

# PRUEBAS DE APTITUD EN LECHE PARA EL SECTOR ALIMENTOS

Laura Regalado, Miryan Balderas y Melina Pérez  
Centro Nacional de Metrología  
km 4,5, carretera a Los Cués, El Marques, Qro.  
Teléfono (442) 2 11 05 00, Fax (442) 2110569, email: lregalad@cenam.mx

## Resumen:

Este trabajo muestra los resultados obtenidos de proteína, grasa, cenizas, humedad y lactosa en siete pruebas de aptitud técnica nacional de leche en polvo organizadas por el CENAM en el periodo de 1999 hasta 2005. Estas pruebas se realizaron en colaboración con varias industrias las cuales proporcionaron los lotes de los materiales empleados. El CENAM es responsable de la asignación de los valores de referencia o valores de certificación para cada analito. Durante esta colaboración se han certificado cuatro materiales de referencia y organizado siete pruebas de aptitud técnica. La meta principal de las pruebas es el aseguramiento y mejoramiento continuo de la calidad de las mediciones analíticas a nivel nacional en el sector de alimentos. En estas pruebas se realiza la comparación de los resultados reportados por los laboratorios con los valores asignados por el CENAM. El desempeño de los participantes se considera aceptable cuando el valor del error cuadrático medio es menor al error cuadrático medio crítico (ECMC). El ECMC es tres veces la incertidumbre del CENAM. En los analitos que se incluyeron en la mayoría de las pruebas, que consistentemente contaron con mayor participación y que un mismo laboratorio midió en varias etapas, se analizó el comportamiento histórico del desempeño de los participantes utilizando gráficos de error cuadrático medio relativo (ECMR) por analito y por laboratorio. Los resultados muestran que el comportamiento de cada laboratorio es muy particular y está relacionado con sus acciones internas, pero en general existe una mejoría muy significativa de desempeño de los participantes a través del tiempo. Para analitos en los que la gran mayoría de los participante se encuentran claramente por debajo del ECMC, tales como grasa y proteína, por consenso el ECMC cambió a dos veces la incertidumbre del CENAM. Estas pruebas se continúan ofreciendo anualmente de forma abierta a nivel nacional en CENAM.

## 1. INTRODUCCIÓN

En 1998 el CENAM estableció un programa de desarrollo de materiales de referencia (MR) en colaboración con la industria. En este proceso se identificó la necesidad de contar con materiales de referencia certificados (MRC) para el sector alimentos, identificándose como prioritario el de leche entera en polvo. El objetivo de esta colaboración es el aseguramiento y mejoramiento continuo de la calidad de las mediciones analíticas a nivel nacional en el sector de alimentos, a través del uso adecuado de estos MRC y la participación de los laboratorios interesados en pruebas de aptitud técnica. Se inicio con el desarrollo de MRC de leche y pruebas de aptitud técnica anuales de diferentes analitos en leche, hasta el momento se han certificado tres materiales de referencia de leche entera en polvo y uno de leche descremada en polvo y se han realizado siete estudios o pruebas de aptitud técnica. Para llevar a cabo este programa se ha contado con la colaboración de diferentes industrias productoras de leche y fabricantes de equipo. Nestlé de México y Ganaderos Productores de Leche Pura proporcionaron lotes de leche entera

y descremada respectivamente. Waters de México S.A de C.V., fabricante de cromatógrafos de líquidos proporcionó en convenios de comodato 2 sistemas de cromatografía de líquidos de alta resolución para agilizar el proceso de medición durante el desarrollo de materiales de referencia y de pruebas de aptitud técnica. Waters de México S.A de C.V. ha mantenido los convenios de comodato hasta el momento. En este trabajo se presentan los principales resultados de los siete estudios o pruebas de aptitud técnica.

## 2. DESARROLLO

El desarrollo de las pruebas de aptitud técnica de leche en polvo se hace a través de una invitación abierta y se convoca a industrias, laboratorios públicos y privados, instituciones de educación, laboratorios de tercería, e interesados en general. La metodología a seguir se especifica en el protocolo de la prueba, en las primeras seis pruebas se solicitó emplear el método de su elección y en la última se especificó emplear el método de la norma oficial mexicana correspondiente a cada analito. Actualmente el

protocolo de la prueba se puede consultar por Internet. Las muestras son enviadas a los laboratorios participantes a través de mensajería. Los valores de referencia o valores de referencia certificados y su incertidumbre asociada son asignados por el CENAM durante el proceso de certificación del lote; los métodos analíticos establecidos por el CENAM para la asignación de los valores de los diferentes materiales empleados en las pruebas se presentan en la tabla 1. CENAM utiliza materiales de referencia certificados de matrices similares para control de calidad de sus mediciones. Después de cada prueba, se realiza un seminario abierto de reporte y discusión de resultados y posteriormente se entrega un informe final a todos los participantes. Los analitos que se incluyeron en cada prueba variaron de acuerdo a lo acordado en los seminarios, a las características de cada lote, a las capacidades de medición y metodologías implementadas en CENAM.

Tabla 1. Métodos analíticos empleados por el CENAM.

Analito	Método
Proteína	Kjeldahl [1]
Grasa	Roese-Gottlieb [2]
Cenizas	Gravimétrico [3]
Humedad	Gravimétrico [4]
Lactosa	Cromatografía de líquidos de alta resolución [5]
Vitamina A y E	Cromatografía de líquidos de alta resolución [6]
Vitamina C	Cromatografía de líquidos de alta resolución [7]
Acido linoleico y linoléico	Cromatografía de gases [8]
Minerales	Espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) y ICP-AES [9]
Metales pesados	Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción (ICP-MS) [10]

Las características de cada prueba y los analitos considerados en cada una de ellas se describen en los puntos 2.1 a 2.7.

### 2.1 Primera prueba.

Esta prueba consistió de un estudio de comparación, que se caracterizó por la simple comparación de los resultados de los participantes,

ya que no se emitieron valores de referencia por CENAM por no contarse con ellos al momento. El material empleado fue leche entera en polvo, en muestras de 360 g. En esta primera etapa se consideraron las mediciones de proteína, vitaminas A, E y C y los metales pesados arsénico, plomo, cadmio y aluminio [8]. En esta prueba participaron 13 laboratorios.

### 2.2. Segunda prueba.

El material empleado para esta prueba fue leche entera en polvo, en muestras de 360 g. En esta prueba se reportó aptitud técnica para proteína, cenizas, grasas, vitaminas (A, E y C), metales pesados (arsénico, plomo, cadmio y aluminio) y minerales (sodio, potasio, calcio, magnesio y hierro) [11], mientras que para humedad, lactosa y carbohidratos sólo se realizó una comparación simple de los resultados de los participantes, ya que no se emitieron valores de referencia por CENAM por no contarse con ellos al momento. En esta prueba participaron 31 laboratorios; los valores de referencia establecidos por el CENAM para el material empleado en esta prueba se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Valores de referencia establecidos para el material empleado en la segunda prueba.

Analito	Valor de referencia	Incertidumbre
g/ 100g		
Proteína	19,07	0,21
Grasa	24,32	0,34
Cenizas	4,31	0,07
µg/g		
Vitamina A	6,79	0,57
Vitamina E	108,9	19
Vitamina C	646,3	37,3
mg/kg		
Sodio	2509	63
Potasio	9240	376
Calcio	6931	199
Magnesio	615	14
Hierro	27,72	2,34

### 2.3. Tercera prueba.

En esta prueba se reportó aptitud técnica para proteína, cenizas, grasas, humedad, lactosa y vitaminas (A, E y C), metales pesados (arsénico, plomo, cadmio y aluminio) y minerales (sodio,

potasio, calcio, magnesio y hierro) [12], el material empleado fue leche entera en polvo en presentación de 130 g y se tuvo la participación de 25 laboratorios. En la tabla 3 se presentan los valores de referencia establecidos por el CENAM para los analitos evaluados.

*Tabla 3. Valores de referencia establecidos para el material empleado en la tercera prueba.*

Analito	Valor de referencia	Incertidumbre
g/ 100g		
Proteína	20,37	0,55
Grasa	22,66	0,43
Cenizas	4,87	0,02
Humedad	3,23	0,05
Lactosa	30,87	1,82
µg/g		
Vitamina A	7,07	0,51
Vitamina E	98,63	10,42
Vitamina C	409,98	24,16
Sodio	3050	50
Potasio	10210	600
Calcio	7750	240
Magnesio	950	17
Hierro	103,61	5,02

#### 2.4. Cuarta prueba.

En esta prueba se reportó aptitud técnica para: proteína, grasa, cenizas, humedad, lactosa, minerales (sodio, potasio, calcio, magnesio y hierro), vitamina C y la simple comparación de los resultados de los participantes para metales pesados (arsénico, aluminio, cadmio y plomo) [13], ya que no se emitieron valores de referencia por CENAM por no contarse con ellos, el material empleado fue leche descremada en polvo en presentación de 30 g y se tuvo la participación de 24 laboratorios. En la tabla 4 se presentan los valores de referencia para los analitos evaluados.

*Tabla 4. Valores de referencia establecidos para el material empleado en la cuarta prueba.*

Analito	Valor de referencia	Incertidumbre
g/ 100g		
Proteína	34,96	0,67
Grasa	3,58	0,48
Cenizas	7,96	0,05
Humedad	3,18	0,04
Lactosa	49,61	1,46

	mg/kg	
Sodio	4641,96	442,86
Calcio	11999,40	776,25
Magnesio	1258,89	79,10
Hierro	1,82	0,16

#### 2.5. Quinta prueba.

En esta prueba se evaluó aptitud técnica para proteína, grasa, cenizas, humedad, lactosa, vitaminas (A, E y C) y ácidos grasos (linoleico y linolénico) [14], el material empleado fue el mismo que en la tercera prueba, se tuvo una participación de 23 laboratorios.

#### 2.6. Sexta prueba.

En esta prueba se evaluó aptitud técnica para proteína, grasa, cenizas, humedad y lactosa [15], el material empleado fue el mismo que en la cuarta prueba y se tuvo la participación de 23 laboratorios.

#### 2.7. Séptima prueba.

En esta prueba se evaluó aptitud técnica para: proteína, grasa, cenizas, humedad, lactosa y minerales (sodio, potasio, calcio y magnesio) [16], el material empleado fue leche entera en polvo en presentación de 130 g. Se tuvo la participación de 23 laboratorios. En la tabla 5 se presentan los valores de referencia para los analitos evaluados.

*Tabla 5. Valores de referencia establecidos para el material empleado en la séptima prueba.*

Analito	Valor de referencia	Incertidumbre
g/ 100g		
Proteína	25,27	0,43
Grasa	28,02	0,70
Cenizas	5,76	0,042
Humedad	3,02	0,08
Lactosa	35,47	1,17
mg/kg		
Sodio	3407	209
Calcio	8658	209
Magnesio	849	25
Potasio	12717	519

#### 2.8. Criterio de evaluación

Para evaluar la aptitud técnica durante todas las etapas se utilizó el criterio de evaluación del error cuadrático medio (ECM). El error cuadrático medio

(ECM) es una medida del tamaño del error de medición y es calculado de acuerdo a la ecuación 1 que se describe a continuación:

$$ECM = \sqrt{b^2 + s^2} \tag{1}$$

donde:

b = sesgo

s = desviación estándar

Para el cálculo del ECM de cada laboratorio para cada analito se combina, la contribución del sesgo (medida del error sistemático) y la contribución de la desviación estándar (medida del error aleatorio) a través de la ecuación 1.

Este criterio compara el ECM de cada laboratorio con el error cuadrático medio crítico (ECMC). El ECMC se obtiene multiplicando por 3 la incertidumbre (U) (ver tablas 2 a 5) asociada al valor de referencia determinado por el CENAM. Los laboratorios que obtienen valores de ECM mayor al ECMC se consideran no aptos técnicamente para la medición de ese analito en la matriz utilizada en esa prueba en particular.

Una manera de evaluar la capacidad de medición de los laboratorios en las distintas pruebas es por medio del error cuadrático medio relativo (ECMR), que equivale a dividir el ECM de cada laboratorio entre la incertidumbre (ver tablas 2 a 5) reportada por el CENAM. En el criterio establecido por CENAM la capacidad de medición de los laboratorios es adecuada cuando tienen un ECMR menor tres (ver Figuras 1 a 5). En los analitos en que todos los ECMR de los participantes caen por debajo de tres, en consenso con los participantes se ha modificado dicho criterio a ECMR menor a dos, los analitos que se evalúan con este nuevo criterio son proteína y grasa.

### 3. RESULTADOS

Se presentan solamente los resultados de los analitos que se consideraron en la mayoría de las etapas, los analitos que tuvieron mayor participación y que un mismo laboratorio midió en varias etapas. Las figuras 1, 2, 3, 4 y 5 presentan las gráficas de los resultados de los valores de ECMR para cada analito bromatológico por laboratorio y por etapa.

La figura 1 presenta los valores de ECMR para proteína por laboratorio participante durante las siete etapas.

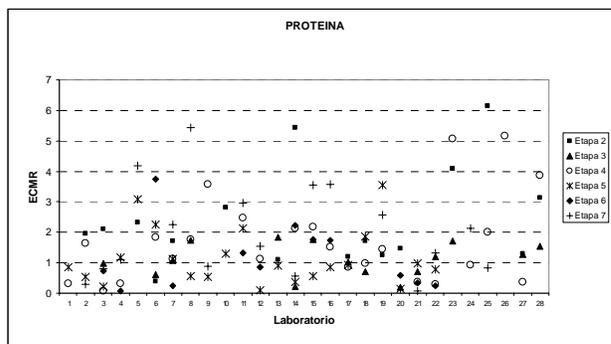


Fig. 1 Valores de ECMR para proteína por laboratorio participante durante las 7 etapas.

La figura 2 presenta los valores de ECMR para grasa por laboratorio participante durante las siete etapas.

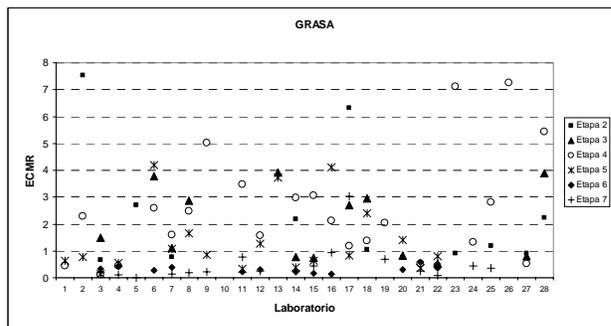


Fig. 2 Valores de ECMR para grasa por laboratorio participante durante las 7 etapas.

La figura 3 presenta los valores de ECMR para cenizas por laboratorio participante durante las siete etapas.

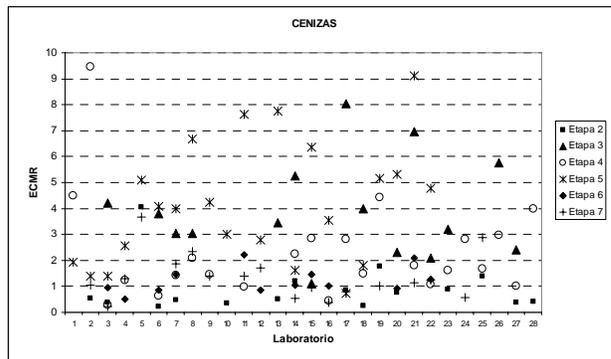
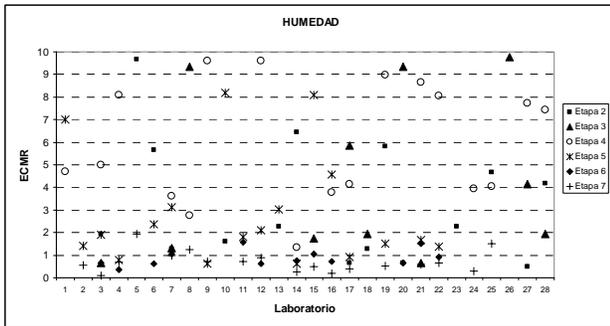


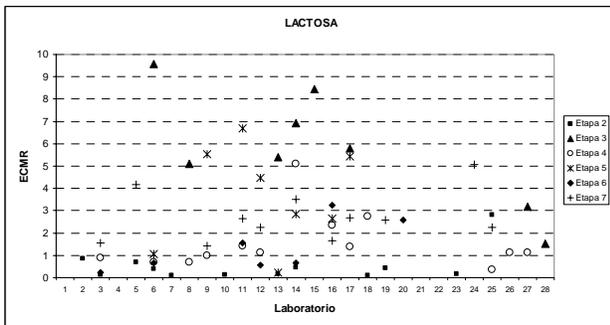
Fig. 3 Valores de ECMR para cenizas por laboratorio participante durante las 7 etapas.

La figura 4 presenta los valores de ECMR para humedad por laboratorio participante durante las siete etapas.



**Fig. 4** Valores de ECMR para humedad por laboratorio participante durante las 7 etapas.

La figura 5 presenta los valores de ECMR para lactosa por laboratorio participante durante las siete etapas.



**Fig. 5** Valores de ECMR para lactosa por laboratorio participante durante las 7 etapas.

**4. DISCUSIÓN**

La participación de los laboratorios no es homogénea durante todas las etapas, hay laboratorios que han participado en todas las pruebas, hay laboratorios que han suspendido su participación y hay nuevos laboratorios que se han integrado en diferentes etapas.

Para proteína en la figura 1 se destacan los laboratorios 2 y 25, por su significativa mejoría en su capacidad de medición a través de las distintas etapas, mientras que el laboratorio 5 disminuye su desempeño.

Para grasa en la figura 2 es importante destacar los laboratorios 2, 9, 11, 14 y 15 que muestran una

mejoría en su capacidad de medición en las diferentes etapas.

Para las mediciones de cenizas en la figura 3 se observa que el valor de ECMR va disminuyendo a través de las diferentes etapas en los laboratorios 3, 14 y 21.

Para las mediciones de humedad en la figura 4 los laboratorios 3, 8, 12, 14, 16, 17, 19 y 25 muestran una marcada disminución en los valores de ECMR a través de las diferentes etapas, lo que indica una mejoría en su capacidad de medición.

Para las mediciones de lactosa en la figura 5, se observa una gran mejoría de desempeño en la mayoría de los laboratorios. Sin embargo existen laboratorios como el 5 que aparentemente han empeorado su desempeño; otros como el 6, 14 y 17 que su comportamiento ha sido heterogéneo.

Con base a los resultados presentados y en consenso con los participantes para los analitos proteína y grasa se ha disminuido el criterio del ECMC de tres a dos veces la incertidumbre del CENAM lo que equivale a un ECMR de dos, esto debido a que los laboratorios han mejorado en gran medida su capacidad de medición. Se pretende que en un futuro se pueda reducir el criterio de aceptación para otros analitos, a medida que los laboratorios demuestren una mejora en su capacidad de medición. El comportamiento de cada laboratorio es muy particular y esta relacionado con sus acciones internas, tales como optimización de métodos, cambio de método, cambio de condiciones ambientales, cambio de analistas, pero en general existe una mejoría muy significativa de desempeño de los participantes a través del tiempo en todos los analitos.

**5. CONCLUSIONES**

A través de las diferentes pruebas de aptitud que ha realizado el CENAM, los laboratorios participantes han podido evaluar su capacidad de medición e identificar los problemas técnicos de sus métodos de medición y así poder realizar la mejora continua en su sistema de aseguramiento de calidad.

Existe una mejoría muy significativa de desempeño de los participantes a través del tiempo. Para grasa y proteína por consenso el ECMC cambió a dos veces la incertidumbre del CENAM.

Se continuará ofreciendo estas pruebas para todos aquellos laboratorios que estén interesados en demostrar su capacidad de medición en leche y en

otras matrices como pollo y vegetales, mezcla de frutas, cereales, entre otros.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todos los participantes en las pruebas de aptitud.

A las compañías que han apoyado para que estas pruebas continúen.

### REFERENCIAS

- [1] Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. Nitrogen (Total) in milk, Kjeldahl method. 920.105. 15th edition. Vol. 2, 1990.
- [2] Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. Fat in milk, Roesse-Gottlieb method. 905.02. 15th edition. Vol. 2, 1990.
- [3] Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. Ash of milk, Gravimetric method. 945.46. 15th edition. Vol. 2, 1990.
- [4] Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. Solids (Total) in milk, IDF-ISO-AOAC method. 925.23. 15th edition. Vol. 2, 1990.
- [5] Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. Fructose, glucose, lactose, maltose and sucrose in milk chocolate, Liquid chromatographic method. 980.13. 15th edition. Vol. 2, 1990.
- [6] K. Sharpless, S. Schiller, S. Margolis, J. Brown, G. Venkatesh, J. Colbert, T. Gills and S. Wise. Certification of nutrients in standard reference material 1846: Infant formula. J. AOAC Int. Vol. 80, No. 3, 1997, 611-621.
- [7] S. Margolis and R. Schapira. The measurement of L-ascorbic acid and D-ascorbic acid in biological samples. J. Chromatogr. 1997, 25-33.
- [8] AOCS Official method Ce 1b-89. Fatty acid composition by GLC. Sampling and analysis of commercial fats and oils. 1997.
- [9] I. Karadjova; S. Girousi, E. Iliadou, and I. Stratis Determination of Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni and Pb in Milk, Cheese and Chocolate, Mikrochim. Acta 2000, No.134, 185-191.
- [10] F. A. Rivero Martino, M. L. Fernández Sánchez, A. Sanz-Medel, The potential of double focusing-ICP-MS for studying elemental distribution patterns in whole milk, skimmed milk and milk whey of different milks, Analytica Chimica Acta, 2001 No.442, 191-200.
- [10] S. Margolis y R. Schapira. The measurement of L-ascorbic acid and D-ascorbic acid in biological samples. J. Chromatogr. 1997, 25-33.
- [11] División de Materiales Orgánicos, Informe de prueba interlaboratorio en el análisis de leche entera en polvo, primera (630-IL-1098) y segunda etapa (630-IL-0200), 2000.
- [12] División de Materiales Orgánicos, Informe de la prueba interlaboratorio en el análisis de leche en polvo, tercera etapa (630-IL-0201), 2001.
- [13] División de Materiales Orgánicos, Informe de la prueba interlaboratorio de leche descremada en polvo, cuarta etapa (630-IL-0502), 2002.
- [14] División de Materiales Orgánicos, Informe final del estudio de comparación en el análisis de leche en polvo, quinta etapa (630-Q016-1203-PA), 2004.
- [15] División de Materiales Orgánicos, Informe final prueba de aptitud técnica nutrientes en leche (630-Q016-0005-PA), 2004.
- [16] División de Materiales Orgánicos, Informe final de la prueba de aptitud técnica "nutrientes en leche" (630-Q016-0028-PA), 2005.