

PRUEBAS DE APTITUD TÉCNICA PARA ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DE ALIMENTOS DENTRO DE UN LABORATORIO DE SERVICIO EN MÉXICO

Myrna L. Yeveerino G.¹, Yolanda A. Gracia V.², Guillermo E. Arteaga M.².

¹Laboratorio de Alimentos, Medicamentos y Toxicología, ²Laboratorio de Investigación en Ciencias de los Alimentos y Ambientales, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Av.

Pedro de Alba s/n Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N. L., México.

Tel. (81) 8329-4000 ext. 6220, 6221. Fax (81) 8352-9891. E-mail: myeverin9@hotmail.com

Resumen: Los laboratorios de prueba deben ser verificados en su desempeño a través de pruebas de aptitud. El presente trabajo reporta los resultados obtenidos en la evaluación de aptitud técnica para tres pruebas utilizadas en el área de alimentos (humedad, proteínas y cenizas), dentro de un laboratorio de servicio, utilizando el servicio del Centro Nacional de Metrología. En este laboratorio para todas las determinaciones el valor obtenido experimentalmente estuvo dentro del valor establecido como criterio de aceptación del método. Aplicar sistemáticamente este tipo de evaluaciones permite a los laboratorios tener la confiabilidad para demostrar su competencia y calidad analítica.

1. INTRODUCCIÓN

El aseguramiento de calidad, incluso para fines legales en las empresas productoras de alimentos, requiere de análisis, los cuales pueden ser de tipo microbiológico y/o químicos, entre otros. Deben incluir todas las etapas del proceso desde el análisis a las materias primas (análisis a proveedores) hasta el producto terminado. En México, el organismo que acredita los laboratorios de ensayo es la organización no-gubernamental denominada Entidad Mexicana de Acreditación (EMA). En la actualidad en México, los laboratorios acreditados en análisis de alimentos, incluyendo el agua potable, son menos de 90, algunos de ellos están acreditados solo en pruebas microbiológicas, otros en pruebas fisicoquímicas o especiales como las sensoriales o reológicas. Dichos laboratorios deben cumplir de manera obligatoria los requisitos de la NMX-EC-17025-IMNC-2006 Norma Mexicana "Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración" [1] y de acuerdo al numeral 5.9 que habla acerca del aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y calibración que al calce declara que el laboratorio debe contar con procedimientos de control de calidad para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos y debe de incluir, entre otros, el uso regular de materiales de referencia certificados, la participación en comparaciones interlaboratorios o programas de ensayos de aptitud.

Numerosos factores influyen en la validez de los resultados de ensayo del análisis de los alimentos

tales como: matrices complejas, especificidad del método, precisión, exactitud, sensibilidad, límite de cuantificación e intervalo de trabajo. Una de las mejores formas de determinar la validez de los resultados de análisis es usando controles como materiales de referencia, en programas de ensayo de aptitud, tales como las pruebas interlaboratorio. En México, una de las organizaciones que ofrecen pruebas de aptitud técnica es el Centro Nacional de Metrología (CENAM) para que de esta forma los laboratorios de prueba puedan contar con una evaluación imparcial y demostrar así la confiabilidad de los resultados que allí se generan.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El laboratorio posee un manual de la organización donde se establece la política de participación en pruebas de aptitud en cada una de las ramas y subramas, declarando que será cuando menos una vez cada cuatro años, registrado en un programa de participación, en el formato FO-FCQ-SST/067 e informado a la Entidad Mexicana de Acreditación A.C. de los resultados obtenidos.

Para llevar a cabo esta prueba de aptitud técnica (PAT) adquirida al CENAM, se debe seguir el procedimiento reportado en la página de internet del organismo (www.cenam.mx/materiales/paptitudtecnica/).

La muestra se registró en nuestra bitácora de recepción del elemento de ensayo, para después generar una orden de trabajo para los químicos analistas, que contiene la clave de identificación y las determinaciones a realizar, esto fue para que la muestra se analice en condiciones rutinarias de trabajo. Los análisis fueron realizados en diferente día y por los tres diferentes analistas que se encargan de los análisis fisicoquímicos de alimentos. Cada analista siguió el procedimiento

analítico establecido para determinar cenizas por incineración, proteínas determinando nitrógeno total por Kjeldahl y grasa (extracto etéreo) por el método Soxhlet.

Nuestros procedimientos analíticos contienen información que describe todo el proceso analítico desde el tratamiento, submuestreo (que en este caso se omitió pues la muestra era una muestra homogénea), hasta la realización de cálculos y resultados.

Se solicitó a cada uno de los analistas que reportaran los valores de las réplicas, generando un pre reporte de resultados, el cual se supervisó y se realizó el análisis estadístico para informarlo al CENAM, ese reporte incluyó el valor promedio, la desviación estándar y la incertidumbre asociada al proceso de medición del laboratorio.

Se analizaron solo 5 réplicas (el CENAM recomienda 6) porque para la medición de proteína, el procedimiento indica que el análisis se efectúe a partir de 1 g de muestra, para el extracto etéreo con 2 g y para el de cenizas con 3 g. La suma de la muestra utilizada fue mayor a los 30 g y la muestra proporcionada fueron solo 40 g, a repartir para en las tres mediciones, cabe aclarar que esta cantidad es justo para analizar 6 réplicas, pero en lo particular para las necesidades del laboratorio, se utilizó la muestra restante para realizar la determinación de humedad porque en una prueba de aptitud anterior, la humedad fue un mensurado que no cumplió con el criterio de aceptación.

Dentro de los resultados que emite el CENAM es el criterio de evaluación lo más importante, éste está basado, en el cálculo del Error Cuadrático Medio Crítico (ECM_c), el cual se obtiene a partir de la incertidumbre (U) asociada al valor de referencia medido por el CENAM por un factor numérico de 3, por lo tanto el criterio de aceptación para el laboratorio será 3 veces la incertidumbre medida por el CENAM.

Por definición el error cuadrático medio (ECM) es una medida del tamaño del error de la medición, el cual se ve afectado por la contribución del sesgo (medida del error sistemático) y de la varianza (medida del error aleatorio) [7]. Ambos datos obtenidos de los resultados reportados por cada uno de los participantes. El ECM se representa en la ecuación (1).

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

Donde:

b = sesgo de la medición del laboratorio.
s² = varianza de las mediciones del laboratorio.

En condiciones ideales, la medición tendría un sesgo b = 0 y una varianza s² = 0.

A continuación se describe la obtención de cada uno de estos factores de contribución:

a) Valor promedio de cada uno de los mensurandos, que es la sumatoria de todos los valores analíticos obtenidos entre el número de eventos, ver ecuación (2).

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \tag{2}$$

b) Desviación estándar (s) la cual da información sobre la precisión, pues describe la dispersión de las mediciones analíticas alrededor de la media que corresponde a la ecuación (3).

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [(x)_i - \bar{x}]^2}{n - 1}} \tag{3}$$

c) Sesgo el cual indica la exactitud con respecto a un valor de referencia o "valor verdadero". El sesgo, se calcula como el valor absoluto de la diferencia entre el valor de referencia y el valor promedio obtenido por el laboratorio:

$$sesgo = |x_{ref} - \bar{x}_{lab}| \tag{4}$$

El criterio de aceptación para cada uno de los analitos evaluados, es que el ECM del laboratorio sea menor o igual al ECM_c

$$ECM (\text{laboratorio}) \leq ECM_c = 3U \tag{5}$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los parámetros del análisis bromatológico de la muestra de referencia harina de maíz se muestran en la tabla 1 donde se reportan los resultados obtenidos de 5 repeticiones de los análisis de proteínas, grasas y cenizas efectuados por tres analistas responsables de las pruebas fisicoquímicas en el Laboratorio de Alimentos, Medicamentos y Toxicología, además se consideraron diferentes días utilizando el mismo equipo. Uno de los analistas realizó solo una réplica, por la cantidad de muestra limitada.

Tabla 1. Resultados Analíticos

Parámetro	Proteína g/100g	Grasa g/100g	Ceniza g/100g
R1	8.4897	4.1291	1.2514

R2	8.5764	4.1344	1.2449
R3	8.5962	4.2294	1.3338
R4	8.4526	4.2314	1.3389
R5	8.4409	4.3004	1.2931
Promedio	8.51	4.20	1.29
Desviación Estándar	0.07	0.07	0.04

R = Repetición

En la Tabla 2 se muestran los resultados que indican el sesgo, reportado por el CENAM (en el momento del envío de los resultados del laboratorio, se desconoce el valor de referencia, por lo tanto no es posible calcularlo) y los valores de las variables estadísticas asociadas con la estimación de la aptitud de los métodos analíticos utilizados.

Tabla 2. Datos Estadísticos

Parámetro	Proteína g/100g	Grasa g/100g	Ceniza g/100g
Sesgo	0.061	0.115	0.025
ECM	0.094	0.136	0.051
ECMc	0.87	0.42	0.069
Valor de Referencia	8.45	4.32	1.32

Las fuentes de error que se consideraron en la determinación de proteínas (método volumétrico) son: linealidad de la balanza analítica, material volumétrico (bureta, matraces de aforación, pipetas), pureza de los estándares primarios, pesos atómicos y la repetibilidad del analista (estimada a partir de la desviación estándar de las mediciones entre la raíz del número de repeticiones). El cálculo de la incertidumbre combinada es igual a la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de la incertidumbre de la reproducibilidad más la incertidumbre del material volumétrico, más la incertidumbre atribuida a los estándares primarios (incertidumbre de la masa atómica de los estándares debida a su pureza más la incertidumbre de la pesada).

Como fuentes de incertidumbre de las mediciones gravimétricas (grasas y cenizas) se tomaron en cuenta las especificadas en la guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre CENAM-EMA (2008) [8] en donde se declara la calibración de la balanza analítica (linealidad de la balanza) y la repetibilidad y reproducibilidad del analista. El cálculo de la incertidumbre está estimada, a partir de la desviación estándar de las mediciones, entre la raíz cuadrada del número de repeticiones. La incertidumbre combinada es igual a la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de la incertidumbre de la reproducibilidad más la

incertidumbre de la balanza, para el intervalo de peso.

En todas las determinaciones (proteína, grasa y cenizas) el valor obtenido experimentalmente y reportado, estuvo dentro del intervalo establecido por el CENAM, como criterio de aceptación del método.

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de la estimación de la incertidumbre asociada a cada uno de los métodos utilizados para evaluar proteínas, grasas y ceniza en las muestras de harina de maíz.

Tabla 3. Datos de Incertidumbre

Incertidumbre (u)	Proteína g/100g	Grasa g/100g	Cenizas g/100g
Calculada por Laboratorio	± 0.11	± 0.06	± 0.04
Material de Referencia	± 0.29	± 0.14	± 0.02

De acuerdo a los resultados de la tabla anterior se observa que tanto para la determinación de proteínas, como para la determinación de grasas (método Soxhlet) en ambos casos, la incertidumbre calculada por el laboratorio representa menos del 50 % que la reportada por el material de referencia, lo cual indica confiabilidad y uniformidad de las mediciones, no sucediendo lo mismo con la determinación de cenizas, donde el valor de incertidumbre calculada por el laboratorio representa aproximadamente el 50 % por encima de lo reportado por el material de referencia, esto indica que el laboratorio de prueba deberá analizar sus fuentes de error para disminuir las desviaciones. Obviamente para el cálculo de incertidumbre es necesario revisar si se consideraron todas las fuentes de error.

4. CONCLUSIONES

En México a través del Centro Nacional de Metrología se pueden adquirir materiales de referencia de prueba que constituyen un procedimiento sencillo y al alcance de cualquier laboratorio, útil para evaluar la confiabilidad y uniformidad de los resultados, lo que permite demostrar a sus clientes que son técnicamente competentes y capaces de generar resultados técnicamente válidos. El procedimiento es fácil y rápido, pero es necesario una mayor difusión de estos servicios, porque laboratorios establecidos desde hace muchos años y que no están acreditados por la EMA, desconocen cómo pueden demostrar su competencia. Las pruebas que ofrecen aun están limitadas, hace falta más

oferta y a la vez más demanda. Para esta prueba solo 19 laboratorios participaron, eso nos indica que debemos de fomentar la cultura de la evaluación de la conformidad.

Para este laboratorio, en todas las mediciones el valor obtenido experimentalmente estuvo dentro del valor del criterio de aceptación del método, siendo ésta una garantía de calidad para los usuarios de este servicio, para los químicos analistas es un reconocimiento a la confiabilidad de su trabajo diario y para los clientes es fundamental que el laboratorio sea evaluado por un organismo independiente a éste. El CENAM realiza esfuerzos organizando estas comparaciones interlaboratorio que fomentan la calidad de los ensayos en los laboratorios de prueba.

5. REFERENCIAS

- [1] NMX-EC-17025-IMNC-2006 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y de Calibración.
- [2] AOAC. Official Methods of Analysis, 18th edition. AOAC International. Gaithersburg, MD, USA. 2005.
- [3] NMX-F-609-NORMEX-2002 "Determinación de proteína en alimentos". Método de prueba.
- [4] NOM-086-SSA1-1994 "Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición". Especificaciones nutrimentales (Método de hidrólisis ácida).
- [5] NMX-615-NORMEX-2004-Determinación de extracto etéreo (Método Soxhlet) en alimentos.
- [6] NMX-F-607-NORMEX-2002. Determinación de cenizas en alimentos. Método de prueba.
- [7] Daniel W. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa Wiley. 4ª. Edición. 2006.
- [8] CENAM-EMA Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean la técnica de gravimetría de masa. Revisión 01 México. 2008.