demonstrated to be useful to contribute in the certification value of calcium in the RM candidate.

Palabras clave: MRC, MR, ICP-MS.

Área: Lácteos

INTRODUCCIÓN

Los minerales forman parte de la estructura de diversos tejidos y son importantes para la fisiología celular. El calcio y el fósforo en los huesos se combinan para dar soporte firme a la totalidad del cuerpo (FAO, 2002). En los seres humanos y otros mamíferos, el calcio tiene una función importante como componente principal de la estructura ósea. Además, es importante en funciones metabólicas, como la función muscular, el estímulo nervioso, actividades enzimática, hormonal y en el transporte del oxígeno. Cantidades pequeñas de calcio, pero de gran importancia, se encuentran presentes en los líquidos extracelulares, sobre todo en el plasma de la sangre, así como en las diversas células de los tejidos. En el suero, la mayor parte del calcio se encuentra en dos formas: ionizada y fija a proteínas (FAO, 2002). La mayoría del calcio en el organismo, viene de los alimentos y del agua que se consumen. La leche de vaca es una fuente muy rica de calcio. Mientras que un litro de leche humana contiene 300 mg de calcio, un litro de leche de vaca contiene 1 200 mg. Para la comercialización de la leche de vaca en México, se exige a través de la NOM-051-SCFI/SSA1-2010, que se informe al consumidor el contenido nutrimental, para ello los laboratorios analíticos que miden calcio y otros nutrimentos, requieren demostrar su competencia técnica a través de su participación en ensayos de aptitud en dichas mediciones. Con estos resultados y demostrando que utilizan materiales de referencia certificados (MRC) en el control de la calidad de sus mediciones, entre otros requerimientos, los laboratorios alcanzan la acreditación de sus servicios para el cumplimiento de las exigencias de dicha norma. En el control de la calidad de las mediciones del contenido de elementos esenciales, se utilizan diferentes técnicas, las principales son espectrometría de absorción atómica con flama (FAAS), o con horno de grafito, cromatografía iónica, espectrometría de emisión atómica (ICP-AES) con fuente de plasma acoplado inductivamente (Ammann, 2007; Parson y Barbosa, 2007; Fallah, *et al.*, 2011) y espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) (Nardi, *et al.*, 2009). Estas técnicas requieren en general una preparación de muestra previa a introducirse al equipo, que consiste en la descomposición de la materia orgánica de la muestra a través de una digestión. La incertidumbre de la cuantificación de Ca^{++} que se realiza por métodos convencionales en los laboratorio analíticos, es adecuada para su propósito, pero no es adecuada para la certificación de un material de referencia en un centro nacional de metrología, por lo que es necesario desarrollar un método de mayor jerarquía metrológica (mayor exactitud y menor incertidumbre) para la certificación del MR. El objetivo de este trabajo es optimizar las condiciones del espectrómetro de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente para la cuantificación de calcio con la menor incertidumbre posible para que sea adecuado para la certificación del candidato a material de referencia de leche entera en polvo (DMR-274f).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó nitrato de calcio como calibrante (Lote #J30336; J. T. Baker) y materiales de referencia certificado en disoluciones espectrometrías de calcio (SRM-309a) de una concentración de $9900 \text{ mg/kg} \pm 30 \text{ mg/kg}$ e itrio (SRM-3167a) de una concentración de $9990 \text{ mg/kg} \pm 20 \text{ mg/kg}$, para todas las preparaciones se usó agua tipo 1 con una resistividad de $18 \text{ M}\Omega$. Para las mediciones se utilizó un espectrómetro de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente con celda de colisión (ICP-MS marca Thermo Scientific, modelo iCAP Q). El funcionamiento del equipo fue verificado con la solución "tuning B" ICAP Q, que contiene Ba, Bi, Ce, Co, In, Li, U en una concentración $1.00 \text{ }\mu\text{g/L} \pm 0.05 \text{ }\mu\text{g/L}$. Para la digestión se empleó un horno de microondas (marca CEM, modelo MARS 6).

Para la cuantificación se preparó una curva de calibración de 5 disoluciones independientes de Ca en un intervalo de (800 a 3000) $\mu\text{g/kg}$, empleando Y como estándar interno. La digestión de la muestra se realizó por horno de microondas y las mediciones se realizaron por ICP-MS.

Se pesaron 0.2 g de muestra y 1.2 g de Y como estándar interno de una concentración $1031.44 \text{ }\mu\text{g/kg}$, y se utilizó el material de referencia certificado SRM-1849 como control, enseguida se llevó a cabo una predigestión a 45° C en una parrilla durante toda la noche. La digestión de la muestra se realizó en dos etapas en el horno de microondas a 160° C y a 220° C . El producto de la digestión se diluyó a un peso de 50 g con agua tipo 1, posteriormente se llevó a cabo una segunda dilución para obtener 1 % de HNO_3 en 50 g de agua tipo 1, las mediciones de cada unidad del candidato DMR-274f se realizó por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El uso de estándar interno es recomendado para el análisis de rutina por ICP-MS, esto para compensar las posibles desviaciones de los largos tiempo de análisis (Nardi, et al., 2009). Para la cuantificación de Ca^{++} se evaluaron tres elementos como estándar interno Rh, Sc e I. El itrio fue el que mejor respuesta dio para el análisis de Ca^{++} . Todas las muestras fueron preparadas con una concentración de $1031.44 \text{ }\mu\text{g/kg}$ y los estándares con una concentración de $107.77 \text{ }\mu\text{g/kg}$ de itrio. Por otra parte se evaluaron tres velocidades de flujo de He a 4.525 mL/min , 4.526 mL/min y 4.528 mL/min en la celda de colisión. La velocidad de flujo de 4.525 mL/min , fue la adecuada para el análisis de Ca^{++} en leche entera en polvo.

En la Fig. 1, se muestra la curva de regresión lineal ajustada con un coeficiente de correlación del 99 %, la cual se utilizó para la cuantificación de calcio en el material de referencia certificado SRM-1849 y en el candidato a material de referencia DMR-274f de leche entera en polvo.

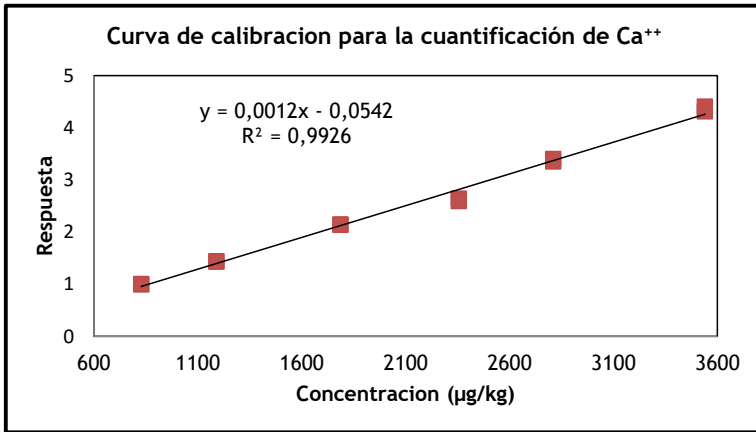


Figura 1. Curva de regresión lineal de Ca⁺⁺.

El método fue evaluado con el análisis de nueve réplicas del MRC SRM-1849 del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST). En la Tabla I, se compara el valor certificado del MRC SRM-1849 con el valor promedio medido de las réplicas.

Tabla I. Comparación del valor certificado y el valor medido de Ca⁺⁺

del material de referencia certificado SRM-1849.

Valor certificado (mg/kg)	Valor promedio medido (mg/kg)	DESVEST (mg/kg)	C. V (%)
5253±51	5286.07	85.53	1.62

En la Tabla II, se presenta el valor medido de Ca⁺⁺ en cinco muestras con tres réplicas del candidato a material de referencia DMR-274f analizadas cada una por duplicado. La incertidumbre relativa obtenida para este mensurando en leche entera en polvo es baja comparada con la obtenida por diferentes métodos en matrices similares como se muestra en la Tabla III. En donde se puede observar que el nivel de incertidumbre obtenido es adecuado para el propósito.

Tabla II. Concentración de Ca⁺⁺ en el candidato a material de referencia certificado de leche entera en polvo DRM-274f.

MUESTRA	R1 (mg/kg)	R2 (mg/kg)	R3 (mg/kg)	PROMEDIO (mg/kg)	DESVEST (mg/kg)	C.V (%)
315	9147.49	9148.05	9146.24	9147.26	0.93	0.01
189	9409.70	9181.54	9354.05	9315.10	118.96	1.28
248	9335.13	9139.90	9256.60	9243.87	98.24	1.06
13	9333.46	9280.43	9153.371	9255.75	92.54	1.00
71	9724.47	9514.80	9353.509	9530.95	186.01	1.95

PROMEDIO (mg/kg)	9298.58
DESVEST (mg/kg)	143.16
C. V (%)	1.54

Tabla III. Comparación de la incertidumbre relativa obtenida por diferentes métodos de cuantificación en matrices de leche en polvo.

Matriz	ID. Material	Instituto	Método de análisis	Valor referencia certificado (mg/kg)	Valor de referencia (mg/kg)	Incertidumbre Relativa (%)	Referencia
Leche entera en polvo	DMR-65a	CENAM	ICP-AES		9240 ± 376	4,07	Certificado no. 0684/2001
Leche entera en polvo	DMR-274c	CENAM	ICP-AES y AAF	8658 ± 209		2,41	CNM-MR-630-0264/2006
Leche entera en polvo	DMR-65b	CENAM	ICP-AES		7750 ± 240	3,10	Certificado no. 1407/2002
Infant/Adult Nutritional Formula	SRM-1849	NIST	ICP-OES y ICP-MS	5253 ± 51		0,97	SRM-1849
Infant Formula	SRM-1846	NIST	ICP-OES y AAF	3670 ± 200		5,45	SRM-1846
Leche entera en polvo	Candidato DMR-274f	CENAM	ICP-MS		9298 ± 286	1,54	

Para mejorar la variabilidad y exactitud de la medición durante el desarrollo del método se mantuvo la muestra en medio ácido, se optimizaron las condiciones del ICP-MS conjuntamente con la celda de colisión y se verificó la reproducibilidad de las condiciones instrumentales. De los resultados obtenidos de Ca⁺⁺ en el candidato a MR DMR-274f de leche entera en polvo por ICP-MS con celda de colisión se concluye que es factible usar estos resultados para la certificación del candidato MR. Este método se empleará con dilución isotópica en las próximas mediciones del calcio en leche en polvo en el candidato DMR-274f con lo que se espera mejorar y asegurar el nivel de jerarquía metrológica de la medición.

BIBLIOGRAFÍA

Ammann, AA. 2007. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS): a versatile tool. *Journal of Mass Spectrometry* 42:419-427.

Fallah, AA. 2011. Comparative study of heavy metal and trace element accumulation in edible tissues of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using ICP-OES technique. *Journal Microchemistry* 98:275-279.

Nardi EP, Evangelista FS, Tomen L, SaintPierre TD, Curtius AJ, De Souza SS, Barbosa F. 2009. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. *Journal of food Chemistry* 112:727-732.

Norma Oficial Mexicana. NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria.

Parsons, PJ. Y Barbosa, F. 2007. Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine. *Spectrochimica Acta* 62:992-1003.

Departamento de Agricultura. 2002. *Nutrición Humana en el Mundo en Desarrollo. Minerales.* Cap. 10. Disponible en : <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0e.htm>