



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

CONTROL ESTADISTICO DEL PROCESO ANALITICO COMO UNA HERRAMIENTA DE MEJORA CONTINUA EN UN LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :
FRANCISCO GABRIEL LOPEZ GONZALEZ



MÉXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2005

m. 344743



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado

Presidente	Prof. MARÍA DE LOURDES GÓMEZ RÍOS
Vocal	Prof. MIGUEL ÁNGEL HIDALGO TORRES
Secretario	Prof. BERTHA JULIETA SANDOVAL GUILLÉN
1er. Sup.	Prof. MARÍA TERESA PLATA JIMÉNEZ
2do. Sup.	Prof. FABIOLA GONZÁLEZ OLGUÍN

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio de Análisis de Alimentos privado, acreditado ante la entidad mexicana de acreditación, A.C., México D.F.

Asesora: Q.F.B. Bertha Julieta Sandoval Guillén



Sustentante: Francisco Gabriel López González



Jurado asignado

Presidente	Prof. MARÍA DE LOURDES GÓMEZ RÍOS
Vocal	Prof. MIGUEL ÁNGEL HIDALGO TORRES
Secretario	Prof. BERTHA JULIETA SANDOVAL GUILLÉN
1er. Sup.	Prof. MARÍA TERESA PLATA JIMÉNEZ
2do. Sup.	Prof. FABIOLA GONZÁLEZ OLGUÍN

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio de Análisis de Alimentos privado, acreditado ante la entidad mexicana de acreditación, A.C., México D.F.

Asesora: Q.F.B. Bertha Julieta Sandoval Guillén

Sustentante: Francisco Gabriel López González

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo especialmente a mi hija *Daniela Paola*, quien es el motor y alegría de mi vida. ¡Me haces muy feliz!

A mi mamá, Cecilia González, una mujer excepcional quien ha sido un gran ejemplo

A mis hermanos: Brenda, Marco y Alan, por el amor que le tienen a la familia

A Liliana, por ser la compañera de mi vida. ¡Te amo!

Y finalmente, al bebé que está por llegar quien trae más amor y bendiciones a mi familia.

AGRADECIMIENTOS

Antes que nada, le doy gracias infinitas a Dios porque me permitió alcanzar esta meta.

Agradezco muchísimo a mi familia por apoyarme durante la realización de mi carrera, en especial a mis padres quienes a pesar de todo nunca dejaron de ayudarme y guiarme; también quiero agradecer a la familia Cisneros Estévez por su apoyo incondicional durante una parte de mis estudios, a mi amiga Andrea por ser la mejor compañera que tuve en la Universidad y quien nunca me permitió claudicar ante las adversidades. A mis compañeros y amigos de la Facultad por compartir conmigo inolvidables momentos: Karla Rivera, Omar Lerma, Begoña Maldonado, Laura Olea, Karla Díaz, Karen Pérez, Alejandra Lara, Karla Fosado, Rodolfo Landa, Rogelio García, Adriana López y Paty García.

Quiero agradecer a Liliana por la paciencia que me tuvo para escribir esta tesis.

De manera muy especial agradezco a Julieta, por ser guía y parte de este proyecto, quien además, me tuvo mucha paciencia y dedicación.

También quiero agradecerles su apoyo al Dr. Francisco Ruiz y a todos mis maestros de la Facultad quienes me transmitieron su conocimiento.

A mis amigos del laboratorio donde desarrollé este proyecto, sin ustedes no hubiera sido posible: Begoña, Karen, Vanessa, Alejandro, Monserrat, Lulú. A su Director y Gerente de Calidad por capacitarme en los temas de mi Tesis.

CONTENIDO

	página
Introducción	4
Objetivos	6
1. Antecedentes	7
1.1 Normatividad y estadística	7
1.1.1 Normatividad	7
1.1.2 Estadística	8
1.2 Pruebas de desempeño (Validación de los métodos analíticos)	9
1.2.1 Límite de detección del método (LDM)	11
1.2.2 Límite de cuantificación del método (LCM)	11
1.2.3 Intervalos de trabajo	11
1.3 Estudios de Repetibilidad y Reproducibilidad (Pruebas R y R)	12
1.4 Pruebas de desempeño inicial del método	14
1.4.1 Materiales de referencia	15
1.5 Gráficas de control	16
1.5.1 Construcción de las gráficas de control	17
1.6 Incertidumbre de la medición analítica	20
1.6.1 Tipos de error	21
1.6.2 Tipos de incertidumbre	22
1.7 Pruebas de aptitud técnica	24
1.7.1 Homogeneidad de las muestras	25
1.7.2 Métodos analíticos	26
1.7.3 Estadística de las pruebas de aptitud	26
2. Control Estadístico del Proceso Analítico. Metodología	31
2.1 Selección de los métodos analíticos	
2.2 Metodología de las pruebas de desempeño	31
2.2.1 Planeación de las pruebas R y R	32
2.2.2 Desarrollo de las pruebas R y R	33
2.2.3 Planeación de las pruebas de desempeño inicial	34
2.2.4 Desarrollo de las pruebas de desempeño inicial	35
2.3 Metodología para la estimación de la incertidumbre	36
	37
3. Resultados de las pruebas de desempeño (Validación de los métodos) y estimación de la incertidumbre	43
3.1 Resultados de las pruebas R y R	43
3.2 Resultados de las pruebas de desempeño inicial	48
3.3 Análisis de resultados de las pruebas de desempeño	55
3.4 Estimación de la incertidumbre	56
4. Mejora Continua. Resultados de la implantación del control de proceso	67
4.1 Gráficas de control	67
4.2 Pruebas de aptitud	78
Conclusiones	85
Anexos	86
Bibliografía	95

ABREVIATURAS EMPLEADAS EN ESTE TRABAJO

EMA	Entidad Mexicana de Acreditación
SS	Secretaría de Salud
CENAM	Centro Nacional de Metrología
ISO/IEC	International Organization for Standardization/International Electrotechnical Commission
MCC	Muestra de Control de Calidad
Pruebas R y R	Ensayos de Repetibilidad y Reproducibilidad
PDI	Pruebas de desempeño inicial (del método)
LDI	Límite de detección del instrumento
LDM	Límite de detección del método
LCM	Límite de cuantificación del método
CV	Coefficiente de variación
DSR	Desviación estándar relativa
MRC	Material de referencia certificado
DPR	Diferencia porcentual relativa
UV-VIS	Ultravioleta-Visible (espectrofotometría de)
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
USEPA	Agencia de protección ambiental de Estados Unidos
LMP	Límite máximo permisible
NOM	Norma oficial mexicana
% R	Porcentaje de recuperación
SNFA	Swedish National Food Administration
AOAC	American Association of Analytical Chemists
ICP	Plasma Inductivamente acoplado (espectroscopía de)
ICH	International Committee of Harmonization

INTRODUCCIÓN.

Actualmente, la competencia comercial entre laboratorios es muy grande, por ello los laboratorios de prueba requieren ofrecer resultados confiables a sus clientes, basados en criterios de control de calidad definidos y documentados en un sistema de calidad.

Como parte de las Políticas de evaluación de organismos como la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA) y la Secretaría de Salud (SS), a partir del 1° de enero de 2002 los laboratorios que deseen acreditarse u obtener la autorización como tercero autorizado de la Secretaría de Salud deberán contar con un sistema de calidad basado en la Norma ISO/IEC 17025:1999 (NMX-EC-17025-IMNC-2000, norma mexicana equivalente), que establece los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.

Contar con un sistema que cumpla con los requisitos de esta norma no es sencillo, particularmente en los requisitos definidos en la norma como técnicos, es necesaria una inversión importante de tiempo y esfuerzo, de amplios conocimientos en herramientas estadísticas y su aplicación.

La norma ISO/IEC 17025 está dividida en dos partes: una parte administrativa donde se incluyen los requisitos para la gestión de la calidad, similares a la Norma ISO 9001:1994; y una parte técnica que incluye los requisitos de validación de los métodos analíticos y del aseguramiento de la calidad de los resultados emitidos. Estos requisitos técnicos pueden establecerse mediante el *control estadístico del proceso analítico* a partir de algunos elementos definidos en el control de calidad del laboratorio como son el uso de pruebas duplicadas con el mismo método o uno diferente, el uso de materiales de referencia certificados o muestras de control de calidad (MCC) preparadas a partir de materiales de referencia secundarios, participación en pruebas de aptitud, repetición de pruebas por resultados no conformes utilizando productos en retención, correlación de resultados para diferentes características de un elemento.

Para ayudar en el cumplimiento de estos puntos, el presente trabajo propone cómo puede establecerse un control estadístico del proceso analítico, dividiéndolo en los siguientes puntos:

1. Validación de los métodos analíticos del laboratorio, lo cual se logra a través de la realización de pruebas de desempeño de los métodos que sirve para obtener la precisión y exactitud de los métodos, así como los primeros valores de control de calidad (desempeño inicial).
2. Capacidad del proceso analítico y desempeño continuo, éstos se miden a través del uso de gráficas de control de precisión y exactitud, que se construyen a partir de la validación de los métodos analíticos o pruebas de desempeño.

3. Estimación de la incertidumbre, que permite obtener el intervalo de confiabilidad estadística de los resultados emitidos.
4. Pruebas de aptitud, las cuales sirven para medir la calidad de los resultados emitidos mediante la comparación con otros laboratorios. Es una autoevaluación del laboratorio.

Mantener bajo control estadístico a los procesos analíticos le permite a los laboratorios detectar posibles errores analíticos antes de emitir los resultados y por lo tanto recibir menos quejas de sus clientes por resultados analíticos *no conformes*; de igual modo, ante dudas de clientes defender los resultados obtenidos con validez científica y sustentable.

OBJETIVO GENERAL

Establecer que el control estadístico de proceso contribuye a la mejora continua en un laboratorio de análisis de alimentos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Definir los criterios de control de proceso a través de la realización de pruebas de desempeño.
2. Aplicar los criterios de control haciendo uso de cartas de control y el desempeño continuo, así como en la estimación de la incertidumbre.
3. Valorar el efecto de la variabilidad de los resultados analíticos con el paso del tiempo para determinar si el sistema se encuentra bajo control estadístico.
4. Evaluar la mejora continua a través de los resultados obtenidos en pruebas de aptitud.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.1 NORMATIVIDAD Y ESTADÍSTICA

1.1.1 Normatividad.

Para que un laboratorio pueda establecer un control estadístico de proceso que le ayude a que su sistema de calidad sea acreditado o autorizado, debe estar bien definido e implementado así como los lineamientos en los que está basado deben estar claramente establecidos en su documentación. Lo recomendable para un laboratorio de pruebas, y como lo marca el objetivo de este trabajo, la norma ISO/IEC 17025 "Requerimientos generales para la competencia técnica de los laboratorios de ensayo y calibración" es el marco correcto para establecer el control estadístico de proceso (CITAC/Eurachem, 2002). Los sistemas de calidad establecidos bajo esta norma deben ser dinámicos y de mejora continua, por lo que día a día debe monitorearse el control de proceso analítico.

De acuerdo a una adecuada gestión de calidad, en el Manual de Calidad del laboratorio deben incluirse los requisitos definidos en la norma para llevar un control de proceso, debe contarse con los procedimientos correspondientes y además haberse transmitido la información al personal, pues finalmente éste es quien ejecuta el control de proceso. Por ello, debe fomentarse la capacitación y definir responsabilidades de ejecución y supervisión, así como el alcance del control de proceso. Debe establecerse además, el mecanismo de evaluación de dicho control (EMA, 2002).

Los requisitos técnicos de la norma ISO/IEC 17025 indican que los laboratorios deben validar sus métodos de manera interna e independientemente del origen de los mismos, es decir, no importa si se trata de métodos estandarizados o no, si son desarrollados por el propio laboratorio o por ampliaciones a algún método estandarizado de tal manera que confirme que los métodos son adecuados para el uso deseado (Requisito 5.4.5 Validación de métodos, ISO/IEC 17025:1999). La norma también permite la participación en pruebas de aptitud como una manera de validación de los métodos.

También la norma indica que un laboratorio de ensayo debe estimar de una manera razonable la incertidumbre de las mediciones analíticas que realice. La incertidumbre debe ser estimada con ayuda de los datos de validación del método y otros datos incluidos en el alcance de la medición de manera que se identifiquen todos los componentes que participan de manera importante en la incertidumbre de un resultado (Requisito 5.4.6 Estimación de la incertidumbre de la medición, ISO/IEC 17025:1999)

Para asegurar la calidad de los resultados, los laboratorios deben contar con procedimientos que permitan detectar tendencias, y cuando así se requiera, aplicar técnicas estadísticas para la revisión de resultados (Requisito 5.9, Aseguramiento de la calidad de resultados de ensayo y calibración, ISO/IEC 17025:1999). En este caso, el uso de las gráficas de control es muy útil.

1.1.2 Estadística.

El control de proceso utiliza a la estadística como herramienta básica, ésta permite comparar los resultados de 2 muestras de una misma población, comparar el desempeño de dos instrumentos de laboratorio, así como también la capacidad técnica de dos analistas. Las herramientas estadísticas, además, permiten al encargado de la gestión de la calidad en un laboratorio mecanismos para la administración del personal, la selección de instrumentos y ayuda en la interpretación de la evidencia numérica para la toma de decisiones y la aplicación de acciones derivadas de éstas.

Desde el punto de vista del aseguramiento de la calidad, la estadística permite tener mecanismos para determinar, separar y minimizar fuentes de error de los procesos analíticos, con lo que se alcanzan las metas de precisión y exactitud impuestas a través de un control estadístico de proceso.

El control estadístico de proceso es el conjunto de herramientas estadísticas que nos permiten garantizar la calidad del trabajo que es realizado en el laboratorio. Las herramientas estadísticas forman parte integral de los procesos.

Los requerimientos básicos para poder aplicar técnicas estadísticas a datos de una medición que se pretende tener bajo un control estadístico de proceso son:

- Que el sistema de medición sea estable
- Que las mediciones individuales sean independientes unas de otras
- Que las mediciones individuales sean representativas aleatoriamente de la población de datos que puedan ser producidos (Taylor, 1987).

Esto quiere decir que el proceso de medición debe situarse bajo control estadístico. Las mismas tres consideraciones aplican a las muestras o materiales empleados:

- Población estable
- Muestras individuales deben ser independientes unas de otras
- Muestras individuales deben ser seleccionadas aleatoriamente a partir de la población de interés (Taylor, 1987).

Los principales componentes del control estadístico de proceso son el control de calidad y el aseguramiento de la calidad. La diferencia entre estos dos es que el control de calidad es el conjunto de las herramientas estadísticas empleadas para cuantificar el cumplimiento de los lineamientos o metas de calidad establecidos por el laboratorio, incluyendo la capacidad técnica y experiencia de los analistas.

El control estadístico de proceso en un laboratorio ofrece detectar posibles desviaciones en el desarrollo de los análisis, las cuales no se aprecian durante su realización en la rutina diaria, es más, ni siquiera obteniendo los resultados del análisis de una muestra. Para

detectar desviaciones, se requiere un tratamiento estadístico con información suficiente que evidencie tales desviaciones.

El uso de herramientas estadísticas también facilita el entendimiento del gran número de datos e información que se generan en un laboratorio analítico, ayudando en la implantación de nuevas metodologías, en la *mejora continua* de los métodos empleados ya establecidos y en general en todos los servicios que ofrece el laboratorio a sus clientes.

Los elementos básicos del control de la calidad en un laboratorio son:

- Competencia técnica del personal
- Buenas prácticas de laboratorio
- Buenas prácticas de medición
- Procedimientos de operación estándar (metodología)
- Inspección
- Documentación
- Entrenamiento

Por su parte, el aseguramiento de calidad es el proceso en conjunto para garantizar que toda la información obtenida del control de calidad está debidamente fundamentada, documentada y respaldada, para la toma de decisiones. A aseguramiento de calidad le corresponde la administración de la calidad, es decir, el implantar procesos y las herramientas estadísticas que servirán para el control de calidad, basándose en las necesidades del laboratorio; le corresponde la gestión de la calidad en su conjunto mediante la aplicación y supervisión de los requisitos del sistema establecidos en el manual de calidad.

1.2 PRUEBAS DE DESEMPEÑO (VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS).

Los métodos estadísticos no deben verse como algo extra, sino como parte integral de los procesos analíticos ya que ayudan a interpretar numerosos datos, a tomar acciones y decisiones. La norma ISO/IEC 17025, menciona en el requisito 5.4 que la validación es la confirmación por reexaminación y provisión de evidencia objetiva de que los requerimientos para un uso intencionado específico son cumplidos (Eurachem, 1998).

Un método debe ser validado cuando sea necesario verificar que los parámetros desempeñados son adecuados para su uso en un problema analítico particular, como pueden ser:

- El desarrollo de un método nuevo para la solución del problema
- Adecuación o ampliación de un método estandarizado para resolver el problema
- Cuando el control de calidad indique que el método establecido cambia con el tiempo

- Para establecer un método usado en un laboratorio diferente o con equipo e instrumentos diferentes
- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo: un método nuevo y un estándar o norma (Eurachem, 1998).

Lo anterior indica que los métodos empleados en un laboratorio como el de análisis de alimentos, en el cual utiliza en su mayoría métodos estandarizados como los descritos en el manual de métodos analíticos de la Association Official of Analytical Chemists (Cunniff, 2000), y de otros organismos o normas de referencia, ya han pasado por métodos de validación antes de su publicación, sin embargo deben validarse internamente por el laboratorio, con sus propios métodos y recursos, tales que demuestren la validez de su uso y de los resultados obtenidos. El laboratorio podrá hacer tan extensivo o no el método de validación utilizado según sea necesario y debe registrar todos los resultados obtenidos, así como el procedimiento de validación y un reporte de cómo el método es adecuado para el uso que se desea.

El laboratorio tiene que decidir cuales son las características que necesita validar de los métodos que emplea. De acuerdo a la experiencia obtenida en el departamento de Análisis de Alimentos del laboratorio acreditado, dos tipos validaciones de los métodos, dependiendo de la naturaleza del análisis, podrían ser útiles: Estudios de Repetibilidad y Reproducibilidad (pruebas R y R) para métodos analíticos no instrumentales como los del análisis proximal, y las llamadas Pruebas de Desempeño Inicial (PDI) para métodos analíticos instrumentales.

Algunas características relacionadas a requerimientos analíticos que se necesitan demostrar en una validación se muestran en la tabla 1.2.1 (Eurachem, 1998).

Requerimientos analíticos	Características relacionadas
Tipo de respuesta: cuantitativa o cualitativas	Confirmación de identidad, Selectividad o especificidad, Límite de detección, Límite de cuantificación
¿Qué nivel de exactitud y precisión debe tener la respuesta? ¿cuál grado de incertidumbre es estimada y cómo debe ser expresada?	Recuperación Exactitud Precisión de la repetibilidad Precisión de la reproducibilidad
Comparación de los resultados contra especificaciones	Exactitud Precisión de la reproducibilidad
Concentración en los que se pueden presentar los analitos de interés, por ejemplo: ppm, %	Confirmación de identidad Límites de detección y cuantificación Intervalos lineales y de trabajo

Tabla 1.2.1 Características relacionadas al requerimiento analítico para la validación del método.

1.2.1 Límite de detección del método (LDM)

Es la concentración del analito que puede ser detectado de manera confiable por el método empleado o dicho de otra manera, la menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse (CENAM-EMA, 2004). No se debe confundir con el límite de detección del instrumento (LDI), el cual depende de las características propias del instrumento empleado y que varían entre marcas o proveedores (este viene descrito regularmente en los manuales de cada instrumento).

La importancia en la determinación del LDM surge del hecho de que la probabilidad de detección no cambie de manera repentina del cero a la unidad cuando se cruza el punto límite o umbral.

El LDM se determina como "blanco o media + 3,3s" donde s es la desviación estándar normal.

Algunas de las maneras de cómo realizar la determinación del LDM (Eurachem, 1998) se muestran en la tabla 1.2.2.

Prueba	Obtención del LDM a partir de la prueba
Medir la concentración del analito una vez a 10 muestras independientes	Calcular la desviación estándar y la media, expresar el LDM de la siguiente manera: Media de la concentración del analito + 3s
Medir la concentración del analito una vez a 10 muestras independientes fortificadas a la concentración más baja medida.	

Tabla 1.2.2 Cálculo del LDM

1.2.2 Límite de cuantificación del método (LCM)

Este es estrictamente la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión y exactitud (Eurachem, 1998).

El LCM también se obtiene a partir de las tres curvas de calibración de acuerdo al International Committee of Harmonization (ICH) con los valores de la desviación estándar de la ordenada al origen y el promedio de la pendiente, pero en lugar de multiplicar por 3,3 el cociente, se hace por 10. Es decir, el LCM es tres veces mayor que el LDM.

Asimismo puede calcularse el límite práctico de cuantificación (LPC) de similar manera que el LDM, con 7 muestras independientes, una vez obtenido el límite de detección del método, éste es multiplicado por 5 y se obtiene el LPC (EPA, 2003).

1.2.3 Intervalos de trabajo.

Para cualquier método cuantitativo, siempre debe definirse el intervalo de concentraciones del analito en el cual los resultados son confiables. En el punto más bajo del intervalo de

concentración el factor limitante son los valores de LDM y de LCM; mientras que en los niveles más altos, los factores limitantes normalmente están determinados por las características del sistema de respuesta de los instrumentos de medición.

Como ya se mencionó, en la mayoría de los métodos analíticos instrumentales oficiales son indicados los intervalos de trabajo, los cuales ya han sido estudiados y validados; sin embargo, el laboratorio debe demostrar que éstos funcionan con su propio método. Para ello, durante la validación que realice del método debe probar el intervalo de trabajo que utilizará. El intervalo de trabajo incluye al lineal, que es el intervalo donde existe una relación lineal con la concentración del analito (CENAM-EMA, 2004).

Una manera de obtener el intervalo de trabajo es elaborar tres veces una curva de calibración con por lo menos 5 concentraciones diferentes y un blanco de reactivos. Se realizarán las gráficas de la respuesta contra la concentración y se obtendrán los valores de la regresión, coeficiente de correlación, pendiente y ordenada; con estos valores se determinará el intervalo lineal. Además, puede observarse por algún medio estadístico si existen valores aberrantes.

Para determinar si el intervalo lineal es adecuado, se hace una evaluación de las curvas mediante el cálculo del coeficiente de variación (CV) o desviación estándar relativa (DSR), estableciendo un límite de aceptación máximo. Así se asegura que durante todo el intervalo lineal no existan desviaciones mayores que lleven a tener resultados erróneos y que la pendiente de la curva se comporta con la misma magnitud a lo largo de todo el intervalo.

1.3 ESTUDIOS DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD (PRUEBAS R Y R).

Este tipo de estudios analiza la variación de mediciones de un medidor, el cual puede ser un instrumento, un analista, y/o la variación de mediciones por operadores.

En el caso de un laboratorio de análisis de alimentos es muy útil para medir un instrumento que fue recién adquirido y se le quiere comparar contra uno anterior o contra las especificaciones reportadas por el proveedor, así como para evaluar a un analista de recién ingreso contra el analista que ejecutaba la prueba, o para evaluar a dos candidatos a realizar una prueba (competencia y experiencia de los analistas). También sirve para evaluar un método nuevo, o las modificaciones a alguno en uso porque se adquirió nueva tecnología o se cambió de matriz o de algún reactivo.

Este tipo de pruebas ayuda a conocer la variabilidad a través de la desviación estándar, la cual, como meta de cualquier proceso analítico es disminuirla, tanto en el proceso como en el resultado.

Las pruebas R y R sirven para marcar el inicio del control de proceso analítico. Con ellas se obtienen los datos iniciales del control estadístico a través del conocimiento de la variabilidad del proceso, el cual deberá ir disminuyendo con el paso del tiempo,

observándose y monitoreándose con herramientas de desempeño continuo y de medición de la capacidad del proceso como son las gráficas de control.

Así pues, las pruebas R y R son un tipo de prueba de desempeño inicial de los métodos analíticos. Son muy útiles en los métodos analíticos donde no está involucrada la química analítica instrumental, como por ejemplo la determinación de contenido de proteína o grasa en un alimento. Puede conocerse la precisión y exactitud del método, o solo la precisión si no se cuenta con valores certificados del analito a probar, es decir, no se cuenta con materiales de referencia certificados (MRC).

El fundamento teórico de las pruebas R y R está basado en procedimientos que utiliza *General Motors* (Barrentine, 1991), los cuales fueron adaptados para el laboratorio de análisis de alimentos caso de esta tesis.

En el método de *General Motors* se indica que deben ser seleccionados para ejecutar el estudio al menos dos operadores. El número de muestras que deben ser analizadas debe ser tal que, multiplicando el número de operadores por el número de muestras sea mayor a 15. Dichas muestras deben ser analizadas cada una por lo menos dos veces.

Para el caso del laboratorio de alimentos, todas las muestras deben ser analizadas dos veces, es decir, análisis duplicados. Esto es porque uno de los valores de control de calidad que se obtiene como resultado de estas pruebas R y R es el % de diferencia porcentual relativa (% DPR), que es la comparación entre el resultado de una muestra y su duplicado. Esto es lo que llamamos precisión del método o repetibilidad.

$$\% DPR = \frac{|X_1 - X_2|}{(X_1 + X_2)} \times 200$$

Donde,

DPR = desviación porcentual relativa

X_1 = es el valor medido de la muestra original

X_2 = es el valor medido de la muestra duplicada

$|X_1 - X_2|$ = es el valor absoluto de la diferencia de los dos datos

Repetibilidad, es la medición de la variación entre resultados de prueba de sucesivas repeticiones de una misma muestra obtenidos bajo las mismas condiciones como son mismo método, mismo analista, mismo equipo y mismo laboratorio en un intervalo corto de tiempo (Kateman y Buydens, 1993). También se define como la cercanía de la conformidad entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mesurando llevado bajo las mismas condiciones de medición (Eurachem, 1998)

Reproducibilidad, es la medición de la variación entre resultados de prueba obtenidos con el mismo método de prueba en muestras idénticas bajo diferentes condiciones como son diferente operador, diferente equipo, diferente laboratorio, en diferentes tiempos. (Kateman y Buydens, 1993)

La repetibilidad es la precisión que se evalúa día a día en el laboratorio ya que normalmente solo un analista es quien ejecuta una determinada prueba o metodología. Este analista debe ser evaluado para conocer su competencia técnica (CENAM-EMA, 2004) lo cual puede ser a través de las pruebas R y R, en donde se midió la repetibilidad y también la reproducibilidad del método. La reproducibilidad es el otro tipo de precisión que se mide en el laboratorio pero no se evalúa continuamente como la repetibilidad, la cual se mide diariamente a través del % DPR.

1.4 PRUEBAS DE DESEMPEÑO INICIAL DEL MÉTODO.

Otro tipo de validación que se puede hacer en un laboratorio de análisis de alimentos es en la que los métodos instrumentales son evaluados, por ejemplo la determinación de nitritos en embutidos por análisis espectrofotométrico UV-VIS, la determinación de metales contaminantes y minerales en alimentos como plomo, cromo y sodio a través de espectroscopia de absorción atómica o ICP; uno más es la determinación de fosfatos en embutidos a través de UV-VIS o la cuantificación de conservadores como benzoatos y sorbatos en alimentos por UV-VIS o HPLC.

Para este tipo de metodologías, se sigue un protocolo diferente al de R y R, y el cual está basado en documentos de la USEPA, Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos para la validación de métodos y en guías de validación de métodos como las de Eurachem. En este tipo de validación, lo primero que debe obtener el laboratorio son el límite de detección del método (LDM) y el límite de cuantificación del método (LCM) a través de la evaluación de la curva de calibración que sea utilizada en las pruebas (EPA, 2003).

Normalmente los valores de concentración de las curvas de calibración se indican en el método analítico. Cuando ello no sea así, el laboratorio deberá estandarizar las curvas de calibración que vaya a utilizar, tomando como referencia los valores de los límites máximos permisibles (LMP) del analito en un alimento. Muchos de estos analitos se consideran como contaminantes en un alimento, o son componentes permitidos hasta un cierto límite y que por arriba de éste estos componentes pueden ser dañinos a la salud del consumidor y entonces considerarse como contaminante o adulterante; por ejemplo, los nitritos se permiten en alimentos curados hasta un máximo de 156 mg de NO_2/kg de muestra ya que por arriba de este valor se considera dañino a la salud, o el contenido de fosfatos en un embutido se acepta hasta en un 0,5 % donde por arriba de este valor se considera un adulterante del producto (NOM-122-SSA1-1994).

El laboratorio debe por tanto, diseñar las curvas de calibración de manera que el límite máximo permisible quede incluido en la curva en el intervalo lineal, con el punto más bajo de la curva de calibración (a veces considerado el LCM) por lo menos 10 veces más pequeño que el límite máximo permisible (LMP). El intervalo lineal también depende de los LDM y LCM, así como del sistema de respuesta del instrumento. Muchas veces los LDM y LCM se reportan en la referencia del método a validar por lo que pueden servir de guía

para la elaboración de las curvas de calibración. En caso de no ser así, se debe basar exclusivamente en los LMP. Así, para el caso de nitritos en embutidos, si la curva no fuera reportada por la referencia primaria, el punto más bajo de la curva de calibración tendría que ser $15,6 \approx 16,0$ mg/kg.

Una manera práctica y confiable que existe para calificar la linealidad de la curva de calibración, es decir, la habilidad del método para obtener resultados proporcionales a la concentración del analito (CENAM-EMA, 2004) es con el % C.V. o DSR, el cual debe estar por debajo del 10% para valores de concentración en mg/kg o de % (g/100g), esto para garantizar que la curva de calibración usada no está afectada de manera significativa por interferencias de matriz u otras, o que estuviera mal preparada y no garantizara la linealidad a lo largo del intervalo de uso. Con estos valores, se tiene la seguridad que la respuesta obtenida podrá mantenerse dentro de un nivel alto de confianza. El C.V. o DSR es un error relativo que indica el error estimado dividido por el valor absoluto de una cantidad medida. Los errores relativos son utilizados de manera frecuente para la comparación de la precisión de resultados los cuales tienen diferentes unidades o magnitudes (Miller y Miller, 2000).

Ya se mencionó que una de las maneras para conocer el punto más bajo de la curva de calibración es tomando como referencia que éste sea por lo menos 10 veces más pequeño que el LMP, siempre y cuando esté dentro del intervalo lineal de la curva y el valor de la respuesta del instrumento sea confiable y se encuentre por arriba del ruido de acuerdo a las especificaciones del fabricante (sistema de respuesta del instrumento). El LDI o límite de detección del instrumento puede venir indicado en los manuales de operación del fabricante o se puede consultar bibliografía especializada para los analitos que vayan a ser medidos.

Cualquier método de validación o prueba de desempeño, debe incluir una planeación, ya sean pruebas de R y R o pruebas de desempeño inicial donde solo se evalúa un analista.

Tanto las pruebas de R y R como las de desempeño inicial se consideran una validación o desempeño inicial de los métodos analíticos y sirven también para evaluar y documentar la competencia inicial de los analistas. Al proceso de llevar las gráficas de control, con sus ajustes de límites de control se le considera como el desempeño continuo de los métodos.

1.4.1 Materiales de referencia.

Los materiales de referencia son sustancias que pueden ser medidas de manera simultánea o secuencialmente en los procesos analíticos para proveer de información acerca del desempeño del método. Su principal función es servir como monitor para mostrar que el proceso analítico está bajo control estadístico (Taylor, 1983).

Existen diferentes tipos de materiales de referencia, certificados (MRC) y no certificados (MR). A su vez, éstos se clasifican por tipo de matriz, simple o compleja.

La política de trazabilidad de la EMA indica que se debe cumplir con el concepto de trazabilidad, esto es, que la propiedad de un resultado de una medición o valor de un patrón, tal que esta prueba pueda ser relacionada con referencias determinadas, generalmente a patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas las incertidumbres determinadas, para dar confiabilidad a los resultados (CENAM-EMA, 2004).

- Esto es, que para asegurar la trazabilidad se deben utilizar materiales de referencia (MR) trazables a materiales de referencia certificados (MRC).
- Todos los agentes de evaluación acreditados o en proceso de acreditación de las pruebas que requieran MRC, que existan en México, deberán utilizarse. Solo se reconocen materiales del Centro Nacional de Metrología (CENAM) con excepción de patrones relacionados con radiaciones ionizantes.
- Los MRC deben ser en la matriz más parecida a la de la medición a efectuar, en su defecto, se podrán utilizar MRC de matriz simple.
- Cuando no haya MRC en México, EMA reconocerá a los extranjeros cuyos certificados sean emitidos por laboratorios reconocidos por la Secretaría de Economía en los términos de la Ley Federal de Metrología y Normalización.

1.5 GRÁFICAS DE CONTROL.

Las gráficas de control son una herramienta básica y muy importante en el control estadístico de proceso, proveen de información valiosa que permite verificar que el proceso se encuentre bajo control estadístico ya que monitorea de manera permanente los procesos de medición, pueden diagnosticar problemas, contribuyen en la documentación de la medición de la incertidumbre, y en general son de ayuda en el desarrollo de los métodos analíticos (Taylor, 1987).

Las gráficas de control son de uso muy común en la industria, sin embargo su aplicación en laboratorios de prueba es muy útil y práctica, además de que se vuelve una herramienta indispensable para el aseguramiento de la calidad. En la actualidad, los laboratorios de prueba, sobretodo aquellos que se encuentran acreditados y/o autorizados, o en vía de estarlo, producen grandes cantidades de datos analíticos y de control de calidad. Es por ello que las cartas control se vuelven imprescindibles.

El formato utilizado en la elaboración de las cartas de control que se utilizan en el laboratorio está basado en las cartas de Shewhart reportadas en 1934 (Taylor, 1987).

Existen varios tipos de gráficas de control. Las que se utilizan en el laboratorio se basan en un tipo principal de carta en la que se obtiene a partir de un gran número de mediciones de una propiedad seleccionada de una muestra. La propiedad seleccionada es la media de

alguna variable, ya sea de precisión o de exactitud. Este tipo de carta de control de medias es más recomendable para su uso en laboratorios ya que las medias tienden en mayor medida a distribuciones normalizadas que la de mediciones individuales, lo cual es importante porque una distribución normal es asumida de manera ordinaria al colocar los límites de control de la gráfica (Taylor, 1987)

La propiedad medida puede dividirse en dos tipos, en gráficas de precisión y en gráficas de exactitud del método en las cuales se utiliza la media de las mediciones. Para calcular la precisión, el laboratorio puede utilizar como variable el valor de % de la desviación porcentual relativa (% DPR); mientras que para calcular la exactitud utiliza el % de recuperación (% R). El valor de recuperación se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\%R = \frac{VO}{VE} \times 100$$

Donde,

R = recuperación

VO = valor obtenido

VE = valor esperado

La recuperación es la proporción de la cantidad de analito, presente en la porción de la muestra o adicionado (fortificado) a ésta, que es cuantificada por el método (CENAM-EMA, 2004).

Ambos tipos de gráficas se elaboran a partir de pruebas de desempeño de los métodos analíticos (desempeño inicial).

1.5.1 Construcción de las gráficas de control.

Para construir las gráficas de control se deben realizar las pruebas de desempeño inicial correspondientes para obtener los límites de control y la línea central.

Una carta de control utiliza una línea central para definir el mejor estimado de la variable graficada. En este caso, y con el objeto de minimizar la sensibilidad a las equivocaciones o resultados erróneos ocasionales, la línea central se calcula con la media de una serie de mediciones. Es decir, para iniciar se obtiene a partir de la media reportada en la prueba de desempeño, en donde una muestra es sometida a una repetición del mismo análisis y se obtiene su valor repetidamente (Taylor, 1987). Es recomendable utilizar materiales de referencia (MR) o materiales de referencia certificados (MRC).

Con los mismos valores reportados se calcula también la desviación estándar. Como ya fue señalado, estos valores provienen de la prueba de desempeño en donde dependiendo del analito existirá la disponibilidad de algún MR o MRC. En el caso de contar con uno, se puede establecer además de la precisión, la exactitud, ya que se conoce el valor certificado

de dicho material. También puede establecerse de manera arbitraria la línea central como el valor deseado, por ejemplo, el valor certificado de nuestro material de referencia, o fijar un $R = 100\%$ para el caso donde se mide exactitud. Sin embargo, esto puede generar algunos problemas al establecer los límites de control, ya que si los valores obtenidos de la prueba de desempeño no son exactamente los del valor certificado o el 100% de recuperación, los límites pueden estar por arriba o por debajo de esta línea central arbitraria.

Para establecer los límites de control de las gráficas, éstos se deben fijar alrededor de la línea central, la cual es el valor deseado.

Así, para determinar los límites de control de exactitud, debe calcularse primero el valor promedio de % R de una serie de mediciones de un MRC, esto es, el porcentaje que se está cuantificando del valor certificado del material. Con ese valor se establece la línea central. Se determina también la desviación estándar del % R.

Los límites superiores de control y advertencia, así como los límites inferiores de control y advertencia se calculan mediante las siguientes ecuaciones:

$$LSC = \bar{x} + (3\sigma/\sqrt{n}) = \text{límite superior de control}$$

$$LSA = \bar{x} + (2\sigma/\sqrt{n}) = \text{límite superior de advertencia}$$

$$LIC = \bar{x} - (3\sigma/\sqrt{n}) = \text{límite inferior de control}$$

$$LIA = \bar{x} - (2\sigma/\sqrt{n}) = \text{límite inferior de advertencia}$$

Donde,

\bar{x} es la media del % R y σ su desviación estándar; n es el número de mediciones (Taylor, 1987)(Miller y Miller, 2000).

Los límites de advertencia se utilizan en las cartas de control como límites de seguridad. El 95% de los valores obtenidos en el laboratorio deben quedar dentro de estos límites de advertencia (2-sigma), en la práctica, el valor de $z = 1,96$ es redondeado a 2.

Para los límites de control o de acción (3-sigma), el nivel de confianza es de 99,7%; el valor de $z = 2,97$ es redondeado a 3. Esto indica que el 99,7% de los valores obtenidos de las mediciones deben quedar dentro de las líneas de control, esto es, que cuando el proceso se encuentra bajo control solamente el 0,3% de las mediciones deben quedar fuera. Si esto ocurre, el proceso debe ser examinado. Por ejemplo, si se tienen 20 mediciones, solamente 0,06 de ellas pueden estar fuera del límite de control, lo que significa que con la primera medición fuera del límite de control el proceso debe ser detenido y examinado. Para el caso del límite de advertencia, solo 1 de 20 mediciones se acepta que esté entre este límite y el de control, en caso de ser 2 de ellas, el proceso debe revisarse (Miller y Miller, 2000).

El valor de n es apropiado para al menos 14 grados de libertad de mediciones independientes, pero se pueden obtener los estimados iniciales con no menos de 7 mediciones independientes, es decir, con 6 grados de libertad (Taylor, 1987).

Para conocer los límites de control de precisión debe obtenerse el valor promedio de la variable de precisión, que en el caso de este laboratorio es el %DPR. Otras variables pueden ser la desviación estándar de una muestra, los intervalos de trabajo, entre otras.

Las ecuaciones para obtener los límites de control de las gráficas de precisión son:

$$\begin{aligned} \text{LSC} &= 3,267x = \text{Límite superior de control} \\ \text{LSA} &= 2,512x = \text{Límite superior de advertencia} \\ \text{LIC} &= \text{LIA} = 0 \end{aligned}$$

(Taylor, 1987)

Donde x es el valor promedio del % DPR. Cabe mencionar que la media sólo sirve para llevar el seguimiento del comportamiento de la carta de control, y que el valor más bajo que puede obtenerse es cero pues cuando los valores de una muestra y su duplicado son iguales el % DPR es igual a cero, por ello, tanto el LIC como el LIA son iguales a cero.

En la figura 1.5.1 se muestran ejemplos de los dos tipos de cartas de control, de exactitud evaluada por el % de recuperación; y la de precisión, evaluada por el % de la desviación porcentual relativa.

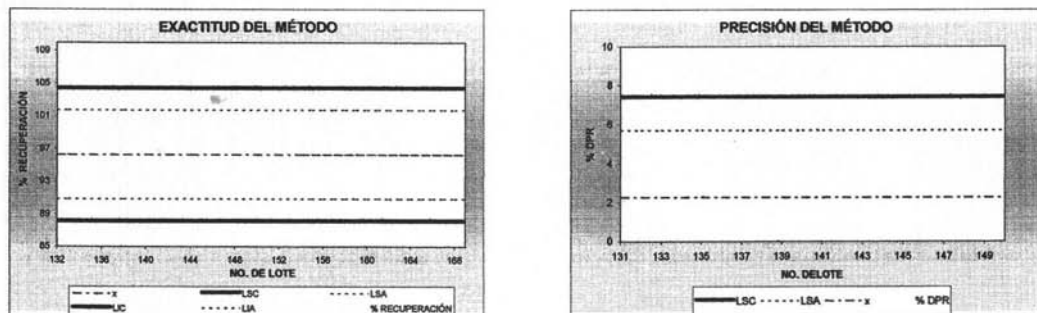


Fig. 1.5.1 Gráficas de control de precisión y exactitud del método.

Estas gráficas pueden ser construidas en hojas de cálculo de Excel, sin embargo, actualmente existen otros programas comerciales muy útiles y con muchas aplicaciones para la elaboración de gráficas de control que resultan importantes en los laboratorios.

1.6 INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN ANALÍTICA.

Una herramienta también importante para el control de proceso es la estimación o cálculo de la incertidumbre de los resultados, pues ofrece conocer el grado de confianza de los resultados obtenidos con una probabilidad estadística fija y conocida. Todos los procesos analíticos pueden verse afectados por diferentes tipos de errores como son los aleatorios y sistemáticos (y *bias*). La incertidumbre de la medición de un resultado es un parámetro que describe un intervalo dentro del cual los valores de las cantidades que han sido medidas se espera se encuentren, tomando en cuenta todas las fuentes de error (Miller y Miller, 2000).

La norma ISO/IEC 17025 indica que los laboratorios de prueba deben tener y aplicar procedimientos para estimar la incertidumbre de la medición. También indica que los laboratorios de calibración y aquellos de pruebas que ejecuten sus propias calibraciones deben tener también y aplicar procedimientos para estimar la incertidumbre de la medición para todas las calibraciones y los tipos de calibraciones (ISO/IEC 17025:1999). En este caso, normalmente los laboratorios no pueden mandar a calibración externa todos sus instrumentos y equipos debido a los costos que esto implicaría, por lo que resulta mejor tener patrones internos los cuales sí deben ser calibrados externamente y con los que el laboratorio debe entonces realizar las verificaciones internas de sus equipos e instrumentos. El laboratorio deberá estimar la incertidumbre de dichas verificaciones, ya que esta información será útil en el cálculo de la incertidumbre de las mediciones analíticas.

La incertidumbre se define de acuerdo a Internacional Vocabulary of Basic and General Terms In Metrology (Eurachem/CITAC, 2000) como "un parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que pueden razonablemente ser atribuidos al mesurando".

La incertidumbre es importante, además, en las consideraciones regulatorias concernientes a salud, otras como las normas de especificaciones de productos y a la interpretación de muestras para pruebas de aptitud. Por ejemplo, cuando se tiene un límite específico asignado a algún constituyente de una matriz (o muestra), el cual puede ser un contaminante o representa un riesgo potencial a la salud, es muy importante saber sobre que lado del límite está situado el resultado. El usuario de la información puede estar más seguro de que el resultado está lo suficientemente alejado del límite como para tomar alguna decisión (Garfield, 2000).

Las principales fuentes de incertidumbre en un laboratorio de pruebas puede ser: el proceso de muestreo, efectos por matriz, condiciones ambientales, variabilidad del analista, variabilidad del método, incertidumbre de gravimetría, incertidumbre de mediciones volumétricas, valores de referencia (materiales de referencia y materiales de referencia certificados), aproximaciones en el método de medición, variación aleatoria, entre otras. Para facilitar la detección de fuentes de incertidumbre puede utilizarse un diagrama de Ishikawa (por su autor Kaoru Ishikawa, 1953, también se conoce como diagrama de pescado), el cual es un diagrama que muestra la relación entre una

característica de calidad y los factores o causas (Kume, 1994). Las seis causas señaladas en la figura 1.6.1 son las más comunes, pero no necesariamente las únicas.

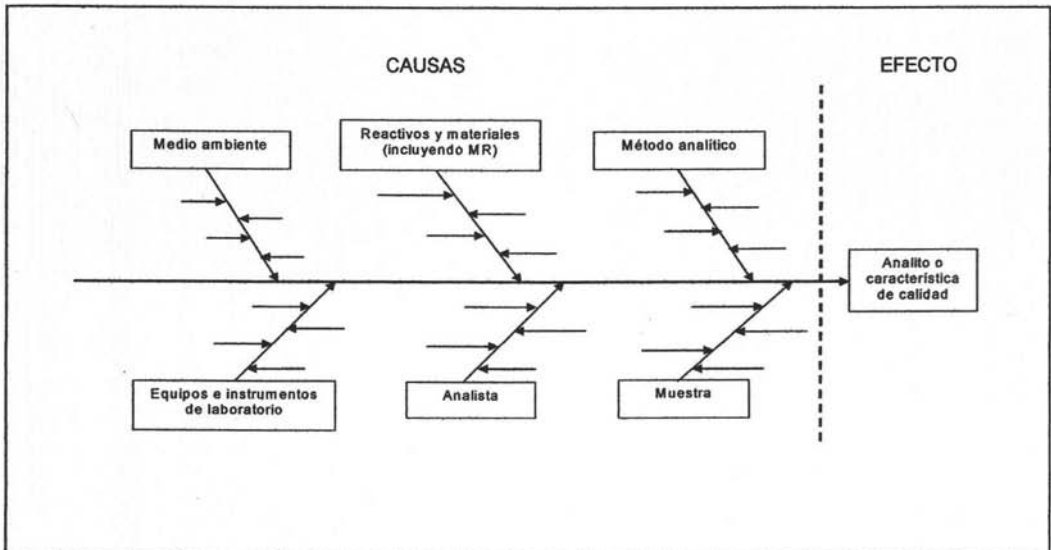


Figura 1.6.1 Diagrama de Ishikawa o causa-efecto

La eficacia de un diagrama de causa efecto radica en identificar todas las causas asignables. Luego debe indicarse la importancia de cada una de las causas y jerarquizar. Esto ayudará a resolver problemas de calidad identificando las causas principales que afectan a un problema ya que no todas las causas contribuyen de la misma manera.

1.6.1 Tipos de error.

Cuando se busca cuales son las fuentes de error en un método analítico, debe conocerse qué tipo de error se generó. Existen varios tipos de ellos; los **errores sistemáticos**, los cuales son siempre de la misma magnitud y signo y producen el error nominado *bias*. Este error *bias* es un error inherente en un método o puede ser causado por algún equipo o las características del sistema de medición; por ejemplo, una extracción ineficiente es un error inherente en un método. Para los segundos, pueden ser errores en la calibración de un instrumento como una balanza. El error denominado *bias* puede corregirse o minimizarse a través de la calibración de los equipos. En la parte analítica, cuando un sistema se encuentra bajo control estadístico y su desviación estándar evaluada (o precisión), el *bias* de la medición se puede determinar a través del uso de materiales de referencia. Los errores sistemáticos son independientes del número de mediciones realizadas y por lo tanto no pueden ser reducidos incrementando el número de análisis bajo condiciones constantes (Taylor, 1987).

Otro tipo de errores son los llamados **aleatorios**, los cuales varían en signo y en magnitud, y éstos son impredecibles. Este tipo de errores afecta a la precisión de un método. El error aleatorio puede ser reducido aumentando el número de mediciones (Miller y Miller, 2000).

Existen también los llamados **errores crasos o gruesos**, estos son graves o serios que no dejan otra alternativa que abandonar el experimento y empezarlo nuevamente (Miller y Miller, 2000).

Finalmente, están las **equivocaciones**, que son simples errores y ocurren en algunas ocasiones produciendo resultados erróneos. Algunos ejemplos pueden ser la pesada incorrecta de una muestra, errores de transcripción de datos. Este tipo de errores puede ser detectado por una herramienta estadística pero no puede ser tratado por ella (Miller y Miller, 2000).

El conocer los tipos de error ayuda a mejorar los procesos analíticos, y da una idea de donde buscar fuentes de error cuando se desea determinar la causa que provoca una desviación o no conformidad en un proceso analítico.

Una manera de detectarlos es a través del uso correcto de las gráficas de control, donde puede diferenciarse entre errores aleatorios y los sistemáticos por las tendencias que puedan presentarse en la gráfica. Una vez identificados, se puede elaborar un diagrama de Ishikawa para conocer la causa raíz que lo provoca. Desafortunadamente, los únicos errores que pueden ser corregidos son los sistemáticos.

Los errores que contribuye a la estimación de la incertidumbre de la medición son los sistemáticos y aleatorios. El método para la determinación de la incertidumbre en el laboratorio de Análisis de Alimentos está basado casi en su totalidad en la Guía Eurachem/CITAC.

Normalmente la incertidumbre que se reporta en un resultado analítico es la llamada incertidumbre expandida, que no es otra cosa que el valor de la medición, más la dispersión de ese valor y más el nivel de confianza de ese valor. Para la estimación total de la incertidumbre en una medición analítica, puede ser necesario tomar cada fuente de incertidumbre y tratarla por separado hasta obtener la contribución de cada una. Cada contribución por separado a la incertidumbre se denomina como componente de la incertidumbre (Eurachem /CITAC, 2000)

1.6.2 Tipos de incertidumbre.

Los diferentes tipos de incertidumbre que pueden calcularse están definidas en la guía de Eurachem como:

Incetidumbre estándar, u_{x_i} : es la incetidumbre del resultado x_i , de una medición o componente de incetidumbre expresada como desviación estándar. Si existe correlación

entre componentes entonces ésta ha de ser tomada en cuenta para la determinación de la covarianza. Es posible evaluar el efecto combinado de varios componentes.

Incertidumbre estándar combinada, $u_c(y)$: es la incertidumbre estándar estimada del resultado de una medición y , cuando se obtiene a partir de la combinación de componentes de incertidumbre estándar de otras magnitudes, equivalente a la raíz cuadrada positiva de los términos. Se calcula con la ecuación de propagación de errores:

$$u_c = \sqrt{(u_1)^2 + (u_2)^2 + \dots + (u_n)^2}$$

Incertidumbre expandida, U : este tipo de incertidumbre es la que debe utilizarse con fines analíticos. Es el intervalo alrededor del resultado de una medición que engloba una fracción grande de la distribución de valores que pueden ser atribuibles al mesurando y se obtiene multiplicando la incertidumbre combinada por un factor de cobertura, k , seleccionado de acuerdo al nivel de confianza deseado.

La incertidumbre no es lo mismo que el error, ya que el error es la diferencia entre el valor individual y el valor verdadero del mesurando; es una medición individual, a la cual en principio, puede aplicarse una corrección. Por otro lado, la incertidumbre es el intervalo, el cual puede ser amplio o no, de las mediciones de un tipo de analito descrito, y no puede ser utilizada para corregir un resultado de la medición de ese analito.

De acuerdo a la fuente de donde proviene la incertidumbre, esta se clasifica en:

Incertidumbre tipo A: es la que se evalúa por análisis estadístico de una serie de mediciones. También llamada incertidumbre aleatoria (prueba de desempeño, cartas de control, etc)

Incertidumbre tipo B: es la que se calcula por métodos estadísticos diferentes a los que se utilizan en una serie de mediciones. Es la llamada incertidumbre sistemática.

La Política de Incertidumbre de la EMA indica que el conocimiento y la expresión de la incertidumbre de mediciones constituyen una parte indisoluble de los resultados de las mediciones. Es un elemento indispensable de la trazabilidad de las mediciones. Por ello, los laboratorios deben tener y aplicar procedimientos para estimar la incertidumbre de la medición. Algunas veces, la naturaleza del método impide el cálculo riguroso de la incertidumbre, pero al menos deben identificarse todos los factores que intervienen y hacer una estimación razonable, asegurándose que al informar los resultados no se proporcione una impresión errónea de la incertidumbre. Una estimación razonable debe estar basada en el conocimiento del desempeño del método y del alcance de la medición, y deberá hacer uso de la experiencia previa y de la validación de los datos (ISO/IEC, 1999).

1.7 PRUEBAS DE APTITUD TÉCNICA.

La calidad de las mediciones químicas es incrementada por la participación en esquemas de pruebas de aptitud. Las pruebas de aptitud son una parte muy importante en un sistema de calidad de un laboratorio pues le permite ser evaluado, en intervalos de tiempo establecidos, por un organismo con amplio reconocimiento que emplea técnicas estadísticas de validación de métodos, por lo que la participación en este tipo de pruebas es otra manera de evaluar el desempeño de los métodos que el laboratorio emplea. Además, le permite compararse con otros laboratorios, lo que le ayuda a autoevaluarse de manera objetiva. Cada laboratorio analizará una muestra idéntica con sus propios métodos (Miller y Miller, 2000)

En el caso particular del laboratorio estudiado, ha participado en programas de intercomparación de un organismo sueco, Livsmedels Verket, perteneciente a la Swedish National Food Administration (SNFA).

La SNFA es, en Suecia, la autoridad administrativa central en la materia relacionada a los alimentos, incluyendo agua potable. La SNFA es, además, una autoridad reguladora con un gran interés en la promoción del buen desempeño de los laboratorios analíticos del área de alimentos, por lo que se ha dedicado a crear y organizar los esquemas de las pruebas de aptitud.

Los procedimientos, organización y evaluación de las pruebas de aptitud han sido elaborados con base en el establecimiento de criterios disponibles internacionalmente para este tipo de estudios interlaboratorio. Este organismo ha considerado especialmente los siguientes documentos: AOAC/ISO/IUPAC International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories (1993); ISO Guide 43-1984 (E) Development and Operation of laboratory proficiency testing; y la ILACG13:2000 Guidelines for the competence of providers of Proficiency Testing Schemes. Ya se ha mencionado que la participación en este tipo de pruebas es otra forma de validación de métodos; uno de los requerimientos establecidos por el *Codex Alimentarius* es participar en este tipo de esquemas de comparación (Fajeli, 2000)

Para el caso de la determinación de componentes nutrimentales en alimentos, este organismo prepara dos eventos de prueba anuales en los que el laboratorio puede participar. En cada uno de ellos se envían dos muestras para prueba.

Los tipos de muestras se preparan de tal manera que permitan que sus matrices asemejen lo más posible a las de otras muestras de análisis a las que se enfrenta un laboratorio bajo condiciones normales o de rutina:

- Alimentos en polvo, los cuales consisten de una mezcla homogénea de alguno de los siguientes ingredientes: harina de cereales como trigo, maíz, avena u otros; mezclada con leche en polvo, aceite vegetal, azúcar, minerales y vitaminas.

- Alimentos a base de carne, los cuales incluyen diferentes tipos de carne o productos de carne como son puerco, pollo, pescado, salchichas, paté; mezclados con otros alimentos o aditivos.

La preparación de los materiales de prueba se hace de la siguiente manera:

Las materias primas para las muestras en polvo se compran de manera local, se mezclan mecánicamente y se transfieren de manera manual en contenedores de plástico. Las muestras a base de carne se homogenizan, se transfieren a un contenedor adecuado para ser esterilizadas en autoclave a 110°C por 10 minutos (SNFA, 2002).

1.7.1 Homogeneidad de las muestras.

Estas muestras son sometidas a pruebas de homogeneidad y estabilidad a través de su análisis duplicado de 10 muestras seleccionadas al azar. Se les analiza una gran cantidad de constituyentes escogidos con base en criterios químicos y físicos establecidos.

Para verificar la homogeneidad de la muestra, deben tomarse al menos 10 porciones del material de prueba al azar, homogenizarlos separadamente. Tomar 2 muestras de prueba de cada porción y se analizan por un método cuya desviación estándar bajo condiciones de repetibilidad no sea mayor del 30% de la desviación estándar del blanco de la prueba de aptitud. (SNFA, 2002) (Miller y Miller, 2000)

Un material de prueba se considera homogéneo si la desviación estándar entre muestras no es estadísticamente significativa respecto a la desviación estándar propia de cada muestra. El cálculo se basa en un análisis de varianza de una vía y prueba tipo F.

La prueba F sirve para comparar dos valores de desviación estándar o varianza. Ayuda a saber si los datos (desviación estándar) de una población no son más variables que los de otra población. Aquí una población es la desviación estándar de las muestras en conjunto y la otra población será la desviación de cada muestra.

Entonces, si se desea probar si la diferencia entre dos varianzas (desviación estándar al cuadrado) de muestras es significativa, tal que para probar $H_0 = \sigma_1^2 = \sigma_2^2$. La estadística F se calcula como sigue:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

donde s_1 es la desviación estándar más alta estimada basada en n_1 mediciones, y s_2 es la más baja de las dos desviaciones estimadas, basada en las n_2 mediciones.

El valor obtenido de F se compara con un valor de tablas de acuerdo a los grados de libertad de la prueba y un nivel de confianza. Los grados de libertad para el numerador y el

denominador son $n_1 - 1$ y $n_2 - 1$ respectivamente. Se asume que las poblaciones de las cuales provienen las muestras son de distribución normal (Miller y Miller, 2000).

Se asume en la hipótesis nula que la relación entre las varianzas es cercana a 1. Si el valor obtenido es mayor que el de tablas, entonces s_1 es más grande que s_2 para el nivel de confianza seleccionado y la hipótesis nula es rechazada (Garfield, 2000).

El valor crítico de F depende del tamaño de las muestras, el nivel de significancia y el tipo de prueba determinado. En general, una porción de prueba de aproximadamente 0,2 a 1,0 g es la mínima submuestra representativa bajo la cual la homogeneidad está garantizada.

Para la estabilidad de los materiales de prueba, éstos usualmente se seleccionan entre los materiales para los cuales esta característica no es un problema por el corto periodo de tiempo entre las pruebas de homogeneidad y los análisis por los participantes. Una repetición de análisis después de un largo periodo de almacenamiento es llevado a cabo para comprobar la estabilidad (no se especifica el tiempo).

El transporte de estos materiales se realiza cuidando la integridad de las muestras, si el material llegara a ser sensible a la temperatura es transportado bajo condiciones de refrigeración.

1.7.2 Métodos analíticos.

Los participantes pueden utilizar los métodos que ellos elijan, sin embargo, se recomienda que sea el que se utiliza de rutina en su laboratorio. Asimismo, las muestras deben ser tratadas y preparadas de la misma manera que se realiza rutinariamente.

Lo único que se les pide a los participantes es que indiquen el método utilizado y las condiciones de análisis en un formato enviado por el organismo que debe llenarse.

1.7.3 Estadística de las pruebas de aptitud.

1.7.3.1 Valor asignado (\bar{x})

El valor asignado es el mejor estimado disponible del mesurando (el "valor verdadero" de la concentración del analito), el cual puede ser establecido de diferentes maneras:

La media analítica de los resultados de los laboratorios participantes, después de la exclusión de los valores que están fuera.

A través del uso de laboratorios seleccionados que han demostrado y es conocida su competencia técnica.

A través del uso de la mediana, que es la más común contraparte no paramétrica de la media, es el valor intermedio de los resultados clasificados (o en caso de un número par de resultados, la media de los valores intermedios).

Con el uso de materiales de referencia certificados (MRC), el valor certificado debe ser utilizado como el valor asignado. Si un MRC es utilizado como material de prueba debe ser tratado de manera que no sea reconocido por los participantes (SNFA, 2002).

1.7.3.2 Valor buscado (σ)

El valor buscado se hace por la desviación estándar como un criterio definido para los propósitos de tener una variación aceptable entre laboratorios (SNFA, 2002).

Existen tres aproximaciones para determinar el valor buscado:

- El valor buscado para la desviación estándar es calculado a partir de los datos reportados con exclusión de los que están fuera de parámetros.
- Predecida por el factor de Horwitz.
- La desviación estándar a partir de un método validado juzgado como relevante de una prueba o análisis particular.

Horwitz demostró que la desviación estándar relativa, RSD, de un método varía con la concentración, c , de acuerdo a la siguiente ecuación (Miller y Miller, 2000):

$$RSD = \pm 2^{(1-0,5\log c)}$$

Con esta ecuación se pueden obtener valores buscados para cualquier tipo de análisis. Los valores buscados también pueden ser estimados a partir de un conocimiento previo de la desviación estándar alcanzada en el análisis en cuestión (Miller y Miller, 2000).

1.7.3.3 Valores fuera o aberrantes (Outliers).

Los valores aberrantes son muy probables en los experimentos analíticos, y son aquellos en los que uno o varios resultados de un conjunto de ellos difieren de manera poco lógica de los demás resultados del conjunto. En algunos casos los valores aberrantes se atribuyen a errores humanos, mal funcionamiento de alguna parte de la metodología o por contaminación. El concepto aplica tanto a muestras como a materiales y equipos. Si se presentan valores aberrantes de manera frecuente indica deficiencias en el programa de control de calidad (Taylor, 1987).

Los posibles valores aberrantes pueden identificarse cuando los datos son graficados, cuando los resultados son ordenados, y cuando los límites de control son excedidos. Solo cuando el sistema de medición está bien entendido y la varianza bien establecida, o

cuando se cuenta con un gran número de datos, es posible distinguir entre valores extremos y valores aberrantes con un nivel alto de confianza (Taylor, 1987)

La prueba simple o doble de Grubbs al 2,5% (2-colas) de nivel de rechazo se usa para excluir los valores aberrantes (SNFA, 2002). La base para probar los valores aberrantes es determinando si estos candidatos a valores aberrantes son consistentes con la distribución Gaussiana asumida *a priori*.

La presencia de estos afecta los valores de media y desviación estándar del conjunto de datos, por lo tanto es importante saber estadísticamente si es necesario rechazarlos o no. Para ello sirve la prueba de Grubbs, aunque existen más pruebas, por ejemplo la prueba de Dixon (también llamada Prueba Q).

La prueba de Grubbs compara la desviación del valor sospechoso a partir de la media de la muestra y su desviación estándar. Esta prueba es la más usada para la toma de decisiones estadísticas para rechazar los valores aberrantes.

El procedimiento es el siguiente:

1. Ordenar los datos en orden creciente
2. Decidir cual es el más pequeño y cual es el mayor que se sospecha son aberrantes
3. Estimar la desviación estándar de todo el conjunto de datos
4. Calcular el valor apropiado de G de acuerdo a lo siguiente: La hipótesis H_0 planteada sería la siguiente: todas las mediciones provienen de la misma población, entonces el valor estadístico G se calcula así:

$$G = \frac{|\text{valor sospechoso} - \bar{x}|}{s}$$

Donde,

s = es calculada con los valores sospechosos incluidos, y la prueba asume que la población es normal.

5. Seleccionar el riesgo deseado para tomar como falso el rechazo: Los valores críticos para G para $P = 0,05$ son tomados de tablas, donde si el valor de G calculado excede el valor crítico, el valor sospechoso se rechaza.

Tabla de valores críticos de G para P = 0,05 para una prueba de 2 colas (distribución normal)

Tamaño de muestra	Valor crítico
3	1,155
4	1,481
5	1,715
6	1,887
7	2,020
8	2,126
9	2,215
10	2,290

(Taylor, 1987) (Miller y Miller, 2000)

1.7.3.4 Valores Z (Z-scores).

En el esquema de pruebas de aptitud como en el que se participa con el organismo sueco, alcuotas o submuestras elaboradas a partir de un mismo material homogéneo son enviadas a cada uno de los laboratorios participantes para su análisis en intervalos regulares, en este caso cada 6 meses, y reportando los resultados al organismo coordinador de la prueba.

Cada laboratorio analiza la porción o submuestra usando su propio método. Los resultados obtenidos por los laboratorios participantes en este tipo de esquemas son comúnmente expresados como valores Z. Esto es, la aproximación utilizada para evaluar el desempeño individual de cada laboratorio es transformando los resultados reportados a su correspondiente valor de Z en la distribución normal estándar o distribución normal de unidad, así también llamada. La distribución normal estándar tiene una media de 0 y una desviación estándar de 1 (Miller y Miller, 2000)

Por tanto, el valor Z, es la medición de la desviación, en unidades de desviación estándar, de los resultados a partir del valor asignado.

Los valores Z se toman a partir de la siguiente ecuación:

$$Z = \frac{X - X_{\text{promedio}}}{\sigma}$$

donde:

X = el valor reportado de la concentración del analito en el material de prueba

X_{promedio} = la media de todos los valores, excluidos los valores aberrantes

σ = el valor buscado para desviación estándar

Para la interpretación de estos resultados se tiene que:

$|z| \leq 2$ el resultado se considera satisfactorio (aproximadamente un 95% de resultados reportados)

$2 < |z| < 3$ el resultado se considera cuestionable (aproximadamente un 5% de resultados reportados)

$|z| \geq 3$ el resultado se considera insatisfactorio (aproximadamente un 0,3% de resultado reportados)

Cuando se tienen valores de $2 < |z| < 3$ puede ser considerado como un valor de advertencia, una revisión de resultados es deseable. Cuando $|z| \geq 3$ debe ser considerado como un valor de acción, una revisión de resultados es necesaria.

El nivel de advertencia de valor de $z = 2$ implica que el 95% de los resultados se encuentran dentro de este límite y que el 5% fuera de éste.

Esto es absolutamente verdadero solo si la desviación estándar utilizada para el valor de z es calculada a partir de los resultados reportados, donde se eliminan los valores aberrantes. En todos los otros casos, puede haber desviaciones a partir de este modelo, por ejemplo, cuando los materiales de prueba contienen concentraciones extremadamente bajas del analito y el valor asignado (\bar{x}) es muy cercano al valor buscado (σ), los resultados reportados por los participantes no siempre siguen una distribución de Gauss.

Como los valores de Z están estandarizados, pueden ser comparados independientemente del material de prueba, del método de análisis y de la concentración del analito (SNFA, 2002).

Finalmente, es importante mencionar que la Política de la EMA referente a las pruebas de aptitud para laboratorios acreditados indica que los laboratorios que soliciten su acreditación deben demostrar su aptitud para producir resultados válidos mediante participación exitosa en pruebas de aptitud como requisito para obtener y mantener su acreditación. (CENAM-EMA, 2004).

CAPÍTULO 2. CONTROL ESTADÍSTICO DEL PROCESO ANALÍTICO. METODOLOGÍA.**2.1 SELECCIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS.**

Para mostrar la implantación del control estadístico del proceso analítico en el laboratorio de análisis fisicoquímicos de alimentos, antes fueron seleccionados los métodos en los que se probó dicha implantación en los 4 puntos de interés: Validación de métodos analíticos, gráficas de control, estimación de la incertidumbre y pruebas de aptitud técnica.

Los análisis realizados a los alimentos son en su mayoría métodos gravimétricos y volumétricos. Generalmente se emplean los métodos establecidos por la normatividad vigente como las normas oficiales mexicanas y normas mexicanas o métodos oficiales internacionales como los de de AOAC (American Association of Analytical Chemists); sin embargo, últimamente con la actualización de tecnología y el desarrollo e investigación en el análisis de los alimentos, se ha incrementado el uso de instrumentos analíticos como son los espectrofotómetros UV-VIS, espectrómetro de absorción atómica, espectrómetro de ICP, cromatógrafos de líquidos de alta resolución, etc. También se han automatizado o semiautomatizado algunos métodos gravimétricos como la determinación de proteínas (nitrógeno total por Kjeldahl) y determinación de grasa, sin embargo el fundamento de estos métodos sigue basado en la gravimetría y volumetría.

La selección de métodos se basó en escoger algunos de los métodos más representativos que se realizan en un laboratorio de alimentos como son:

1. Determinación de proteínas por el método semiautomatizado Kjeltex FOSS TECATOR®, (Official method 976.05, AOAC 17th edition, 2000).
2. Determinación del contenido del extracto etéreo (grasa) por el método de Weibull-Berntrop, el cual es una variante del método de Roese-Gottlieb, pero la hidrólisis es ácida en lugar de alcalina (NOM-086-SSA1-1994).
3. Cuantificación de Hg por espectroscopía de ICP (Plasma acoplado inductivamente) (NOM-117-SSA1-1994)(EPA 6010B, 1996).
4. Cuantificación de Pb por espectroscopía de ICP (Plasma acoplado inductivamente) (NOM-117-SSA1-1994)(EPA 6010B, 1996). El equipo de ICP permite obtener resultados igual de confiables que por espectroscopía de Absorción Atómica, pero con la ventaja de una mayor rapidez en el análisis y mayor sensibilidad (Especificaciones del equipo ICP marca Perkin Elmer, modelo Optima 2000).

De acuerdo a las referencias primarias, en la determinación de proteínas se involucran procesos de preparación de muestra con eliminación de materia orgánica por digestión ácida, titulación con soluciones valoradas. En el caso de la determinación de grasa, el método es fundamentalmente gravimétrico previa extracción con un disolvente orgánico. Finalmente, la determinación metales pesados se realizó por medio de análisis instrumentales por espectroscopía de ICP.

De esta manera, pudieron verse ejemplos de los diferentes tipos de análisis que normalmente se hacen en un laboratorio de alimentos: el análisis proximal representado por proteína y grasa; y los análisis instrumentales representados por los metales.

2.2 METODOLOGÍA DE LAS PRUEBAS DE DESEMPEÑO.

La validación interna de sus métodos es un requisito que los laboratorios deben cumplir para demostrar su competencia técnica. Pero como cualquier proceso o actividad de aseguramiento de calidad, debe hacerse una planeación previa.

En la planeación se deben indicar cuales son los materiales de referencia que se utilizarán en la prueba, el personal que la ejecutará y el mecanismo de evaluación o interpretación de resultados.

Dependiendo del método que va a ser validado se realiza la planeación. Para los métodos que son volumétricos y gravimétricos, donde se utilizan las pruebas de R y R, se obtienen durante la validación los siguientes parámetros: precisión, exactitud y a partir de ellos los límites para las gráficas de control de proceso; además, con los datos de la validación puede obtenerse una de las fuentes de la incertidumbre de la medición que es la variabilidad del método. Para los métodos instrumentales, donde se realizan pruebas de desempeño inicial del método, se obtienen de la validación los límites de detección y de cuantificación del método (LDM y LCM), así como la precisión y exactitud del método y a partir de éstos los límites para las gráficas de control; y de igual manera una de las fuentes de la incertidumbre, la variabilidad del método.

Es recomendable para la realización de las pruebas de desempeño contar con MRC, sin embargo, para los diferentes análisis que se hacen a los alimentos no siempre es posible contar con este tipo de materiales. Por tal razón, el laboratorio debe ingeniárselas en algunas ocasiones para desarrollar las pruebas y conocer sus criterios de control. Un ejemplo de ello es el caso de la determinación de humedad, en donde los MRC existentes como la leche en polvo de CENAM (clave DMR 65b ó 274a, material de referencia certificado por CENAM) el valor de humedad en g/100g se reporta en el certificado, sin embargo, este valor no podrá seguir siendo confiable una vez abierto el envase del MRC, ya que una vez utilizado el MRC aún cuando sea guardado y almacenado con las mayores precauciones, el valor de humedad se verá afectado por condiciones ambientales que estarán fuera del alcance del laboratorio. Esto significará que el valor de humedad podrá cambiar con el tiempo por lo que afectará los resultados posteriores de exactitud. Sin embargo, el laboratorio puede planear una prueba con el material inicial para darse una idea sobre la exactitud de su método, aunque posteriormente sólo mida la precisión.

Existen otros casos como los de los análisis de nitritos y fosfatos, donde existen materiales de referencia, pero no certificados. Normalmente se trata de materiales reactivos de pureza alta, iguales o mayores a 99%, pero que no cuentan con un valor certificado con incertidumbre, pero que pueden utilizarse como materiales de referencia internos o

muestras de control de calidad que de igual manera sirven para monitorear el estado de control del proceso analítico (Taylor, 1983).

Lo que es posible y aceptado para una validación (ISO/IEC, 1999) es que el laboratorio participe en pruebas de aptitud técnica o interlaboratorios, en donde dependiendo del organismo organizador, existen valores reportados de humedad y otros parámetros analíticos, los cuales son obtenidos mediante pruebas estadísticas confiables y que al laboratorio le resultan útiles para autoevaluarse.

2.2.1 Planeación de pruebas R y R.

En cualquier sistema de calidad confiable todo debe ser registrado; así que el laboratorio puede contar con sus propios procedimientos y formatos para desarrollar la prueba y registrar toda la información obtenida en el desarrollo de las pruebas de acuerdo a su propio estilo de documentos.

El uso de los formatos le permite al laboratorio documentar y demostrar la veracidad de sus resultados, además de tener disponible información que puede ser útil para la toma de decisiones.

En la figura a que se encuentra en el anexo 1 al final de este trabajo, se muestra un formato que puede servir de modelo general. Para la planeación de las pruebas R y R se registran los siguientes datos:

a) El procedimiento o método evaluado (por ejemplo: determinación de proteínas, grasa, etc.).

b) La referencia primaria del método. Es importante destacar que este tipo de pruebas tienen validez sólo por los métodos y referencias vigentes del laboratorio indicados en la planeación, si el procedimiento sufre un cambio en la metodología por actualización de equipos; por cambios en el proceso de algunas variables como la temperatura, los tiempos de reacción, o cualquier otro; porque hubo cambios en la referencia primaria o se utiliza una nueva, y esto ha representado cambios en la metodología; será necesario realizar una nueva prueba de desempeño, ya sea pruebas R y R o del desempeño inicial.

c) El tiempo destinado a la duración de la prueba, pues la metodología de realización de la validación puede solicitar que se realice bajo un tiempo o secuencia determinados. También debe indicarse el material de referencia, si este es certificado o no; o si fue empleado un material que no es de referencia pero es de una matriz igual o similar donde pretende buscarse el analito de interés.

d) El nombre de los analistas participantes. Normalmente en este tipo de pruebas se quiere evaluar a algún analista nuevo contra uno que lleva tiempo realizando la prueba y que tiene una variabilidad conocida.

e) Datos generales como son: el equipo y material de laboratorio empleados. Esta información sirve a la determinación de la trazabilidad e incertidumbre de las mediciones. Es importante que se anoten todos los datos del estado de calibración y verificación de los equipos y material de laboratorio.

f) Una recomendación que es útil para cualquier formato, es que éstos cuenten con un espacio para observaciones, pues podrá haber información importante que no se solicite en el formato pero que influya en el desarrollo de la prueba o en sus resultados. Cualquiera que esta sea debe anotarse.

g) Finalmente se anotan los responsables de la prueba y de la supervisión de los datos.

2.2.2 Desarrollo de las pruebas de R y R.

Una vez hecha la planeación, el proceso para la realización de las pruebas R y R fue el siguiente (Barrentine, 1991):

1. Se prepararon las muestras. Esto debe hacerse de preferencia por una persona ajena al departamento o área involucrada en la prueba.
2. Se proporcionaron las muestras a los analistas, cada uno de éstos debió analizar todas sus muestras en un mismo día (1ª repetición). Se recomienda que las analicen de manera aleatoria, es decir, un analista realiza la 1ª repetición en un día y el otro analista al siguiente. Una vez que ambos terminaron la 1ª repetición, el proceso se repitió para la segunda. También es posible que la persona que prepare las muestras se las proporcione a los analistas en diferente orden registrando cuales son las correspondientes entre un analista y otro. Esto con el fin de evitar que los analistas sesguen los resultados que vayan obteniendo.
3. Es recomendable que la primera repetición se lleve el mismo día por los dos analistas siempre y cuando esto sea posible por disposición de espacio y material. Se debe procurar terminar las pruebas lo más pronto posible, y siempre primero por un analista y luego el otro. Esto con el fin de evitar que haya más variables sin control en las pruebas. Dado que se evalúa la variabilidad entre analistas o del método, si existe la necesidad de preparar soluciones o utilizar reactivos, éstos deben ser los mismos, y en el caso de las soluciones deben ser preparadas por un solo analista con el fin de introducir más variables a la prueba.
4. Una vez que se concluyó completamente la primera repetición por los dos analistas, se inició la segunda de ellas, y se utilizaron siempre los mismos reactivos y soluciones, así como el mismo material y equipos.
5. Se registraron los datos en formatos especiales para ello (ver figuras b y c del anexo 1). Estos formatos resultan muy útiles si se encuentran en hojas de cálculo validadas.

Nota: Una manera de hacer la validación de la hoja de cálculo es realizando paso a paso cada unas de las operaciones que incluye la hoja de cálculo ya sea a mano o con calculadora y luego comparando los resultados con los obtenidos en la hoja de cálculo.

6. Con estos resultados se determinaron los parámetros de control. Estos son la variabilidad del equipo (VE), la cual de acuerdo a la bibliografía utilizada se reporta para un intervalo de $5,15 \sigma$, es decir, con un 99% de confianza; y la variabilidad del analista (VA), con el mismo grado de confianza y que sirve para registrar lo que se llama reproducibilidad del método. Este valor puede no resultar muy útil en la práctica diaria donde nada más se evalúa la repetibilidad, sin embargo, cuando se participa en pruebas de aptitud técnica puede ser útil para conocer el grado de desviación que puede tener el método cuando se realiza por diferentes analistas, aunque la desviación entre analistas de diferentes laboratorios siempre es mayor. El grado de confianza de $5,15\sigma$ puede disminuirse si así se desea multiplicando por factores menores a la desviación estándar en una distribución normal o *gaussiana* (pueden utilizarse valores de 3σ , ó 97% de confianza).
7. Otro valor que se obtuvo del estudio, y el cual era muy importante para los fines de control que se necesitaban, fue el promedio de % DPR de cada analista. Así, si se pretende seleccionar a alguno de los dos analistas para ejecutar una prueba en particular, puede seleccionarse al que tenga una variabilidad menor. También se obtuvieron los límites de control iniciales que fueron aplicados en las gráficas de control con las que se evalúa la capacidad del proceso analítico. Asimismo, junto con el promedio se obtuvo también la desviación estándar del DPR, la cual sirvió en la estimación de la incertidumbre del método.
8. Finalmente, se obtuvo el % de recuperación (% R) ya que el laboratorio contaba con un material de referencia certificado del CENAM. Con el promedio y la desviación estándar del %R fueron construidas las gráficas de control de exactitud del método. Este dato también sirve para establecer cuál es el grado del *bias* del método.

2.2.3 Planeación de las pruebas de desempeño inicial del método.

En la planeación de estas pruebas se describió, al igual que en las pruebas R y R, los equipos empleados, así como el material volumétrico utilizado; método y norma de referencia; analista que ejecutó la prueba (en este caso fue solo uno); los materiales de referencia, es recomendable más no indispensable que sean 2 diferentes: uno para la preparación de las curvas de calibración y otro para la evaluación de la precisión y exactitud.

Durante esta planeación también fueron indicadas las concentraciones de la curva de calibración. Las concentraciones de la curva deben ser las que vengan señaladas en la referencia primaria o en el caso de que no se señalen, las que sean preparadas a partir del LMP conocido; también se describió de manera general la preparación de las muestras y las posibles interferencias del método. Un ejemplo de un formato de planeación de este tipo de pruebas se muestra en la figura *d* del anexo 1.

2.2.4 Desarrollo de las pruebas de desempeño inicial.

Para el desarrollo de la metodología de las pruebas del desempeño inicial también es útil emplear formatos para el registro de datos. Un ejemplo se muestra en las figuras e, f y g del anexo 1.

La metodología para el desarrollo de las pruebas de desempeño inicial fue el siguiente (EPA, 2003):

1. En la planeación se indicó la curva de calibración empleada la cual fue elaborada con por lo menos 5 puntos de diferente concentración para el análisis de metales. El criterio para preparar la curva de calibración fue el siguiente: se consideró que el punto de más baja concentración de la curva debía ser cercano o igual al valor del LCM (éste debe ser al menos la décima parte del LMP); por lo tanto $C = LCM$; luego a partir de esta concentración se obtuvieron los demás valores de la curva de la siguiente manera: $C^I = 3C$; $C^{II} = 2C^I$; $C^{III} = 1,5C^{II}$; $C^{IV} = 1,5C^{III}$; $C^V = 1,5C^{IV}$. La curva de calibración se preparó con un material de referencia con certificado de análisis donde se indicaba su pureza y su trazabilidad; esta información es importante para cubrir el requisito 5.6.3. de la norma ISO/IEC 17025 referente al uso de materiales de referencia y su trazabilidad.
2. La curva fue preparada por triplicado y cada una se leyó espectrofotométricamente. Con ello se obtuvieron los valores de \bar{x} y σ , de los cuales se obtuvo el valor de % C.V. (coeficiente de variación) de las curvas de calibración el valor de % C.V. no debe ser mayor de 10%.
3. Se obtuvieron además los valores de LCM y LDM de acuerdo al International Committee of Harmonization (ICH) perteneciente al AOAC. Los valores de LDM se obtuvieron multiplicando el promedio de la desviación estándar por 3,3, mientras que el LCM multiplicándola por 10.
4. En este punto, el laboratorio puede decidir quedarse con estos valores o estimar los valores de LDM y LCM a través del proceso de la EPA analizando una serie de 7 muestras independientes por todo el proceso analítico.
5. Para preparar estas 7 muestras o alícuotas, se consideró una concentración tal que fuera entre 5 y 10 veces mayor que el valor del LDM estimado con las curvas de calibración (ICH) y fuera similar al LDM reportado en la literatura. En el caso de que en la literatura no exista reportado ningún valor de LDM, el valor de concentración de cada alícuota debe ser próximo y por arriba del punto más bajo de la curva de calibración.
6. Cada una de las 7 alícuotas se hizo pasar por todo el proceso analítico hasta obtener los resultados del instrumento. Para poder aceptar estos resultados debieron quedar en un intervalo de entre 85 y 115% del valor esperado. En caso contrario, deben analizarse nuevamente.
7. Con ellos se calculó el promedio y su desviación estándar, y con esta última se obtuvo el LDM multiplicándola por el valor de $t = 3,14$. El LCM se obtuvo multiplicando el LDM calculado por 5.

8. Una vez que se obtuvieron estos valores, fue importante observar que el límite de cuantificación quedara por arriba de los valores de la respuesta del ruido del instrumento y que no fuera tal que su valor de concentración fuera 10 veces más pequeño que el punto más bajo de la curva de calibración. Lo recomendable, es que el LCM sea cercano al valor del punto más bajo de la curva.
9. Posteriormente, se evaluó la precisión y exactitud del método analítico. Para ello, se utilizó un material de referencia de diferente marca o lote al utilizado en las curvas de calibración, pero con las mismas características de pureza, incertidumbre y trazabilidad. Con el se prepararon 10 alícuotas con una concentración igual al punto medio de las curvas de calibración.
10. De la misma manera que con las 7 alícuotas utilizadas para la determinación de los LDM y LCM, las 10 alícuotas se pasaron por todo el proceso analítico y luego se leyeron espectrofotométricamente para obtener los resultados.
11. Con los resultados obtenidos se calculan el promedio de la concentración y su desviación estándar. Con el promedio se obtiene el valor de % de recuperación (% R), que es la comparación de la cantidad obtenida promedio contra la cantidad esperada del punto medio de la curva.
12. Para determinar la precisión del método se formaron 5 pares de datos con los 10 resultados obtenidos y se obtuvieron de cada par el valor de % DPR, y finalmente se calculó el promedio y desviación estándar de ellos.
13. Con los valores promedio y desviación estándar de % R y % DPR, se obtuvieron los límites iniciales de control de precisión y exactitud con los cuales se construyeron las gráficas de control del método.
14. Finalmente se registraron los responsables realizar, supervisar y aprobar la prueba de desempeño inicial.

2.3 METODOLOGÍA PARA LA ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE.

La metodología para la estimación de la incertidumbre de la medición fue la siguiente:

- 1.- Especificar/definir la magnitud de la medición
- 2.- Identificar las fuentes de incertidumbre
- 3.- Cuantificar las fuentes de incertidumbre
- 4.- Transformar las fuentes de incertidumbre en incertidumbre estándar
- 5.- Calcular la incertidumbre combinada:
- 6.- Calcular la incertidumbre expandida

1. Definición de la magnitud de la medición. Esto fue identificar el mesurando de manera clara y sin ambigüedades, o dicho de otra manera en que unidades fue medido; y además haber declarado una expresión cuantitativa que relacionara el valor del mesurando con los parámetros de los cuales dependía. Por ejemplo, en la determinación de plomo en alimentos, las unidades en las que se reportó fueron mg de Pb/kg de muestra, y dependieron de parámetros como el desempeño del método o la variabilidad inherente al mismo.

2. Para la identificación de las fuentes de incertidumbre fue útil emplear un diagrama de Ishikawa y de la ecuación para calcular el mesurando, ya que esta última aportó información de los pasos para llegar al cálculo como fueron las diluciones empleadas, el peso de la muestra, etc., guiando a las fuentes de incertidumbre como el material volumétrico empleado, incertidumbre de la calibración de la balanza, etc., además de las enlistadas en el paso 1. Algunas otras fuentes de incertidumbre que pueden tenerse son:

- Muestreo, dentro de éste se encuentra la homogeneidad en la toma de muestra, el estado físico de la muestra, la conservación de la muestra, el tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y su análisis, entre otras.
- En el desarrollo del método se tiene la preparación de la muestra que varía dependiendo del método, por ejemplo, secado previo, desengrasado, molienda y tamaño de partícula, tiempo de digestión; la precisión del método; acarreo de muestras, su estabilidad, su composición, esto es, si son de matriz simple o compleja; también se tienen causas por paralaje, el uso o corrección por blancos, entre otras.
- En el uso de equipos e instrumentos se tiene la preparación de materiales de referencia o estándares, la calibración del instrumento, parámetros de operación como límite de exactitud o sensibilidad del instrumento.
- Dentro de las fuentes provenientes del analista se encuentran su variabilidad, la aplicación de redondeo, promedios, cifras significativas, pureza de los reactivos, algoritmos de procesamiento, estequiometría de la reacción, estadística, presentación de resultados.
- También existen las condiciones ambientales que pueden afectar a una medición, por ejemplo, el efecto de la temperatura sobre el material calibrado, sobre la medición de un pH, de la pesada en una balanza, de la humedad de la muestra, etc. (Eurachem/CITAC, 2000)

Como puede observarse, la estimación de la incertidumbre puede volverse tan compleja como el número de fuentes tenga, sin embargo, hay que señalar que no todas las fuentes de incertidumbre resultan significativas.

3. Cuantificación de las fuentes de incertidumbre. Esta sirvió para medir o estimar el tamaño de cada componente asociado con cada fuente potencial identificada de incertidumbre.

La determinación de cada incertidumbre individual pudo hacerse directamente para luego determinar su contribución a la incertidumbre combinada, sin embargo, no siempre fue tan sencillo tener disponible la información de cada componente o fuente de incertidumbre.

Para ello, dependiendo el grado de información disponible que se tenía, debió evaluarse con un tipo de distribución estadística diferente de acuerdo a la información acerca del método de desempeño por el cual fueron obtenidas.

Cuando no existan datos reportados de alguna fuente de incertidumbre, deben realizarse estudios adicionales para conocer su contribución a la incertidumbre, de manera tal que permitan obtener la variación representativa de cada uno de estos factores. Los diferentes tipos de distribución estadística que pueden aplicarse al cálculo de la incertidumbre se muestran en la tabla 2.3.1.

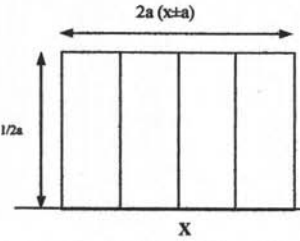
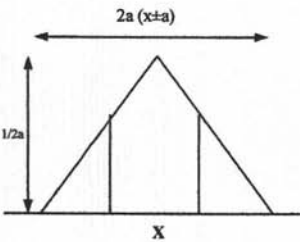
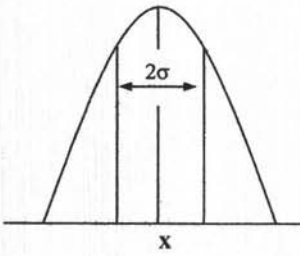
Forma de la distribución	Debe usarse cuando	Incertidumbre
Rectangular 	<p>Un certificado o otra especificación ofrece límites sin especificación alguna sobre el nivel de confianza (por ej., 25 mL ± 0,05mL)</p> <p>Cuando un estimado es hecho en la forma de un intervalo máximo ($\pm a$) sin el conocimiento de la forma de la distribución</p>	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$
Triangular 	<p>La información disponible concerniente a x es menos limitada que aquella para una distribución rectangular. Los valores cercanos a x son más probables que los cercanos a los límites.</p> <p>Un estimado es hecho en la forma de un intervalo máximo ($\pm a$) descrito por una distribución simétrica.</p>	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$
Normal 	<p>Un estimado es hecho de observaciones repetidas en un proceso variable.</p> <p>Una incertidumbre es tomada en la forma de desviación std. s, una desv. std. relativa s/x, o un coeficiente de variación %CV sin especificar la distribución.</p> <p>Una incertidumbre es tomada en la forma de un intervalo ($x \pm c$) de confianza de 95% sin especificar la distribución</p>	$u(x) = s$ $u(x) = x \cdot (s / x)$ $u(x) = \frac{\%CV}{100} \cdot x$ $u(x) = c/2 \text{ (para } c \text{ a 95\% conf.)}$ $u(x) = c/3 \text{ (para } c \text{ a 99,7\%)}$

Tabla 2.3.1 Tipos de distribución estadística de las fuentes de incertidumbre

No todas las fuentes de incertidumbre contribuyeron de manera representativa, algunas son muy pequeñas y no aportaron un valor significativo a la incertidumbre combinada. Aquellas fuentes que son menores a la tercera parte de la más grande (que contribuye en mayor proporción) deben ser eliminadas tras haber sido estimadas y verificar que su contribución no es significativa (Eurachem/CITAC, 2000).

En algunos casos, algunas fuentes de incertidumbre necesitan estudiarse por separado y obtener su incertidumbre individualmente antes de incluirla para la estimación de la incertidumbre combinada, pues éstas pueden depender a su vez de distintas variables que contribuyen de forma significativa.

Con lo anterior, queda indicado que el establecer un modelo de estimación de incertidumbre puede ser tan complejo como se decida que existan fuentes de incertidumbre que afecten a un resultado analítico. Sin embargo, no debe perderse de vista que deben detectarse las fuentes que realmente sean significativas a la incertidumbre y no crear modelos complejos por el solo hecho de tratar de incluir a detalle cada una de las partes de un proceso analítico. También debe evitarse repetir fuentes de incertidumbre al elaborar el modelo de estimación.

4.- Transformar las fuentes de incertidumbre en incertidumbre estándar. Antes de calcular la incertidumbre combinada, fue necesario expresar todas las contribuciones de las fuentes de incertidumbre en incertidumbre estándar, es decir, como desviación estándar. Algunas consideraciones que debieron tomarse en cuenta fueron:

Cuando el componente de incertidumbre es obtenido a partir de una serie o dispersión de datos o repetidas mediciones, como por ejemplo lotes de análisis o valores obtenidos de pruebas de repetibilidad, la incertidumbre simplemente se expresa como la desviación estándar de la media de esa dispersión de mediciones.

Cuando la incertidumbre estimada proviene de resultados o datos previos, puede ser que ya sea expresada como una desviación estándar. Sin embargo, cuando se reporta el nivel de confianza, esto puede ser en la forma: $\pm a$ con $\%p$, donde a es el valor de incertidumbre en las unidades reportadas del analito, y p es valor de la probabilidad expresada en % para una distribución estadística normal; entonces, para obtener la incertidumbre estándar debe dividirse el valor de incertidumbre a por el punto de porcentaje de la distribución normal para ese nivel de confianza: por ejemplo, a partir de tablas estándar de puntos de porcentaje en distribución normal, para un nivel de confianza de 95% el valor que corresponde es $1,96\sigma$, esto es prácticamente 2,0. Así, si se tiene un valor de incertidumbre $a=3$ para un nivel de confianza de 95%, debe dividirse $3/2$ y por tanto el valor de incertidumbre estándar sería aproximadamente de 1,5.

Si los límites de $\pm a$ no cuentan con un nivel de confianza pero dichos límites son probables, debe asumirse una distribución rectangular como la descrita en la tabla 2.3.1, esto es con una desviación estándar de $a / \sqrt{3}$.

Si los límites de $\pm a$ no cuentan con un nivel de confianza pero dichos límites son poco probables, debe asumirse una distribución triangular como la descrita en la tabla 2.3.1, esto es con una desviación estándar de $a / \sqrt{6}$.

5.- Calcular la incertidumbre combinada: Después de calcular las incertidumbres estándar individuales, se calculó la incertidumbre estándar combinada a través de la ecuación de propagación de errores de acuerdo a la expresión general donde los parámetros de los cuales la incertidumbre depende son independientes:

$$u_c(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1, n} c_i^2 u(x_i)^2} = \sqrt{\sum_{i=1, n} u(y, x_i)^2}$$

Cuando dichos parámetros no son independientes, la expresión se vuelve un poco más compleja debido a la covarianza que existe entre ellos:

$$u(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1, n} c_i^2 u(x_i)^2 + \sum_{\substack{i, k=1, n \\ i \neq k}} c_i c_k \cdot u(x_i, x_k)}$$

Estas expresiones se aplican cuando las incertidumbres están relacionadas a parámetros simples, parámetros agrupadas o al método como un todo; lo que resulta en un coeficiente de sensibilidad $\partial y / \partial x$ igual a 1,0.

Para casos diferentes, donde el coeficiente de sensibilidad es diferente de 1,0 deben aplicarse diferenciales parciales para obtener el equivalente numérico. Sin embargo, en algunos casos estas expresiones pueden reducirse a formas más simples, de acuerdo a las siguientes reglas:

Regla 1: Para modelos en donde la fórmula involucra suma y resta, la incertidumbre estándar combinada se calcula de la siguiente manera:

$$u_c(y(p, q, \dots)) = \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2 + \dots}$$

Regla 2: Para modelos donde existen multiplicaciones y divisiones: Esta se calcula de la siguiente manera:

$$u_c(y) = y \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \dots}$$

En ambas expresiones, p, q, \dots , son las incertidumbres en los parámetros, expresadas como desviaciones estándar relativas.

6.- Calcular la incertidumbre expandida. Finalmente, una vez obtenida la incertidumbre estándar combinada, debió seleccionarse el factor de cobertura deseado para obtener la incertidumbre expandida. Esta incertidumbre se requiere para proveer un intervalo en el cual se espera abarcar una fracción grande de la distribución de los valores, los cuales pueden ser razonablemente atribuidos al mesurando, esto es, el intervalo donde se espera encontrar el valor del analito estudiado con un valor de confianza estadística específico.

Para seleccionar el factor de cobertura, k , deben considerarse algunos puntos:

- El nivel de confianza requerido
- Cualquier conocimiento de las distribuciones implícitas
- Cualquier conocimiento del número de valores utilizados para estimar los efectos aleatorios.

Normalmente, se recomienda utilizar un factor de cobertura, $k=2$, aunque este puede resultar insuficiente si la incertidumbre combinada es obtenida a partir de observaciones con pocos grados de libertad. Para utilizar un factor $k=2$, debe contarse con al menos 6 grados de libertad.

Para reportar la incertidumbre debe indicarse siempre el nivel de confianza o el factor de cobertura utilizado.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE DESEMPEÑO (VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS) Y ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE.

3.1 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS R Y R.

Una vez hecha la planeación viene la ejecución de las pruebas. Todos los datos se registraron en los formatos señalados en el capítulo anterior.

Los métodos seleccionados para pruebas R y R fueron:

- Determinación del % de proteína por el método semiautomatizado Kjeltex.
- Determinación del extracto etéreo con hidrólisis ácida (% de grasa).

Los resultados se muestran en el siguiente orden:

3.1.1 Evaluación de la precisión del método (Análisis de proteína en alimentos)

3.1.2 Evaluación de la exactitud del método (Análisis de proteína en alimentos)

3.1.3 Evaluación de la precisión del método (Análisis de grasa en alimentos)

3.1.4 Evaluación de la exactitud del método (Análisis de grasa en alimentos)

3.1.1 PROTEÍNAS EN ALIMENTOS (EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN DEL MÉTODO)

Formato R y R LA-02

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS - PRUEBAS DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD
HOJA DE RESULTADOS PRECISIÓN DEL MÉTODO

Departamento: Análisis de Alimentos

Identificación de las muestras (Matriz): MRC leche en polvo CENAM DMR 65a

DETERMINACION (Análito) : % de proteína (fundamento Kjeldahl)

PROCEDIMIENTO (NO. DE REV.): PROTEÍNAS-ALL-02 (4)

REFERENCIA PRIMARIA: OFFICIAL METHOD 976.05 AOAC 17th edition (2000)

Bitácoras:

Fecha	Analista A: Miriam Z.A.				Fecha	Analista B: Alejandro M.P.2				FECHA	Analista 3			
16/04/2002	Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	DPR	16/04/2002	Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	DPR		Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	DPR
17/04/2002	1	18.5	18.6	0.539	17/04/2002	1	18.1	18.0	0.55		1			#DIV/0!
	2	18.6	18.5	0.539		2	18.0	18.2	1.10		2			#DIV/0!
	3	18.5	18.5	0.000		3	18.1	18.2	0.55		3			#DIV/0!
	4	18.6	18.6	0.000		4	18.2	18.3	0.55		4			#DIV/0!
	5	18.6	18.5	0.539		5	17.8	17.9	0.58		5			#DIV/0!
	6	18.7	18.7	0.000		6	18.0	18.0	0.00		6			#DIV/0!
	7	18.5	18.5	0.000		7	18.4	18.5	0.54		7			#DIV/0!
	8	18.4	18.6	1.081		8	18.1	18.2	0.55		8			#DIV/0!
			Promedio	0.337				Promedio	0.551				Promedio	#DIV/0!
			Desv. Std.	0.402				Desv. Std.	0.295				Desv. Std.	#DIV/0!

Promedio A	0.337	Intentos	D4	D5
Promedio B	0.551	2	3.27	2.51
Promedio C	#DIV/0!	3	2.58	
DPRprom:	0.444	4	2.58	
DPR desv. std	0.075			

***Límites de control para gráficas de precisión

LSC	DPRprom/D4	1.45
LSA	DPRprom/D5	1.12

Prom σ máx:	0.402
Prom σ mín:	0.295
Dif máx y mín:	0.108
σ prom:	0.349

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Repetibilidad, Variación del Equipo (VE)

VE = (aprom) * (K1)	*Repeticiones	2	3	4
VE = 1.59	K1	4.64	3.05	2.5
	cv=V.E./E.16 =	0.309		

Reproducibilidad, Variación entre analistas (VA)**

$$VA = \sqrt{(difprom + K2)^2 - \frac{EV^2}{n * c}}$$

VA = #NUM!

Analistas	2	3
K2	3.65	2.7
n= número de muestras=	8	
c= número de corridas =	2	

cv=V.V.A./E.16 = #NUM!

***Repetibilidad y Reproducibilidad

$$R y R = \sqrt{V_E^2 + V_A^2} \quad R y R = 1.59$$

VA ES IGUAL CERO, POR LO TANTO R Y R SOLO SE CALCULA A PARTIR DE VE

SUPERVISO:

APROBO:

Jefe del Departamento

Aseguramiento de la Calidad

3.1.2 PROTEÍNAS EN ALIMENTOS (EVALUACIÓN DE LA EXACTITUD DEL MÉTODO)

Formto R y R LA-03

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS - PRUEBAS DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD
HOJA DE RESULTADOS EXACTITUD DEL MÉTODO

Departamento: ANÁLISIS DE ALIMENTOS Fecha de inicio: 16/04/02 fecha de término: 17/04/02

Identificación de muestras (Matriz): MRC LECHE EN POLVO CENIAM DMR 65a DETERMINACION (Analito): PROTEINA POR KJELTEC FOSS TECATOR

Valor certificado: 18.1 Incertidumbre expandida 0.132 Factor de cobertura: 2

PROCEDIMIENTO (NO. DE REV.): PROTEÍNA-ALJ-02 (4) REFERENCIA PRIMARIA: AOAC 978.05 AÑO 2000

Analista A: Miriam Zamora					Analista B: Alejandro Montesinos					Analista C				
Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	PROMEDIO	%R	Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	PROMEDIO	% R	Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	PROMEDIO	% R
1	18.5	18.6	18.6	97.1	1	18.1	18.0	18.1	94.5	1				0.000
2	18.8	18.5	18.8	97.1	2	18.0	18.2	18.1	94.8	2				0.000
3	18.5	18.5	18.5	98.9	3	18.1	18.2	18.2	95.0	3				0.000
4	18.6	18.6	18.6	97.4	4	18.2	18.3	18.3	95.5	4				0.000
5	18.6	18.5	18.6	97.1	5	17.8	17.9	17.9	93.5	5				0.000
6	18.7	18.7	18.7	97.9	6	18.0	18.0	18.0	94.2	6				0.000
7	18.5	18.5	18.5	96.9	7	18.4	18.5	18.5	96.8	7				0.000
8	18.4	18.6	18.5	96.9	8	18.1	18.2	18.2	95.0	8				0.000
			Promedio R	97.2				Promedio R	94.9				Promedio R	94.8
			Desv. Std. R	0.355				Desv. Std. R	0.928				Desv. Std. R	0.990

Promedio % R	DESV. STD.	***Límites de control para gráficas de exactitud	
Promedio A 97.153	Desv. Std. A 0.355	LSC %Rprom+(3*σprom/√n)	96.18
Promedio B 94.895	Desv. Std. B 0.928	LSA %Rprom+(2*σprom/√n)	96.13
Promedio C 0.000	Desv. Std. C 0.000	LIC %Rprom-(3*σprom/√n)	95.86
%Rprom 96.024	σprom 0.428	LIA %Rprom-(2*σprom/√n)	95.92
		σ máx:	0.928
		σ mín:	0.355
		Dif máx y mín:	0.573

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Repetibilidad, Variación del Equipo (VE)**

VE = (DPRprom) (K1)	Repeticiones	2	3	4
VE = 1.950	K1	4.56	3.05	2.5
	σ _{VE} = V.A/6.18 =	0.379		

Reproducibilidad, Variación entre analistas (VA)**

VA =	$\sqrt{(dif\ max\ y\ min\ * K2)^2 - \frac{EV^2}{n * C}}$	Analistas	2	3
		K2	3.65	2.7
		n= número de muestras=	8	
		C= número de corridas =	2	
**VA=	2.034	σ _{v.a} = V.A/6.18 =	0.395	

***Repetibilidad y Reproducibilidad

R Y R = $\sqrt{VE^2 + VA^2}$ R Y R = 2.82

** Los factores K1 son apropiados si # de analistas ≠ de muestras > 15; si no ver tablas de t de student.
 ** Si el valor calculado en la raíz cuadrada es negativo o si existe un solo operador, entonces VA=0.
 *** A partir de los límites de control obtenidos con los promedios de %R debe construirse la gráfica de exactitud del método analítico, los valores de la reproducibilidad serán útiles para toma de decisiones durante la participación de ensayos de exactitud.
 **** Los valores de R Y R obtenidos con las desviaciones estándar de cada analista deben ser utilizados durante la estimación de la incertidumbre del método.

SUPERVISOR:

APROBO:

Jefe del Departamento

Aseguramiento de la Calidad

3.1.3 GRASA EN ALIMENTOS (EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN DEL MÉTODO)

Forma R y R LA-02

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS - PRUEBAS DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD
HOJA DE RESULTADOS PRECISIÓN DEL MÉTODO

Departamento: ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Identificación de muestras (Matriz) MRC LECHE EN POLVO CENAM DMR 65a

DETERMINACION (Análito): % GRASA POR MÉTODO DE WEBULL-BERTROP (HIDRÓLISIS ACIDA)

PROCEDIMIENTO (NO. DE REV.): GRASA- AL-04 (4)

REFERENCIA PRIMARIA: NOM-086-SSA1-1994

Bitácoras:					REFERENCIA PRIMARIA:									
Fecha	Analista A: IA LOURDES VALADEZ C.				Fecha	Analista B: QA BEGOÑA MALDONADO C.				FECHA	Analista 3			
	Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	DPR		Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	DPR		Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	DPR
07/08/2002	1	23.3	23.8	2.542	08/08/2002	1	23.8	23.8	0.84		1			#DIV/0!
	2	22.8	24.3	6.369		2	23.8	23.8	0.00		2			#DIV/0!
	3	23.1	24.0	3.822		3	24.1	23.9	0.83		3			#DIV/0!
	4	22.9	23.9	4.274		4	23.2	23.6	1.71		4			#DIV/0!
	5	23.6	24.3	2.823		5	24.1	23.8	1.25		5			#DIV/0!
	6	23.6	23.7	0.423		6	23.9	24.1	0.83		6			#DIV/0!
	7	23.5	24.3	3.347		7	23.4	23.8	1.89		7			#DIV/0!
	8	23.3	24.0	2.960		8	23.6	23.0	2.58		8			#DIV/0!
			Promedio	3.33				Promedio	1.22				Promedio	#DIV/0!
			Desv. Std.	1.68				Desv. Std.	0.777				Desv. Std.	#DIV/0!

Promedio A	3.33	Intentos	D4	D5	***Límites de control para gráficas de precisión	Prom \bar{x} máx:	1.88
Promedio B	1.22	2	3.27	2.51	LSC	DPPrpom/D4	7.44
Promedio C	#DIV/0!	3	2.58		LSA	DPPrpom/D5	5.71
DPRprom:	2.28	4	2.58			Prom \bar{x} mín:	0.777
						Dif máx y mín:	0.903
						\bar{s} prom:	1.23

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Repetibilidad, Variación del Equipo (VE)

VE = (DPRprom) * (K1)	Repeticiones	2	3	4
VE = 5.80	K1	4.56	3.05	2.5
	$cv_e = V.E./\bar{x} \cdot 100 =$	1.09		

Reproducibilidad, Variación entre analistas (VA)

VA = $\sqrt{\frac{(dif \max y \min * K2)^2 - EV^2}{n * c}}$	Analistas	2	3
VA = 2.98	K2	3.65	2.7
	n = número de muestras =	8	
	c = número de corridas =	2	
	$cv_a = V.A./\bar{x} \cdot 100 =$	0.58	

***Repetibilidad y Reproducibilidad

R y R = $\sqrt{VE^2 + VA^2}$ R Y R = 6.35

*** Los factores K1 son apropiados si # de analistas= # de muestras= 15, si no ver tablas de t de student
 ** Si el valor calculado en la raíz cuadrada es negativo o el existe un sólo operador, entonces VA=0
 *** A partir de los límites de control obtenidos con los promedios de DPR debe construirse la gráfica de control de precisión del método analítico, los valores de la reproducibilidad serán útiles para toma de decisiones durante la participación de ensayos de aptitud.
 **** Los valores de R y R obtenidos con las desviaciones estándar de cada analista deben ser utilizados durante la estimación de la incertidumbre del método.

SUPERVISOR:

APROBO:

Jefe del Departamento

Aseguramiento de la Calidad

3.1.4 GRASA EN ALIMENTOS (EVALUACIÓN DE LA EXACTITUD DEL MÉTODO)

Formto R y RLA-03

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS - PRUEBAS DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD
HOJA DE RESULTADOS EXACTITUD DEL MÉTODO

Departamento: ANÁLISIS DE ALIMENTOS Fecha de inicio: 5/08/02 fecha de término: 8/08/02

Identificación de muestras (Matriz): MRC LECHE EN POLVO CENAM DMR 65a DETERMINACION (Analito): GRASA X WEIBULL-BERNTROP (HIDRÓLISIS ÁCIDA)

Valor certificado: 24.322 Incertidumbre expandida: Factor de cobertura: 2

PROCEDIMIENTO (NO. DE REV.): GRASA-ALL-04 (4) REFERENCIA PRIMARIA: NOM-085-SSA1-1994

Analista A IA LOURDES V. C.				Analista B QA BEGOÑA M. C.				Analista C						
Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	PROMEDIO	%R	Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	PROMEDIO	% R	Muestra:	CORRIDA 1	CORRIDA 2	PROMEDIO	% R
1	23.3	23.9	23.6	97.0	1	23.6	23.7	23.7	97.4	1				0.000
2	22.8	24.3	23.6	96.8	2	23.8	23.8	23.8	97.9	2				0.000
3	23.1	24.0	23.6	96.8	3	24.1	23.9	24.0	98.7	3				0.000
4	22.9	23.9	23.4	96.2	4	23.2	23.6	23.4	96.2	4				0.000
5	23.6	24.3	24.0	98.5	5	24.1	23.6	24.0	96.5	5				0.000
6	23.8	23.7	23.7	97.2	6	23.9	24.1	24.0	98.7	6				0.000
7	23.5	24.3	23.9	98.3	7	23.4	23.8	23.6	97.0	7				0.000
8	23.3	24.0	23.7	97.2	8	23.6	23.0	23.3	95.8	8				0.000
Promedio R				97.3	Promedio R				97.5	Promedio R				96.6
Desv. Std. R				0.757	Desv. Std. R				1.11	Desv. Std. R				0.699

Promedio % R	DES. STD.	***Límites de control para gráficas de exactitud				σ máx	1.11
Promedio A 97.3	Desv. Std. A 0.757	LSC	%Rprom+(3*σprom/√n)	98.05	σ mín	0.757	
Promedio B 97.5	Desv. Std. B 1.11	LSA	%Rprom+(2*σprom/√n)	97.83	Df máx y mín	0.352	
Promedio C 0.000	Desv. Std. C 0.000	LIC	%Rprom-(3*σprom/√n)	96.73			
%Rprom 97.4	σprom 0.622	LIA	%Rprom-(2*σprom/√n)	96.95			

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Repetibilidad, Variación del Equipo (VE)**

VE = (DPRprom)² (K1)	Repeticiones	2	3	4
VE = 2.84	K1	4.56	3.05	2.5
cv.e=V.E/5.16 =		0.551		

Reproducibilidad, Variación entre analistas (VA)**

VA = $\sqrt{\frac{(dif \text{ max y min} * K2)^2 - EV^2}{n * c}}$	Analistas	2	3
VA = 1.07	K2	3.65	2.7
	n= número de muestras=	8	
	c= número de corridas =	2	
	cv.a=V.A/5.16 =	0.206	

***Repetibilidad y Reproducibilidad

R y R = $\sqrt{VE^2 + VA^2}$ R Y R = 3.03

** Los factores K1 son apropiados al # de analistas # de muestras > 15, al no verficar de 1 de analista.
 ** Si el valor calculado en la raíz cuadrada es negativo o si existe un solo operador, entónces VA=0.
 *** A partir de los límites de control obtenidos con los promedios de %R debe construirse la gráfica de control de exactitud del método analítico, los valores de la reproducibilidad serán útiles para toma de decisiones durante la participación de ensayos de aptitud.
 **** Los valores de R y R obtenidos con las desviaciones estándar de cada analista deben ser utilizados durante la estimación de la incertidumbre del método.

SUPERVISOR:

APROBO:

Jefe del Departamento

Aseguramiento de la Calidad

3.2 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE DESEMPEÑO INICIAL.

Una vez hecha la planeación se desarrollaron las pruebas de desempeño inicial. Todos los datos se registraron en los formatos señalados en el capítulo anterior.

Los métodos seleccionados para pruebas de desempeño inicial fueron:

- Determinación de mercurio en alimentos por espectroscopia de ICP. En este método no se indicaba la curva de calibración en la referencia primaria, por lo que se construyó tomando en cuenta el LMP indicado en normas oficiales de especificaciones de algunos alimentos como son: alimentos enlatados y productos de la pesca (NOM-130-SSA1-1995, NOM-029-SSA1-1993).
- Determinación de plomo en alimentos por espectroscopia de ICP. En este método no se indicaba la curva de calibración en la referencia primaria, por lo que se construyó tomando en cuenta el LMP indicado en normas oficiales de especificaciones de algunos alimentos como son: alimentos enlatados, productos de la pesca y productos de cacao (NOM-130-SSA1-1995, NOM-029-SSA1-1993, NOM-086-SSA1/SCFI-2002).

Los resultados se muestran en el orden arriba señalado. Para cada método validado se obtuvieron tres hojas de cálculo.

RESULTADOS

3.2.1a Mercurio. Evaluación de la curva de calibración, obtención de los LDM y LCM estimados (ICH); y obtención de los LDM y LCM por el método de la EPA.

										Formato DES-LA-01		
PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACION INTERNA DEL METODO												
I. DETERMINACIÓN DE INTERVALO DE TRABAJO Y LIMITE DE DETECCIÓN INICIAL (LDM-ESTIMADO)												
Fecha de inicio de la prueba	23-Ago-04	Departamento		ANÁLISIS DE ALIMENTOS								
Fecha de término de la prueba	23-Ago-04											
ANALISTAS	Q.A. VANESSA ALONSO SENTÍES (ALIMENTOS) / Q.A. BEGOÑA MALDONADO CUESTA (AA/ICP)											
Analito	MERCURIO	Matriz		HNO3-HCl								
Clave de Procedimiento (Índice No. de revisión):		MET-AL-08 REVISIÓN 1			Referencia primaria:		NOM-117-SSA1-1994					
Unidades utilizadas µg/L				CONDICIONES DE OPERACIÓN: 1 228,892 nm Flujo plasma 15; Flujo auxiliar 0,2; Flujo nebulizador 0,8 RF Power 1500; bomba 1,50; antorchita axial -4,5								
DESEMPEÑO INICIAL DEL METODO: EVALUACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN												
Concentración	Curva 1	Inten.	Curva 2	Inten.	Curva 3	Inten.	x	σ	% C.V.	CF	1/Cf	concent ANALITO
0.000	1751.6		1751.6		1751.6		1751.6	0.0000		0.00		0.7346
2.00	4352.2		5001.8		4802.8		4718.9	332.8	7.05	2359.5	0.0004	1.98
4.00	8852.1		9019.5		9195.2		9022.9	171.6	1.90	2255.6	0.0004	3.78
6.00	13979.9		14120.4		14121.8		14074.0	81.5	0.579	2345.7	0.0004	5.90
8.00	19782.5		20085.0		19682.5		19816.7	253.0	1.28	2477.1	0.0004	8.31
10.0	25136.3		25059.3		24324.3		24840.0	448.2	1.80	2484.0	0.0004	10.4
b	-1329.0		-697.0		-423.8		-816.6	464.3				
m	2624.9		2559.0		2471.5		2551.8	77.0	3.0159			prom Cf= 2384.4
r	0.9990		0.9981		0.9994		0.9988	0.0007	0.0696			DESVEST Cf= 96.5
n=	5											
										PROM 1/Cf= 0.0004		%DSR= 4.05
										(DSR debe ser < 10%)		
Valores promedio de las curvas: Regresión lineal				Límites estimados								
Ordenada al origen promedio,	b			-816.6		LDM (ICH)		0.600		µg/L		
Valor promedio de la pendiente,	m			2551.8		LCM (ICH)		1.82		µg/L		
Desv. Std. de la ordenada al origen,	σ			464.3		ICH - INTERNATIONAL COMITEE OF HARMONIZATION						
Promedio del coeficiente de relación,	r			0.9988								
II. LIMITE DE DETECCIÓN DEL METODO (LDM). (DE ACUERDO A EPA)												
LDM DEL METODO DE REFERENCIA (BIBLIOGRAFIA)=				No reportado								
Concentración utilizada	2.00 µg/L		debe ser de 5 a 10 veces el LDM de referencia o estimado									
NOTA: DEBE SER UN VALOR DE CONCENTRACIÓN CERCANO AL PUNTO MÁS BAJO DE LA CURVA												
Resultados												
Análisis	FR	Conc. Obt.		x		σ		L.D.M.		µg/mL		
1	4023.0	1.897		1.97891		0.05408		0.16883				
2	4200.5	1.988						LDM= t*s		t= 3.14		
3	4180.4	1.958						LDM= 3.14*s		0.16883		
4	4308.4	2.008						LCM= LDM*s		0.84813		
5	4445.1	2.062										
6	4325.3	2.015										
7	4149.2	1.946										

RESULTADOS

3.2.1b Mercurio. Evaluación de la precisión y exactitud del método.

						Formato DES-LA-01
PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACION INTERNA DEL METODO						
Analito	MERCURIO			Matriz	HNO3-HCl	
Clave de Procedimiento (Indique No. de revisión):				MET-ALL-08 REVISIÓN 1		
III. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA PRECISION Y EXACTITUD INICIAL DEL METODO						
Concentración utilizada	6.00	µg/L	debe ser en el punto medio de la curva de calibración			
RESULTADOS			SUBROUTINA PARA CALCULAR LA EXACTITUD (% R)			
Analisis	FR	Conc. Obt.	A partir de los 10 resultados obtenidos			
			Analisis	VE	VR	(VE/VR)*100
1	15350.9	6.34	1	6.34	6.00	105.8
2	14467.3	5.99	2	5.99	6.00	99.8
3	14836.6	6.13	3	6.13	6.00	102.2
4	14875.1	6.15	4	6.15	6.00	102.5
5	15121.3	6.25	5	6.25	6.00	104.1
6	15135.1	6.25	6	6.25	6.00	104.2
7	15377.3	6.35	7	6.35	6.00	105.8
8	15412.4	6.36	8	6.36	6.00	106.0
9	14300.9	5.92	9	5.92	6.00	98.7
10	15678.9	6.43	10	6.43	6.00	107.1
FR= factor de respuesta (Intensidad)			PROMEDIO	103.6	DESVEST	2.752
SUBROUTINA PARA CALCULO DE LA PRECISION (DPR)						
Aparear los 10 resultados						Criterio de aceptación
Calcular el DPR						x 6.22
Pares	X1	X2	(X1-X2)	X1+X2	%DPR	s 0.165
1	15350.9	15135.1	215.8	30486.0	1.416	% RSD 2.66
2	14467.3	15377.3	910.0	29844.6	6.098	%Rprom 103.6
3	14836.6	15412.4	575.8	30249.0	3.807	%Rdesvest 2.75
4	14875.1	14300.9	574.2	29176.0	3.936	DPRprom= 3.65
5	15121.3	15578.9	457.6	30700.2	2.981	Rprom=recuperación promedio
PROM INTERVALO			546.680	PROM DPR	3.65	DPRprom= Diferencia porcentual relativa prom.
Hoja 2 / 3						

RESULTADOS

3.2.1c Mercurio. Obtención de los límites de control del método.

PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACION INTERNA DEL METODO			Formato DES-LA-01
IV. CÁLCULO DE LÍMITES DE CONTROL. GRÁFICAS DE CONTROL PRELIMINARES			
1. GRAFICAS DE CONTROL DE EXACTITUD			
LÍMITES DE CONTROL		%	
PROMEDIO (X)		103.60	
LSC	$X+(2\sigma/\sqrt{n})$	106.21	
LSA	$X+(3\sigma/\sqrt{n})$	105.34	
LIA	$X-(3\sigma/\sqrt{n})$	101.86	
LIC	$X-(2\sigma/\sqrt{n})$	100.99	
LSA= Límite superior de advertencia		X =promedio recuperación	
LIA= Límite inferior de advertencia		σ=desviación estándar recuperación	
LIC=Límite inferior de control			
2. GRAFICAS DE CONTROL DE PRECISION			
LÍMITES DE CONTROL		%	
PROMEDIO DPR		3.648	
LSC	$3,27 \cdot \text{DPR}_{\text{prom}}$	11.93	
LSA	$2,51 \cdot \text{DPR}_{\text{prom}}$	9.16	
LSC= Límite superior de control			
LSA= Límite superior de advertencia			
Observaciones:			
Elaboró		Revisó	Aprobó
Nombre y Firma		Nombre y Firma	Nombre y Firma
Q. analista		Aseg. de Calidad	Gerencia de Laboratorio
			Hoja 3 /3

RESULTADOS

3.2.2a Plomo. Evaluación de la curva de calibración, obtención de los LDM y LCM estimados (ICH); y obtención de los LDM y LCM por el método de la EPA.

Formato DES-LA-01												
PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACION INTERNA DEL METODO												
I.DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE TRABAJO Y LIMITE DE DETECCIÓN INICIAL (LDM-ESTIMADO)												
Fecha de inicio de la prueba	23-Jun-04	Departamento	ANÁLISIS DE ALIMENTOS									
fecha de término de la prueba	25-Jun-04											
ANALISTAS	Q.A. VANESSA ALONSO SENTÍES (ALIMENTOS) / Q.A. BEGOÑA MALDONADO CUESTA (AA/CP)											
Analito	PLOMO	Matriz	HNO3 AL 2%									
Clave de Procedimiento (Indique No. de revisión):	MET-ALI-06 REVISIÓN 1			Referencia primaria:	NOM-117-SSA1-1994							
Unidades utilizadas	mg/L		CONDICIONES DE OPERACIÓN: λ 220.353 nm Flujo plasma 15; Flujo auxiliar 0.2; Flujo nebulizador 0.8 RF Power 1500; bombe 1.50; antorchas axial -4.0									
DESEMPEÑO INICIAL DEL METODO: EVALUACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN												
Concentración	Curva 1	Inten.	Curva 2	Inten.	Curva 3	Inten.	x	σ	% C.V.	CF	1/CF	concent ANALITO
0.000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0000		0.00	0.00	0.0000
0.02	207.4	201.3	260.6	219.8	26.9	12.23	10968.3	0.0001	0.02			
0.06	693.3	836.3	867.3	796.3	89.7	11.27	13271.7	0.0001	0.06			
0.12	1644.4	1657.1	1654.5	1618.7	64.3	3.974	13488.9	0.0001	0.13			
0.18	2396.1	2279.4	2449.8	2375.1	87.1	3.67	13195.0	0.0001	0.18			
0.27	3606.1	3691.5	3551.5	3563.0	26.3	0.79	13270.5	0.0001	0.3			
b	-94.3	-8.9	42.9	-20.1	69.3							
m	13721.2	13249.6	13152.5	13374.4	304.2	2.2744						prom Cf= 12842.9
r	0.9998	0.9985	0.9994	0.9992	0.0007	0.0706						DESYST Cf= 1042.5
n=	5											PROM 1/CF= 0.0001
												%DSR= 8.12
												(DSR debe ser < 10%)
Valores promedio de las curvas: Regresión lineal										Limites estimados		
Ordenada al origen promedio,	b		-20.1							LDM (ICH)	0.017	mg/L
Valor promedio de la pendiente,	m		13374.4							LCM (ICH)	0.052	mg/L
Desv. Std. de la ordenada al origen,	σ		69.3							ICH = INTERNATIONAL COMITE OF HARMONIZATION		
Promedio del coeficiente de relación,	r		0.9992									
II. LIMITE DE DETECCIÓN DEL METODO (LDM). (DE ACUERDO A EPA)												
LDM DEL METODO DE REFERENCIA (BIBLIOGRAFIA)=	No reportado											
Concentración utilizada	0.085 mg/L		debe ser de 5 a 10 veces el LDM de referencia o estimado							NOTA: DEBE SER UN VALOR DE CONCENTRACIÓN CERCAÑO AL PUNTO MÁS BAJO DE LA CURVA		
Resultados												
Análisis	FR	Conc. Obt.								x	0.08398	
1	1116.8	0.085								σ	0.00119	
2	1123.4	0.085								L.D.M.	0.00374	mg/mL
3	1084.8	0.083								LDM= t*s	t = 3.14	
4	1083.2	0.083								LDM= 3.14*s	0.00374	
5	1112.1	0.085								LCM= LDM'S	0.01872	
6	1108.8	0.084										
7	1083.0	0.082										
Hoja 1/3												

RESULTADOS

3.2.2b Plomo. Evaluación de la precisión y exactitud del método.

						Formato DES-LA-01	
PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACION INTERNA DEL METODO							
Analito	PLOMO		Matriz	HNO3 AL 2%			
Clave de Procedimiento (Indique No. de revisión):			MET-AL-06 REVISIÓN 1				
III. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA PRECISION Y EXACTITUD INICIAL DEL METODO							
Concentración utilizada	0.12 mg/L		debe ser en el punto medio de la curva de calibración				
RESULTADOS			SUBROUTINA PARA CALCULAR LA EXACTITUD (% R)				
Análisis	FR	Conc. Obt.	A partir de los 10 resultados obtenidos				
1	1471.8	0.11	Análisis	VE	VR	(VE/VR)*100	
2	1460.4	0.11	1	0.11	0.12	93.0	
3	1506.4	0.11	2	0.11	0.12	92.2	
4	1536.0	0.12	3	0.11	0.12	95.1	
5	1514.6	0.11	4	0.12	0.12	97.0	
6	1604.6	0.12	5	0.11	0.12	95.6	
7	1557.1	0.12	6	0.12	0.12	101.2	
8	1572.6	0.12	7	0.12	0.12	98.3	
9	1548.0	0.12	8	0.12	0.12	99.2	
10	1497.5	0.11	9	0.12	0.12	97.7	
FR= factor de respuesta (Intensidad)			10	0.11	0.12	94.6	
			PROMEDIO	96.4	DESVEST	2.822	
SUBROUTINA PARA CALCULO DE LA PRECISION (DPR)							
Aparear los 10 resultados							
Calcular el DPR							
Pares	X1	X2	(X1-X2)	X1+X2	%DPR	Criterio de aceptación	
1	1471.8	1604.6	132.8	3076.4	8.633	x	0.12
2	1460.4	1557.1	96.7	3017.5	6.409	s	0.003
3	1506.4	1572.6	66.2	3079.0	4.300	% RSD	2.93
4	1536.0	1548.0	12.0	3084.0	0.778	%Rprom	96.4
5	1514.6	1497.5	17.1	3012.1	1.135	%Rdesvest	2.82
PROM INTERVALO			64.960	PROM DPR	4.25	DPRprom=	4.25
						Rprom=recuperación promedio DPRprom= Diferencia porcentual relativa prom.	
Hoja 2/3							

RESULTADOS

3.2.2c Plomo. Obtención de los límites de control del método.

			Formato DES-LA-01
PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACIÓN INTERNA DEL MÉTODO			
IV. CÁLCULO DE LÍMITES DE CONTROL. GRÁFICAS DE CONTROL PRELIMINARES			
1. GRÁFICAS DE CONTROL DE EXACTITUD			
LÍMITES DE CONTROL		%	
PROMEDIO (X)		96.39	
LSC	$X+(2\sigma/\sqrt{n})$	99.07	
LSA	$X+(3\sigma/\sqrt{n})$	98.18	
LIA	$X-(3\sigma/\sqrt{n})$	94.61	
LIC	$X-(2\sigma/\sqrt{n})$	93.71	
		X = promedio recuperación	
		σ = desviación estándar recuperación	
LSA= Límite superior de advertencia			
LIA= Límite inferior de advertencia			
LIC= Límite inferior de control			
2. GRÁFICAS DE CONTROL DE PRECISION			
LÍMITES DE CONTROL		%	
PROMEDIO DPR		4.251	
LSC	$3,27 \cdot DPR_{prom}$	13.90	
LSA	$2,51 \cdot DPR_{prom}$	10.67	
LSC= Límite superior de control			
LSA= Límite superior de advertencia			
Observaciones:			
Elaboró		Revisó	
Nombre y Firma		Nombre y Firma	
Q. analista		Aseg. de Calidad	
		Aprobó	
		Nombre y Firma	
		Gerencia de Laboratorio	
		Hoja 3 /3	

3.3 ANÁLISIS DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE DESEMPEÑO.

Después de realizar las pruebas de desempeño, el responsable de la calidad en el laboratorio debe analizar estadísticamente toda la información obtenida y aprobar o rechazar los resultados obtenidos.

3.3.1 Para las pruebas R y R, se evaluó el desempeño de los métodos a través de los analistas. Lo que se obtuvo fue lo siguiente:

a) Proteína.

En el caso de precisión los resultados mostraron que el analista B tuvo un promedio de % DPR mayor que el analista A, pero con una desviación estándar menor. Esto quiere decir que los resultados entre duplicados de una misma muestra la precisión es baja, pero éstos son constantes para todas las muestras. En cambio para el analista A, los resultados entre los duplicados de cada muestra fueron más precisos, pero mostró una variabilidad más alta entre las muestras. Con el resultado de DPR de cada analista se calculó el promedio y luego se multiplicó este valor por unas constantes para obtener los límites de control de precisión.

Para la parte de exactitud, ambos analistas tuvieron valores de % de recuperación altos, por arriba del 90%; sin embargo, el analista B tuvo una variabilidad mayor que el analista A. Con los valores de promedio y desviación estándar se calcularon los límites iniciales de las gráficas de control de exactitud del método.

b) Grasa.

En el caso de precisión, la analista B mostró mejores resultados ya que sus valores de promedio de DPR y desviación estándar fueron más bajos que los de la analista A, por lo que se estableció que tiene una menor variabilidad.

En el caso de exactitud, ambas analistas tuvieron prácticamente el mismo valor de % de recuperación, el cual fue muy alto (en promedio= 97,4%); sin embargo, la desviación estándar de la analista B fue un poco mayor que la de la analista A.

3.3.2 Para las pruebas de desempeño inicial se obtuvo que:

a) Mercurio.

Para las curvas de calibración, el valor de DSR estuvo por abajo del máximo permitido del 10% con lo que las curvas se aceptaron. Asimismo, los valores de LDM y LCM obtenidos de las curvas (ICH) quedaron en el límite permitido, esto es, no son 10 veces menores que el punto más bajo de la curva de calibración. Lo mismo sucedió para los límites calculados a partir de las 7 alícuotas (EPA, 2003), éstos no fueron 10 veces menores que los límites estimados.

El valor de recuperación obtenido de la serie de 10 alícuotas fue de 103%, quedando dentro del intervalo establecido de 85-115%.

b) Plomo.

El valor de %DSR de las curvas de calibración quedó por debajo del máximo permitido. El LDM a partir de las curvas (ICH) se encontró muy cercano al punto más bajo de la curva de calibración, mientras que el LCM (ICH) estuvo dentro del intervalo de ésta. Los límites obtenidos por las 7 alícuotas (EPA, 2003) quedaron dentro del intervalo en el que no fueron 10 veces menor que el LDM estimado.

El % de recuperación fue del 96,4% quedando dentro del intervalo establecido.

De esta manera, los resultados obtenidos fueron aprobados e implantados los criterios de control del laboratorio para la construcción de cartas de control de precisión y exactitud, así como la determinación de la incertidumbre.

En caso de que se hubiera rechazado alguna prueba, debía haberse buscado la causa raíz y aplicado la acción correctiva. Realizada la acción correctiva, se hubiera tenido que repetir la prueba.

Una vez que se tuvieron los criterios de control y se calcularon los límites iniciales para las gráficas de control, se pusieron en uso por el laboratorio. Cualquier resultado obtenido por el laboratorio debe cumplir con los criterios establecidos en las gráficas de control, es decir, no estar fuera de los límites de control, no debe haber tendencias, y el proceso analítico estar bajo control estadístico.

Un laboratorio que trabaja bajo control estadístico de proceso está en condiciones apropiadas para participar en pruebas de aptitud y obtener buenos resultados.

3.4 ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE

La estimación de la incertidumbre es un requisito que los laboratorios deben cumplir ya que ésta es una parte indispensable de la expresión de cualquier resultado analítico (ISO/IEC, 1999). El cálculo de la incertidumbre fue realizado en dos de las metodologías mostradas en la validación o pruebas de desempeño. Los ejemplos fueron: uno para un análisis gravimétrico y otro para un análisis instrumental.

3.4.1 Determinación de la incertidumbre para el análisis de grasa total.

Paso 1: Especificar la magnitud del mesurando: esto es, el % de grasa en alimentos expresado como g de grasa/100 g de muestra.

Paso 2: Indicar el modelo matemático para el cálculo del mesurando:

RESULTADOS

$$\%grasa\ total = \frac{W2 - W1}{m} \times 100$$

Donde:

W2 es el peso del matraz con grasa

W1 es el peso del matraz vacío

M es el peso de la muestra

Paso 3. Búsqueda de fuentes de incertidumbre con el uso de un diagrama de Ishikawa. Este diagrama ayudó a buscar de manera más efectiva las fuentes de incertidumbre, en él se incluyeron todos los puntos involucrados en el proceso analítico, desde la validación del método (pruebas de R y R) y el proceso en sí del mismo método (como el empleo de reactivos, preparación de la muestra, uso de equipos de medición)

En la figura 3.4.1.1 se muestra el diagrama obtenido para el análisis de grasa en alimentos.

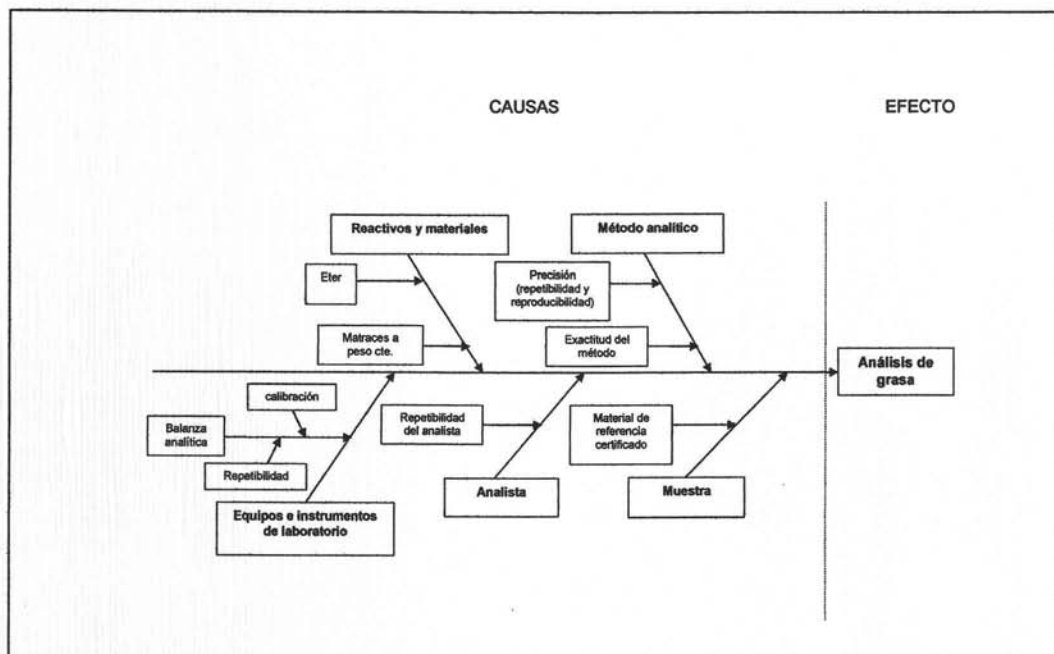


Fig. 3.4.1.1 Diagrama de Ishikawa para la estimación de incertidumbre en el análisis de grasa

Las causas asignables fueron (Una vez determinadas las fuentes, son llamadas componentes de la incertidumbre):

1. Repetibilidad del método
2. Exactitud del método

3. Repetibilidad del analista
4. Calibración de la balanza
5. Repetibilidad de la balanza
6. Preparación o submuestreo de la muestra (MRC)
7. Incertidumbre del valor del MRC

Hay varios puntos que deben señalarse:

- El valor de pureza del éter no fue significativo para la extracción de la grasa durante el análisis.
- El peso constante de los matraces empleados dependió de la repetibilidad de la balanza.
- Aún cuando fue señalada, la repetibilidad del analista se incluyó en la precisión del método, pues dependía de las pruebas R y R.
- Al igual que el peso constante de los matraces, la preparación de la muestra, es decir, su pesado, dependió de la repetibilidad de la balanza, así como de la calibración de la misma.
- Por tal motivo, la parte del proceso de preparación de muestra (MRC) dependió solamente de la incertidumbre de su valor certificado.
- Los materiales de referencia certificados, se emplean de manera rutinaria en el laboratorio de Análisis de Alimentos en cada lote analizado de varios analitos, entre los que se incluyen todos los del análisis proximal. Por ello, la incertidumbre de estos materiales debió incluirse en la incertidumbre de la medición de grasa.

Paso 3: Cuantificación de las fuentes de incertidumbre. Esto fue determinar la incertidumbre de cada componente. En este punto es importante saber que tanta información disponible era con la que se contaba. Con dicha información debió calcularse la incertidumbre individual de cada componente

Para el caso de la precisión y la exactitud del método se contaba con los datos de la prueba R y R.

Para la calibración de la balanza se tenía el dato del certificado de calibración del proveedor externo, el cual es un laboratorio acreditado para calibración por lo que cuenta con una metodología establecida para el cálculo de la incertidumbre.

La repetibilidad de la balanza es reportada en el certificado de la calibración, sin embargo, por el intervalo de uso para el análisis en particular, debió determinarse internamente en el intervalo apropiado. Para ello, se realizó una serie de 10 mediciones, con una pesa calibrada y se obtuvieron los valores de la desviación estándar. La repetibilidad puede determinarse a través de solo 3 mediciones (CENAM-EMA, 2004); sin embargo, en el laboratorio de Análisis de Alimentos fueron realizadas 10 mediciones.

RESULTADOS

La prueba de repetibilidad de la balanza en el intervalo de peso de muestra en el análisis de grasa (2 g) fue la siguiente:

No. de medición	Peso obtenido (g)	
1	2,0000	
2	1,9999	
3	1,9998	
4	1,9999	
5	1,9997	
6	2,0000	
7	2,0000	
8	1,9999	
9	1,9999	$\bar{x} = 1,9999 \text{ g}$
10	2,0000	$\sigma = 0,00009 \text{ g}$

El valor de incertidumbre del material de referencia se indica en el certificado, el cual además viene expresado con un intervalo de confianza del 95%.

Paso 4. Todos los datos se registraron en una hoja de cálculo donde fueron cuantificadas de manera individual cada uno de los componentes de la incertidumbre. Para ello, debieron transformarse en incertidumbre estándar mediante el uso de distribuciones estadísticas con la información disponible de cada componente.

Una vez identificadas las fuentes de incertidumbre y realizado el estudio adicional para la repetibilidad de la balanza, los datos se registraron en el formato con las unidades en las que fueron obtenidos.

Para el caso de la precisión y la exactitud, los valores fueron tomados de las respectivas pruebas de desempeño, donde cada valor era el correspondiente al valor de R y R del formato. Los valores de la prueba están obtenidos en las dimensiones de g/100g (% p/p). Para obtener cada valor de R y R se hicieron 16 repeticiones o 16 mediciones (8 cada analista), por lo que $n=16$ y grados de libertad = 15. Los valores obtenidos de R y R para poder ser expresados en incertidumbre estándar debieron dividirse entre la raíz de 16 y luego entre el divisor de acuerdo a la distribución estadística correspondiente, la cual era de tipo normal pues proviene de un estudio de una serie de mediciones que ofrece una media y una desviación estándar normales. El valor de incertidumbre estándar fue elevado al cuadrado para obtener el valor de varianza que será utilizado para la determinación de la incertidumbre estándar combinada.

El valor de incertidumbre de la calibración de la balanza fue obtenido del certificado de calibración donde la incertidumbre está expresada para una carga de 2 g como 0,20 mg con una $k=2$; esto es 0,0002 g como incertidumbre expandida. Para pasarla a incertidumbre estándar debió dividirse entre 2 lo que da 0,0001 g, y posteriormente se pasó a la magnitud del mesurando, esto es: si 2 g eran el 100% del peso empleado,

RESULTADOS

entonces 0,0001 g correspondía al 0,005%. Y luego este valor fue dividido entre el divisor de la distribución estadística normal obtenida a partir de una serie de 10 mediciones, lo que dieron 9 grados de libertad. Igual que para la precisión y exactitud, se elevó al cuadrado para obtener el valor de la varianza.

Para la repetibilidad, de la serie de 10 mediciones se extrajo el valor de la desviación estándar = 0,0009 g, la cual se dividió entre la raíz de las 10 mediciones y se pasó a la magnitud del mesurando multiplicando por 100 y luego dividiendo entre 2 = 0,0014 %. Este valor fue dividido de acuerdo a una distribución normal y luego elevado al cuadrado.

Finalmente, el valor del material de referencia certificado fue el que estaba expresado en el certificado con una incertidumbre con factor de cobertura de $k=2$, por lo que debió dividirse entre dos. Posteriormente entre el divisor para una distribución normal y luego al cuadrado.

Paso 5. Cálculo de la incertidumbre estándar combinada. Todos los datos de varianza se sumaron y al resultado de esta sumatoria se le sacó la raíz cuadrada para obtener la incertidumbre estándar combinada.

Paso 6. Incertidumbre expandida. Se estableció como factor de cobertura $k=2$, y entonces la incertidumbre estándar combinada se multiplicó por este factor.

La hoja de cálculo muestra el valor de la incertidumbre expandida estimada para el análisis de grasa.

Adicionalmente, el uso de hojas de cálculo permite realizar gráficas como un histograma en donde se puede apreciar cual de las fuentes de la incertidumbre fue la que contribuye en mayor proporción.

RESULTADOS

Formato INC LA-01

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS
CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN

Análito: Grasa total Unidades (magnitud del mesurando): % p/p (g/100g)
 Fecha: Feb-03
 Analista: Begoña Maldonado
 % grasa = $(W2-W1)/m \cdot 100$

Símbolo	Fuente de Incertidumbre	Valor	Unidades	valor en magnitud del mesurando (%)	Distribución	Divisor	Incertidumbre	Grados de libertad	u2	
Desempeño método										
u precisión	RyR	6.35	%	1.59	normal	1	1.59	15	2.52	
u exactitud	RyR	3.03	%	0.7575	normal	1	0.758	15	0.574	
Balanza										
uc	calibración	0.0001	g	0.005	normal	1	0.005	9	0.00003	
ur	repetibilidad	0.00009	g	0.0014	normal	1	0.0014	9	0.00000	
MRC										
uMRC	valor cert.	0.262	%	0.131	normal	1	0.131	desconocido	0.017	
					sumatoria				sumatoria	3.11

Incertidumbre combinada	1.76
Incertidumbre expandida	3.53
Factor de cobertura K	2

Fuente	Aportación
Precisión	81.0
Exactitud	18.4
cal. Balanza	0.0
rep. Balanza	0.0
MRC	0.6



Reporte de la Incertidumbre: el valor está obtenido en %, esto es, que para un valor x de grasa, el valor de la incertidumbre es 0,0353x y se reporta como % de grasa = $x \pm 0,0353x$ con factor de cobertura $K=2$ (95% de confiabilidad)

Revisó:

Aprobó:

Jefe del departamento

Aseguramiento de Calidad

Fig. 3.4.1.2 Formato de registro de resultados del cálculo de la incertidumbre para grasa.

3.4.2 Determinación de la incertidumbre en el análisis de plomo en alimentos.

Paso 1. Establecer el mesurando. La cuantificación de plomo es mg de plomo por kg de muestra (mg/kg o ppm). La fórmula es la siguiente:

$$\text{mg/kg de Pb} = \frac{Cx Dx 1000}{Ax mx 1000}$$

RESULTADOS

Donde,

C es la concentración obtenida en la curva de calibración

D es el volumen final de la dilución en mL

A es la alícuota inicial de la muestra digerida en mL

m es el peso de la muestra en g

1000 es el factor de conversión de g a mg

1000 es el factor de conversión de mL a L

Los factores de 1000 se cancelaron entre sí, pero fue importante anotarlos para saber de donde había sido obtenida la concentración final en ppm (mg/L), tomando como 1 g/mL la densidad de la muestra disuelta.

Paso 2. Buscar las fuentes de incertidumbre. A través del Ishikawa (ver figura 3.4.2.1)

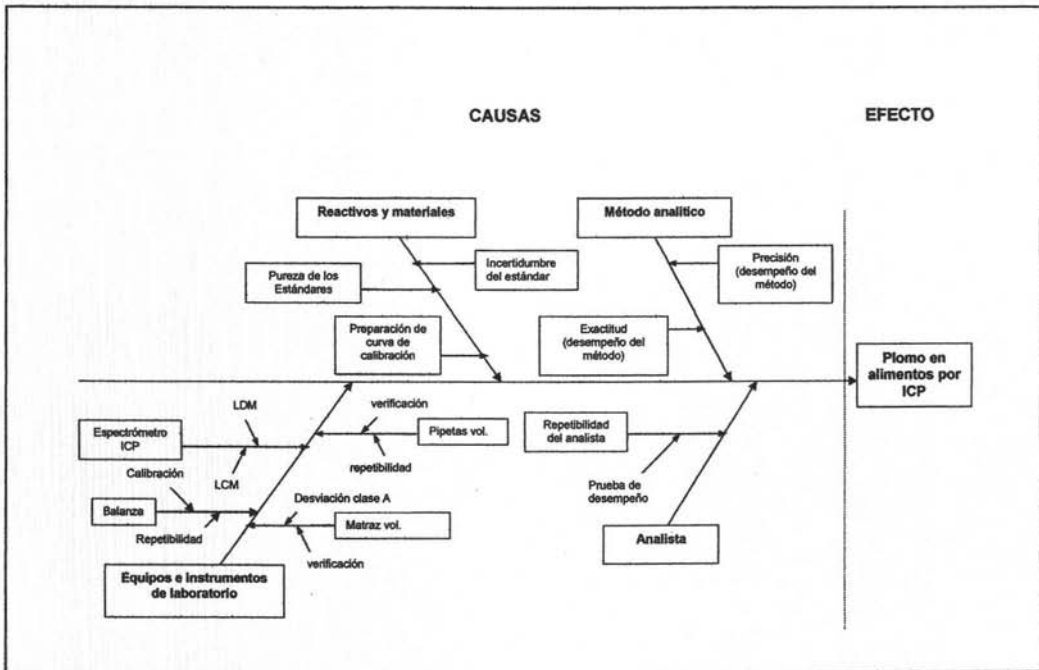


Fig. 3.4.2.1 Diagrama de Ishikawa para la estimación de incertidumbre en el análisis de plomo
Las fuentes de incertidumbre fueron:

- Desempeño del método (precisión y exactitud)
- Uso de estándares o materiales de referencia
 - Pureza
 - Incertidumbre de la concentración primaria
 - Preparación de la curva de calibración

RESULTADOS

- La repetibilidad del analista, ésta queda incluida en el desempeño del método
- Uso del espectrómetro de ICP
 - LDM
 - LCM
- Balanza analítica
 - Calibración externa
 - Repetibilidad
- Material volumétrico empleado
 - Pipetas volumétricas
 - Verificación
 - Repetibilidad
 - Matraces volumétricos
 - Calibración del fabricante (tolerancia)
 - Verificación interna

Paso 3: Cuantificación de las fuentes de incertidumbre.

Se contaba con los datos de la prueba de desempeño, pero además debió obtenerse la incertidumbre aportada por la curva de calibración, por lo que se empleó otra hoja de cálculo (ver figura 3.4.2.2)

De igual modo se tenía el valor de incertidumbre de la calibración de la balanza reportado en el certificado de calibración.

La repetibilidad de la balanza fue obtenida en el intervalo de peso de muestra para análisis de plomo que es de 0,5000 g. Valor convencional de la masa es de 0,4999 g. La tabla con la prueba de repetibilidad se muestra a continuación:

No. de medición	Peso obtenido (g)	
1	0,4999	
2	0,4998	
3	0,4999	
4	0,4997	
5	0,4999	
6	0,4998	
7	0,5000	
8	0,4999	
9	0,5000	$\bar{x} = 0,49988 \text{ g}$
10	0,4999	$\sigma = 0,00009 \text{ g}$

También, como el proceso involucraba un paso de dilución, debió considerarse la incertidumbre por la repetibilidad de la micropipeta empleada. Adicionalmente la verificación del matraz volumétrico a donde se llevó el volumen final de las disolución acuosa de la muestra.

Repetibilidad de la micropipeta: 0,00059 mL.

Repetibilidad del matraz volumétrico de 100 mL (a partir de la verificación interna): 0,0024 mL

Para el material volumétrico se hizo además la consideración del efecto por la temperatura (expansión del vidrio) tomando como referencia el valor de 20°C. En el caso de las pruebas de repetibilidad, al momento de realizarlas había una diferencia de 4°C con respecto a la temperatura de referencia.

En el caso del material de referencia, al no contar con MRC se consideró la pureza del estándar que se empleó para la preparación de las curvas de calibración.

Paso 4. Los datos se registraron en el formato en hoja de cálculo (ver figura 3.4.2.3) y se cuantificaron las incertidumbres individuales de cada componente, luego se transformaron a incertidumbre estándar utilizando para ello, el tipo de distribución estadística que les correspondía.

Paso 5. Cálculo de la incertidumbre estándar combinada. Todos los datos de varianza se sumaron y al resultado de esta sumatoria se le sacó la raíz cuadrada para obtener la incertidumbre estándar combinada.

Paso 6. Incertidumbre expandida. Se estableció como factor de cobertura $k=2$, y entonces la incertidumbre estándar combinada se multiplicó por este factor.

RESULTADOS

FORMATO INC-LA-02						
FORMATO PARA EL CALCULO DE INCERTIDUMBRE (EURACHEM)						
CURVA DE CALIBRACION AA/ICP o UV-VIS						
Analito	PLOMO			Matriz	HNO3 AL 2%	
Clave de Procedimiento (Indique No. de revisión): MET-ALI-06 REVISIÓN 1				Referencia primaria: NOM-117-SSA1-1994		
Unidades utilizadas		mg/L		Equipo empleado:	ICP	
DESEMPEÑO INICIAL DEL METODO: EVALUACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN						
Concentración	Curva 1 INTENSIDAD	Curva 2 INTENSIDAD	Curva 3 INTENSIDAD	x	σ	% C.V.
BLANCO	0.0	0.0	0.0	0.0000	0.000	
0.02	207.4	201.3	250.6	219.767	26.876	12.23
0.06	693.3	838.3	857.3	796.300	89.705	11.27
0.12	1544.4	1657.1	1654.5	1618.667	64.330	3.97
0.18	2396.1	2279.4	2449.8	2375.100	87.119	3.67
0.27	3806.1	3591.5	3551.5	3583.033	28.268	0.79
b	-94.293	-8.930	42.915	-20.103	69.263	
m	13721.173	13249.617	13152.500	13374.430	304.189	2.274
r	0.9998	0.9969	0.9968	0.999	0.001	0.149
Regresión lineal				Limites estimados		
Ordenada al origen promedio,	b	-20.103		LDM (IC _H)	0.017	mg/L
Valor promedio de la pendiente,	m	13374.430		LCM (IC _H)	0.052	mg/L
Desv. Std. de la ordenada al origen,	σ	69.2627108		IC _H = INTERNATIONAL COMITEE OF HARMONIZATION		
Promedio del coeficiente de relación,	r	0.9986				
Promedio de coeficiente de variación % CV		6.3652				
DATOS						
CALCULO DE INCERTIDUMBRE						
p=	3					
n (no. de med para calibrar)	15					
n-2	3					
Cprom estandares	0.130					
Sy/x (desv est residual)	27.774					
Sxx	0.039					
VALOR OBTENIDO ANALITO	0.12 mg/L					
Incetidumbre comb. uCo=	0.0013 mg/L					
CÁLCULOS						
xi	xi-Xprom	(xi-Xprom)2	yi	Yi	(yi-Yi)	(yi-Yi)2
0.020	-0.110	0.0121	219.7667	247.386003	-27.6193	762.82776168
0.060	-0.070	0.0049	796.3000	782.363214	13.9368	194.23999606
0.120	-0.010	0.0001	1618.6667	1694.629031	33.8376	1144.98561375
0.180	0.050	0.0025	2375.1000	2387.294847	-12.1948	148.71429186
0.270	0.140	0.0196	3583.0333	3590.983571	-7.9602	63.36539053
SUMATORIA	0.000	0.0392	8692.67		0.000	2314.1270539
promedio xi	0.130					
Co-Cpromest	-0.010					
(Co-Cpromest)2	0.00010					
(Co-Cpromest)2/Sxx	0.00255					
1/p	0.33333					
1/n	0.06667					
suma	0.40255					
raizcuadrada de B78	0.63447					
Sy/x	27.774					
m	13374.4					
División Sy/x / m	0.00208					
Incetidumbre Co	0.0013					
Nombre y Firma				Nombre y Firma	Nombre y Firma	
Q. analista				Aseg. de Calidad	Gerencia de Laboratorio	
HOJA 1/1						

Fig. 3.4.2.2 Hoja de cálculo para la estimación de la incertidumbre de la curva de calibración

RESULTADOS

Formato INC LA-01

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS
CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN

Análito: Plomo por ICP
Fecha: Jul-04
Analista: Vanessa Alonso

Unidades (magnitud del mesurando): %

mg Pb/kg muestra= C*d*factor/m

Símbolo	Fuente de Incertidumbre	Valor	Unidades	valor en magnitud del mesurando (%)	Distribución	Divisor	Incertidumbre estándar	Grados de libertad	u2
Desempeño método									
uprecisión	PDI	4.25	%	1.34	normal	1	1.34	9	1.80625
uexactitud	PDI	3.6	%	1.14	normal	1	1.138	9	1.29600
uccurve cal.	PDI	0.0013	mg/L	0.0013	normal	1	0.0013	14	0.00000
Balanza									
uc	calibración	0.0001	g	0.02	normal	1	0.020	9	0.00040
ur	repetibilidad	0.00009	g	0.0057	normal	1	0.0057	9	0.00003
Mat. vol.									
umatraz 100	fabricante	0.08000	mL	0.0800	triangular	2.45	0.0327	desconocido	0.00107
urematraz	verificación	0.00240	mL	0.0024	normal	1	0.0024	9	0.00001
uexpansión	verificación	0.10700	mL	0.1070	rectangular	1.73	0.0618	9	0.00383
umicropipeta	fabricante	0.01000	mL	0.0100	triangular	2.45	0.0041	desconocido	0.00002
uremicropip	verificación	0.00059	mL	0.0006	normal	1	0.0006	9	0.00000
uexpansión	verificación	0.02100	mL	0.0210	rectangular	1.73	0.0121	9	0.00015
MR									
upureza	certificado de an.	0.001	%	0.001	rectangular	1.73	0.0006	desconocido	0.00000
ustd	certificado de an.	0.003	mg/L	0.0003	rectangular	1.73	0.0002	desconocido	0.00000
								sumatoria	3.10775

Incertidumbre combinada	1.76
Incertidumbre expandida	3.53
Factor de cobertura K	2

Fuente	Aportación
Precisión	58.1
Exactitud	41.7
cal balanza	0.013
matraz	0.034
exp matraz	0.123



Reporte de la incertidumbre: el valor está obtenido en mg/kg esto es, que para un valor x de plomo, el valor de la incertidumbre es 0,0353x y se reporta como mg/kg de plomo = x ± 0,0353x con factor de cobertura K=2 (95% de confiabilidad)

Revisó:

Aprobó:

Jefe del departamento

Aseguramiento de Calidad

Fig. 3.4.2.3 Formato de registro de resultados del cálculo de la incertidumbre para plomo por ICP.

CAPÍTULO 4. MEJORA CONTINUA: RESULTADOS DE LA IMPLANTACIÓN DEL CONTROL DE PROCESO.

4.1 GRÁFICAS DE CONTROL

Una vez que los métodos empleados en el laboratorio fueron validados, y la evaluación de los mismos y de los analistas que los ejecutaron había sido concluida y registrada, el paso siguiente fue elaborar las gráficas de control, las cuales sirvieron a partir de su implantación para monitorear permanentemente los procesos analíticos.

Las gráficas empleadas en el laboratorio de Análisis de Alimentos son las de precisión y las de exactitud y fueron construidas con los datos obtenidos en las pruebas de desempeño.

A través de los ejemplos de su uso para el análisis de proteína y de grasa, podrá observarse cómo la variabilidad disminuye con el tiempo. Además, el valor de la variabilidad debe ser utilizado para que el laboratorio vaya ajustando el valor de incertidumbre del método, solo basta registrarlo en la hoja de cálculo en el lugar donde inicialmente se registraron los valores de precisión y exactitud de las pruebas de desempeño.

Como primer paso, una vez que ya se tienen los valores de los límites de control en la hoja de cálculo para resultados de las pruebas R y R (mostradas en el capítulo 3), se construyeron las bases de datos en hojas de cálculo para cada uno de los métodos, con las cuales se realizaron las gráficas de control. El uso de hojas de cálculo como Excel es muy útil, pero también existen programas comerciales muy útiles para elaborar gráficas de control como el Quality Analyst®.

En las tablas siguientes se muestran las hojas de cálculo con las bases de datos para proteína y grasa elaboradas en Excel. En ellas se llevó el registro de cada lote analizado a partir de la realización de las pruebas de desempeño y en las que están incluidos los valores de los duplicados y de la muestra de control de calidad (MCC). Con el primero se obtiene el %DPR (precisión del método) y con la MCC el valor de % de recuperación (exactitud del método). También se muestran las gráficas de control de cada uno de los métodos.

CARTAS DE CONTROL ESTADÍSTICO DEL PROCESO ANALÍTICO
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

LÍMITES DE CONTROL DESEMPEÑO INICIAL DEL MÉTODO

PRECISIÓN DEL MÉTODO				EXACTITUD DEL MÉTODO					
DPR prom	0.444	LSC	1.46	%R prom	96.0	LSC	96.2	LIC	95.8
DPR σ	0.076	LSA	1.12	% R σ	0.426	LSA	96.1	LIA	96.9

FECHA	No. de Lote	PRECISIÓN			EXACTITUD		
		Muestra original	Duplicado	% DPR	Muestra control	valor cert. MCC	% Recuperación
23-Abr-02	1	11.20	11.35	1.33	18.3	19.07	96.0
24-Abr-02	2	13.00	13.10	0.77	18.3	19.07	96.0
25-Abr-02	3	17.80	17.80	0.00	18.4	19.07	96.5
26-Abr-02	4	30.90	30.85	0.16	18.0	19.07	94.4
27-Abr-02	5	32.80	32.90	0.30	18.5	19.07	97.0
30-Abr-02	6	64.40	65.00	0.93	18.4	19.07	96.5
02-May-02	7	19.70	19.80	0.51	18.4	19.07	96.5
03-May-02	8	14.80	14.80	0.00	18.6	19.07	97.5
04-May-02	9	6.81	6.88	1.02	18.8	19.07	98.6
05-May-02	10	14.90	14.90	0.00	18.5	19.07	97.0
06-May-02	11	10.10	10.22	1.18	18.4	19.07	96.5
09-May-02	12	8.75	8.66	1.03	18.0	19.07	94.4
10-May-02	13	52.10	51.90	0.38	18.2	19.07	95.4
11-May-02	14	2.44	2.41	1.24	18.2	19.07	95.4
12-May-02	15	7.88	7.81	0.89	18.3	19.07	96.0
15-May-02	16	10.22	10.36	1.36	18.7	19.07	96.1
16-May-02	17	0.25	0.25	0.00	18.7	19.07	98.1
17-May-02	18	0.12	0.12	0.00	18.7	19.07	98.1
18-May-02	19	0.12	0.12	0.00	19.0	19.07	99.6
19-May-02	20	64.40	63.80	0.94	18.6	19.07	97.5

Tabla 4.1.1 Primeros 20 lotes analizados de proteína

Con estos datos se elaboran la gráficas de precisión y exactitud del método.

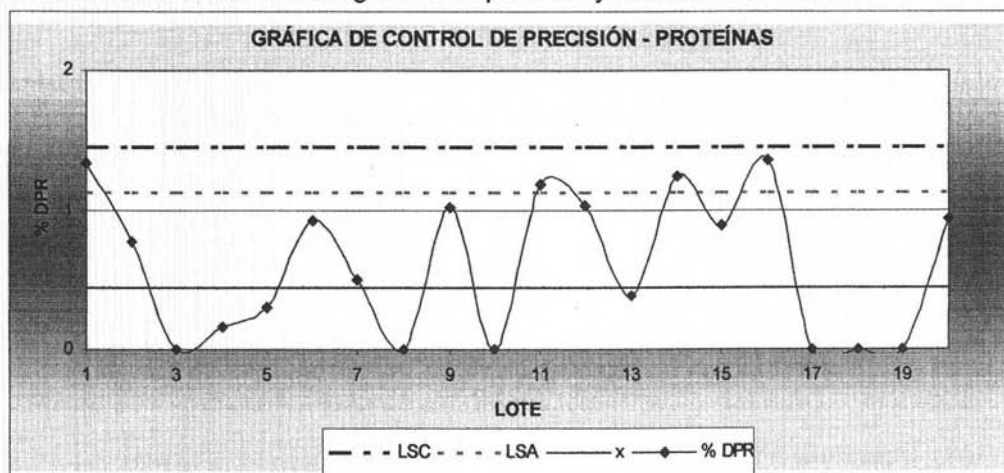


Fig. 4.1.1 Gráfica de control de precisión para lotes 1 al 20 del análisis de proteína, construida a partir de los límites obtenidos en el desempeño inicial (pruebas de R y R)

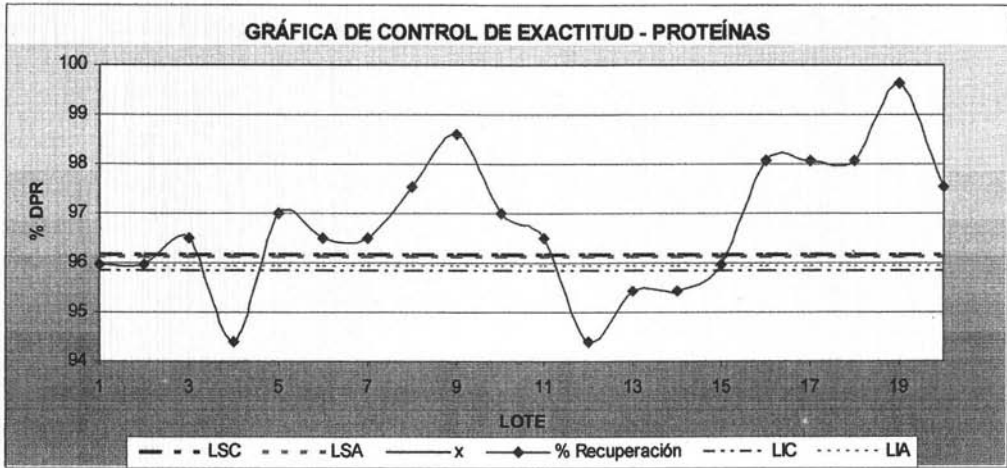


Fig. 4.1.2 Gráfica de control de exactitud para lotes 1 al 20 del análisis de proteína, construida a partir de los límites obtenidos en el desempeño inicial (pruebas de R y R)

Como puede observarse, en un principio los resultados obtenidos no cumplieron con los límites obtenidos en la prueba de desempeño. Existen varias causas, pero principalmente esto se debió a que estas pruebas se realizaron en condiciones prácticamente ideales por lo que los valores de variabilidad son bajos, no siendo así durante el trabajo de rutina.

Además, los valores obtenidos para los límites de control fueron un promedio de los resultados de dos analistas (como es el caso de pruebas de R y R) y durante la rutina de trabajo diario es un solo analista el que hace los análisis, por lo que la variabilidad puede ser mayor.

En los 20 lotes siguientes, se realizó el ajuste de límites a partir de los resultados obtenidos de los primeros 20 lotes analizados considerando la variabilidad obtenida de esos lotes, esto es lo que se llama el desempeño continuo.

CARTAS DE CONTROL ESTADÍSTICO DEL PROCESO ANALÍTICO
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

AJUSTE DE LÍMITES DE CONTROL SIGUIENTES 20 LOTES

PRECISIÓN DEL MÉTODO				EXACTITUD DEL MÉTODO					
DPR prom	0.692	LSC	1.97	%R prom	96.7	LSC	100.6	LIC	92.7
DPR σ	0.516	LSA	1.51	%R σ	1.356	LSA	99.5	LJA	94.0

FECHA	No. de Lote	PRECISIÓN			EXACTITUD		
		Muestra original	Duplicado	% DPR	Muestra control	valor cert. MCC	% Recuperación
22-May-02	21	65.00	65.00	0.00	18.8	19.07	98.6
23-May-02	22	13.20	13.20	0.00	19.1	19.07	100.2
24-May-02	23	6.50	6.50	0.00	18.9	19.07	99.1
25-May-02	24	10.90	10.90	0.00	18.9	19.07	99.1
26-May-02	25	7.25	7.22	0.41	19.2	19.07	100.7
29-May-02	26	10.50	10.60	0.95	18.5	19.07	97.0
30-May-02	27	4.48	4.50	0.45	18.9	19.07	99.1
31-May-02	28	1.66	1.66	0.00	18.6	19.07	97.5
01-Jun-02	29	7.08	7.14	0.84	18.6	19.07	97.5
02-Jun-02	30	5.60	5.64	0.71	18.7	19.07	98.1
05-Jun-02	31	6.48	6.66	1.23	18.7	19.07	98.1
06-Jun-02	32	7.54	7.62	1.06	18.8	19.07	98.6
07-Jun-02	33	16.95	17.10	0.88	18.8	19.07	98.6
08-Jun-02	34	0.50	0.50	0.00	19.2	19.07	100.7
09-Jun-02	35	5.18	5.19	0.19	18.7	19.07	98.1
12-Jun-02	36	3.04	3.01	0.99	18.7	19.07	98.1
13-Jun-02	37	12.20	12.20	0.00	18.9	19.07	99.1
14-Jun-02	38	18.10	18.20	0.55	18.5	19.07	97.0
15-Jun-02	39	12.90	12.80	0.78	18.6	19.07	97.5
16-Jun-02	40	10.30	10.40	0.97	19.3	19.07	101.2

Tabla 4.1.2 Lotes 21 a 40 del análisis de proteína con ajuste de límites de control.

Las gráficas de control con el primer ajuste de límites quedarían de la siguiente manera:

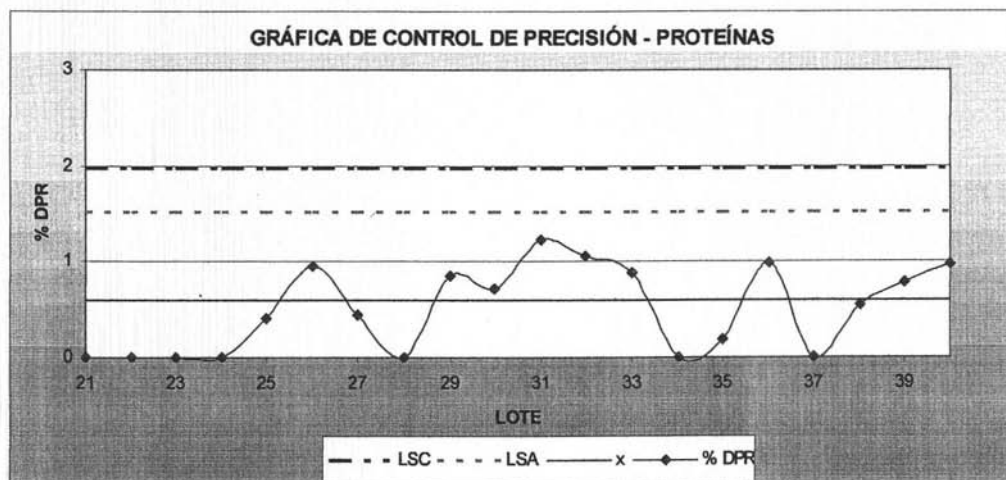


Figura 4.1.3 Gráfica de control de precisión para lotes 21-40 de proteína con ajuste de límites

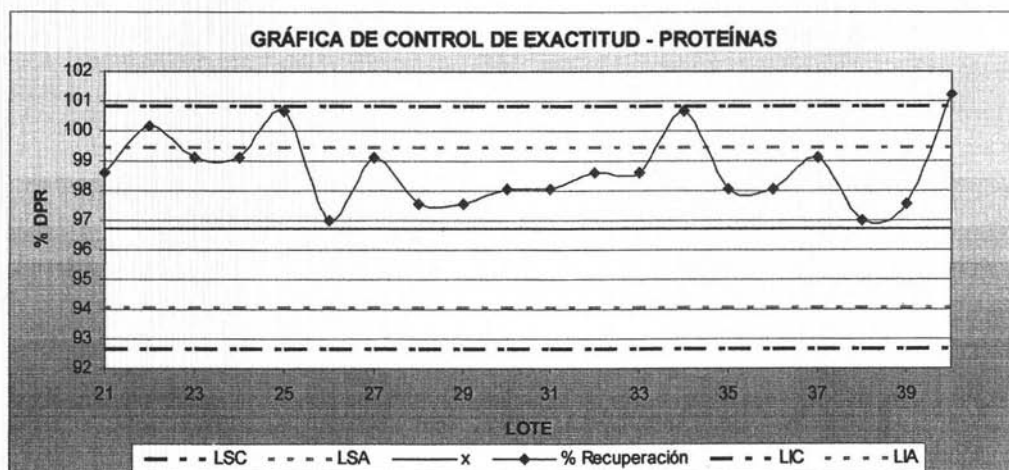


Figura 4.1.4 Gráfica de control de exactitud para lotes 21-40 de proteína con ajuste de límites

Aquí se presentó otro fenómeno que es normal en un laboratorio, la precisión y exactitud decayeron con respecto a la pruebas de desempeño. Esta situación es predecible debido a que el analista trabaja de manera rutinaria y tiene una variabilidad propia, la cual disminuirá con el tiempo.

Con el paso del tiempo se observa cómo la variabilidad del analista disminuyó, es decir, mejoró en precisión y exactitud debido a la habilidad adquirida. Por ello el desempeño continuo del método está enfocado a la mejora continua del laboratorio.

Esto se observó en el tercer grupo de 20 lotes, donde nuevamente fueron ajustados los límites de control a partir del segundo grupo de 20 resultados, es decir, de los lotes 21 a 40.

CARTAS DE CONTROL ESTADÍSTICO DEL PROCESO ANALÍTICO
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

AJUSTE DE LÍMITES DE CONTROL SIGUIENTES 20 LOTES

PRECISIÓN DEL MÉTODO				EXACTITUD DEL MÉTODO					
DPR prom	0.500	LSC	1.64	%R prom	98.7	LSC	102.4	LC	96.0
DPR σ	0.444	LSA	1.26	%R σ	1.222	LSA	101.1	LJA	96.2

FECHA	No. de Lote	PRECISIÓN			EXACTITUD		
		Muestra original	Duplicado	% DPR	Muestra control	valor cart. MCC	% Recuperación
19-Jun-02	41	12.00	12.10	0.83	18.4	19.07	96.5
20-Jun-02	42	10.20	10.30	0.98	18.4	19.07	96.5
21-Jun-02	43	8.06	8.00	0.75	18.8	19.07	96.6
22-Jun-02	44	32.20	31.80	1.25	18.6	19.07	97.5
23-Jun-02	45	11.74	11.60	1.20	19.3	19.07	101.2
26-Jun-02	46	9.25	9.38	1.40	19.1	19.07	100.2
27-Jun-02	47	32.60	32.50	0.31	19	19.07	99.6
28-Jun-02	48	10.70	10.70	0.00	19	19.07	99.6
29-Jun-02	49	2.82	2.86	1.41	19.3	19.07	101.2
30-Jun-02	50	14.70	14.80	0.88	19.1	19.07	100.2
03-Jul-02	51	8.28	8.17	1.34	18.9	19.07	99.1
04-Jul-02	52	8.27	8.21	0.73	18.4	19.07	96.5
05-Jul-02	53	21.40	21.40	0.00	18.8	19.07	96.6
06-Jul-02	54	18.00	17.90	0.56	18.8	19.07	96.6
07-Jul-02	55	12.35	12.20	1.22	18.9	19.07	99.1
10-Jul-02	56	50.10	49.45	1.31	19.3	19.07	101.2
11-Jul-02	57	21.90	22.10	0.91	19.3	19.07	101.2
12-Jul-02	58	20.65	20.50	0.73	19.4	19.07	101.7
13-Jul-02	59	14.90	14.80	0.67	19.5	19.07	102.3
14-Jul-02	60	32.20	32.30	0.31	19.3	19.07	101.2

Tabla 4.1.3 Lotes 41 a 60 del análisis de proteína con ajuste de límites de control.

Las gráficas obtenidas de estos lotes son:

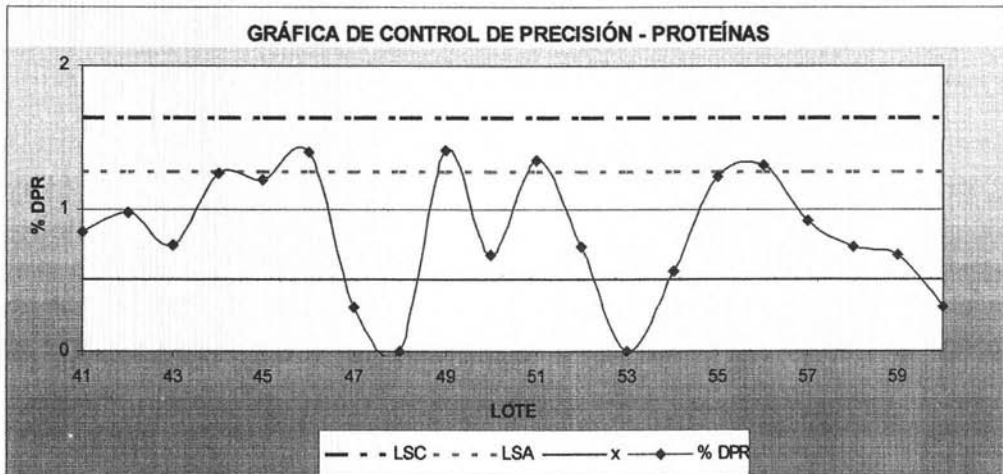


Figura 4.1.5 Gráfica de control de precisión para lotes 41-60 de proteína con ajuste de límites

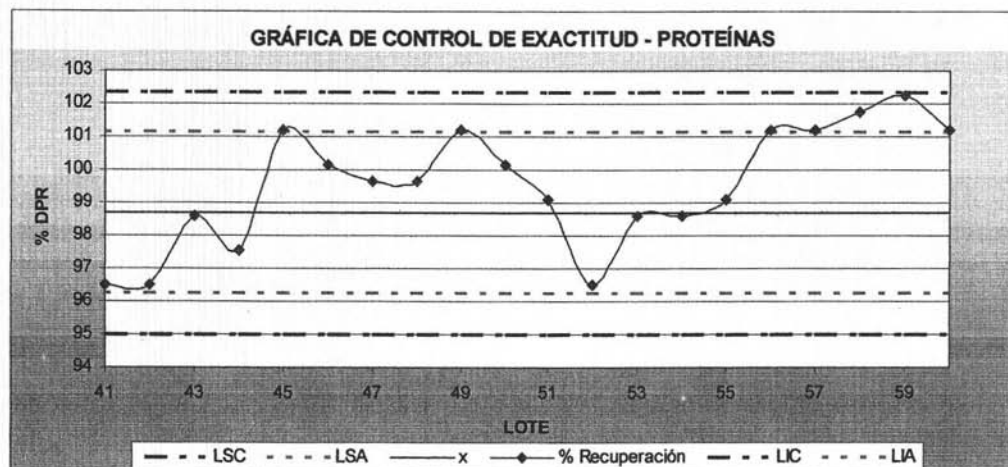


Figura 4.1.6 Gráfica de control de exactitud para lotes 41-60 de proteína con ajuste de límites

Aquí ya puede observarse como mejoraron la precisión y exactitud, además de que el proceso analítico está bajo control estadístico, es decir, con resultados que se encuentran por arriba y por debajo de la línea de la media establecida en las gráficas, sin tendencias que señalen algún error.

Para el caso de la determinación de grasa el fenómeno se presentó casi de la misma manera que en la determinación de proteína, sin embargo, la variación de resultados dependió de otros factores propios del método. Al igual que en los lotes de proteína, en un principio los resultados de %DPR y %Recuperación no cumplieron con los límites establecidos a partir de las pruebas de desempeño como se observa en las gráficas de control de los lotes 1 a 20.

En el análisis de grasa los factores que intervienen de manera más significativa son: el proceso de extracción de la grasa, el cual es manual para este método (Weinbull-Berntrop) y es la habilidad del analista la que influye para una extracción completa. Otro factor importante es que el método es gravimétrico por lo que los resultados dependen de la repetibilidad de la balanza en el análisis rutinario.

Además, como los límites de control se establecieron a partir de los resultados obtenidos de las pruebas R y R, y se calcularon con el promedio de los valores reportados por dos analistas, mientras que el trabajo del día a día se hizo por un solo analista, lo que puede influir en que la variabilidad sea mayor.

CARTAS DE CONTROL ESTADÍSTICO DEL PROCESO ANALÍTICO
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

LÍMITES DE CONTROL DESEMPEÑO INICIAL DEL MÉTODO

PRECISIÓN DEL MÉTODO				EXACTITUD DEL MÉTODO					
DPR prom	2.28	LSC	7.44	%R prom	97.4	LSC	98.1	LIC	96.7
DPR σ	0.638	LSA	6.71	%R σ	0.622	LSA	97.8	LIA	96.9

FECHA	No. de Lote	PRECISIÓN			EXACTITUD		
		Muestra original	Duplicado	% DPR	Muestra control	valor cert. MCC	% Recuperación
15-Ago-02	1	60.4	56.9	5.97	21.84	24.32	89.8
16-Ago-02	2	32.2	30.1	6.74	22.45	24.32	92.3
17-Ago-02	3	4.10	4.35	5.92	21.21	24.32	87.2
18-Ago-02	4	2.67	2.67	0.00	23.10	24.32	95.0
19-Ago-02	5	4.18	4.16	0.48	22.10	24.32	90.9
22-Ago-02	6	95.1	95.1	0.00	21.71	24.32	89.3
23-Ago-02	7	1.41	1.41	0.00	22.00	24.32	90.5
24-Ago-02	8	19.4	19.5	0.51	22.00	24.32	90.5
25-Ago-02	9	1.52	1.46	4.03	24.70	24.32	101.6
26-Ago-02	10	11.1	11.2	0.90	21.40	24.32	88.0
29-Ago-02	11	3.60	3.83	6.19	24.80	24.32	102.0
30-Ago-02	12	38.6	38.6	0.00	23.10	24.32	95.0
31-Ago-02	13	13.9	14.0	0.72	23.00	24.32	94.6
01-Sep-02	14	1.76	1.77	0.57	22.90	24.32	94.2
02-Sep-02	15	100.2	100.7	0.53	21.71	24.32	89.3
05-Sep-02	16	28.8	28.8	0.00	22.70	24.32	93.3
06-Sep-02	17	1.10	1.10	0.00	23.10	24.32	95.0
07-Sep-02	18	99.9	99.9	0.00	24.15	24.32	99.3
08-Sep-02	19	17.2	17.1	0.58	24.00	24.32	98.7
09-Sep-02	20	54.3	54.9	1.10	23.95	24.32	98.5

Tabla 4.1.4 Primeros 20 lotes del análisis de grasa.

Las gráficas de control fueron las siguientes:

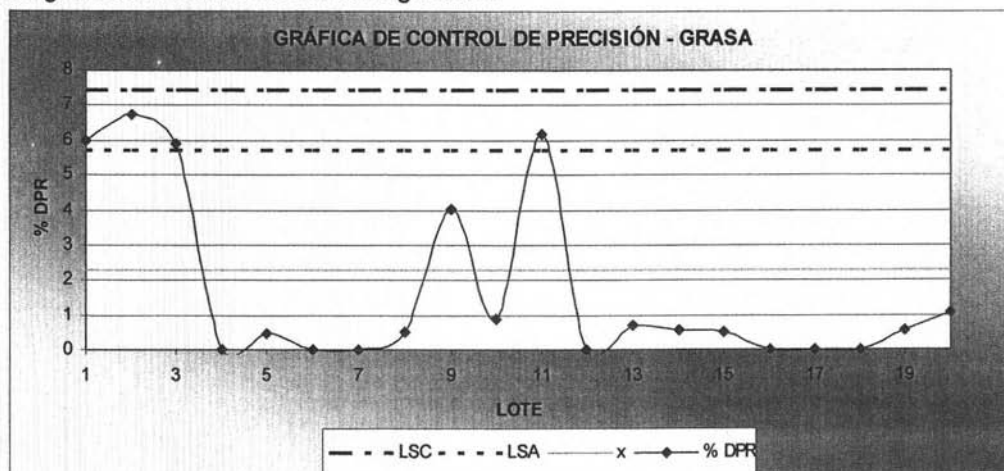


Figura 4.1.7 Gráfica de control de precisión para los primeros 20 lotes de grasa.

La precisión se cumplió ya que los límites obtenidos de las pruebas R y R fueron altos.

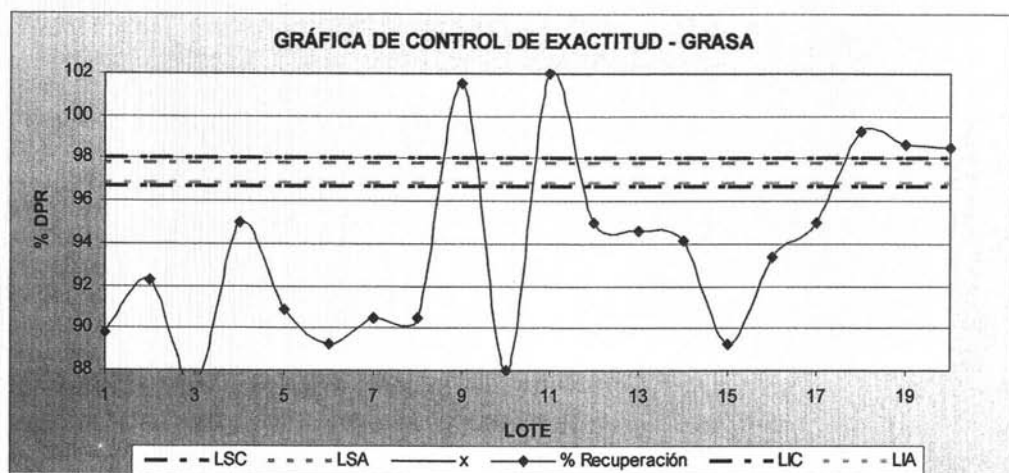


Figura 4.1.8 Gráfica de control de exactitud para los primeros 20 lotes de grasa.

La exactitud obtenida en el análisis de rutina es menor que la de las pruebas R y R. Para los siguientes 20 lotes se hizo un ajuste de límites con los valores del promedio u desviación estándar de los lotes 1 a 20.

CARTAS DE CONTROL ESTADÍSTICO DEL PROCESO ANALÍTICO
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

AJUSTE DE LÍMITES DE CONTROL SIGUIENTES 20 LOTES

PRECISIÓN DEL MÉTODO				EXACTITUD DEL MÉTODO					
DPR prom	1.711	LSC	5.60	%R prom	93.7	LSC	107.1	LIC	80.4
DPR σ	2.471	LSA	4.30	% R σ	4.445	LSA	102.6	LIA	84.8

FECHA	No. de Lote	PRECISIÓN			EXACTITUD		
		Muestra original	Duplicado	% DPR	Muestra control	valor cart. MCC	% Recuperación
12-Sep-02	21	65.00	65.00	0.00	24.12	24.32	99.2
13-Sep-02	22	13.20	13.20	0.00	24.45	24.32	100.5
14-Sep-02	23	6.50	6.50	0.00	24.62	24.32	101.2
15-Sep-02	24	10.90	10.90	0.00	24.05	24.32	98.9
16-Sep-02	25	7.25	7.22	0.41	23.96	24.32	98.6
19-Sep-02	26	10.50	10.60	0.95	24.48	24.32	100.7
20-Sep-02	27	4.48	4.50	0.45	24.89	24.32	102.3
21-Sep-02	28	1.66	1.66	0.00	25.00	24.32	102.8
22-Sep-02	29	7.08	7.14	0.84	24.30	24.32	99.9
23-Sep-02	30	5.60	5.64	0.71	23.85	24.32	98.1
26-Sep-02	31	6.48	6.56	1.23	23.89	24.32	98.2
27-Sep-02	32	7.54	7.62	1.06	23.92	24.32	98.4
28-Sep-02	33	16.95	17.10	0.88	24.15	24.32	99.3
29-Sep-02	34	0.50	0.50	0.00	24.38	24.32	100.2
30-Sep-02	35	5.18	5.19	0.19	24.49	24.32	100.7
03-Oct-02	36	3.04	3.01	0.99	24.12	24.32	99.2
04-Oct-02	37	12.20	12.20	0.00	24.15	24.32	99.3
05-Oct-02	38	18.10	18.20	0.55	23.78	24.32	97.8
06-Oct-02	39	12.90	12.80	0.78	23.91	24.32	98.3
07-Oct-02	40	10.30	10.40	0.97	24.00	24.32	98.7

Tabla 4.1.5 Lotes 21-40 del análisis de grasa con ajuste de límites.

Las gráficas de control fueron:

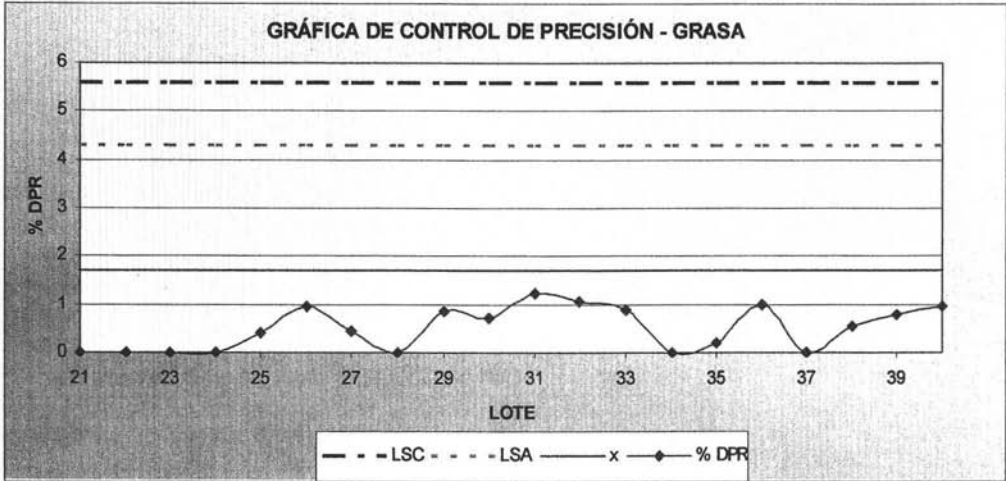


Figura 4.1.9 Gráfica de control de precisión para los lotes 21-40 de grasa.

La precisión fue aún mayor, es decir, con valores de %DPR menores.

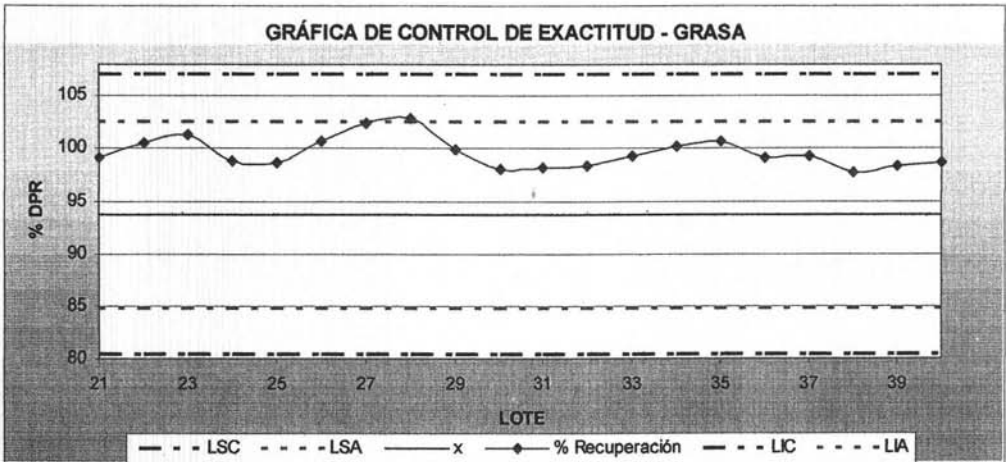


Figura 4.1.10 Gráfica de control de exactitud para los lotes 21-40 de grasa.

La exactitud muestra un comportamiento aleatorio en el que se aprecia que el proceso empieza a entrar en control estadístico. Sin embargo, el intervalo de los límites fue muy amplio todavía. Se hizo un nuevo ajuste para los lotes 21 a 40.

CARTAS DE CONTROL ESTADÍSTICO DEL PROCESO ANALÍTICO
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS

AJUSTE DE LÍMITES DE CONTROL SIGUIENTES 20 LOTES

PRECISIÓN DEL MÉTODO				EXACTITUD DEL MÉTODO					
DPR prom	0.600	LSC	1.64	%R prom	99.6	LSC	103.8	LIC	95.4
DPR σ	0.444	LSA	1.26	% R σ	1,409	LSA	102.4	LJA	96.8

FECHA	No. de Lote	PRECISIÓN			EXACTITUD		
		Muestra original	Duplicado	% DPR	Muestra control	valor cert. MCC	% Recuperación
10-Oct-02	41	12.00	12.10	0.83	24.10	24.32	99.1
11-Oct-02	42	10.20	10.30	0.88	24.25	24.32	99.7
12-Oct-02	43	8.06	8.00	0.75	24.65	24.32	101.4
13-Oct-02	44	32.20	31.80	1.25	24.85	24.32	102.2
14-Oct-02	45	11.74	11.60	1.20	24.96	24.32	102.6
17-Oct-02	46	9.25	9.38	1.40	24.23	24.32	99.6
18-Oct-02	47	32.60	32.50	0.31	24.00	24.32	98.7
19-Oct-02	48	10.70	10.70	0.00	23.85	24.32	98.1
20-Oct-02	49	2.82	2.86	1.41	24.45	24.32	100.5
21-Oct-02	50	14.70	14.80	0.68	24.31	24.32	100.0
24-Oct-02	51	8.28	8.17	1.34	24.28	24.32	99.8
25-Oct-02	52	8.27	8.21	0.73	24.18	24.32	99.4
26-Oct-02	53	21.40	21.40	0.00	24.49	24.32	100.7
27-Oct-02	54	18.00	17.90	0.56	24.59	24.32	101.1
28-Oct-02	55	12.35	12.20	1.22	24.36	24.32	100.2
31-Oct-02	56	50.10	49.45	1.31	24.12	24.32	99.2
01-Nov-02	57	21.90	22.10	0.91	24.40	24.32	100.3
02-Nov-02	58	20.65	20.50	0.73	24.02	24.32	98.6
03-Nov-02	59	14.90	14.80	0.67	24.11	24.32	99.1
04-Nov-02	60	32.20	32.30	0.31	24.16	24.32	99.3

Tabla 4.1.6 Lotes 41-60 del análisis de grasa con ajuste de límites.

Las gráficas de control fueron:

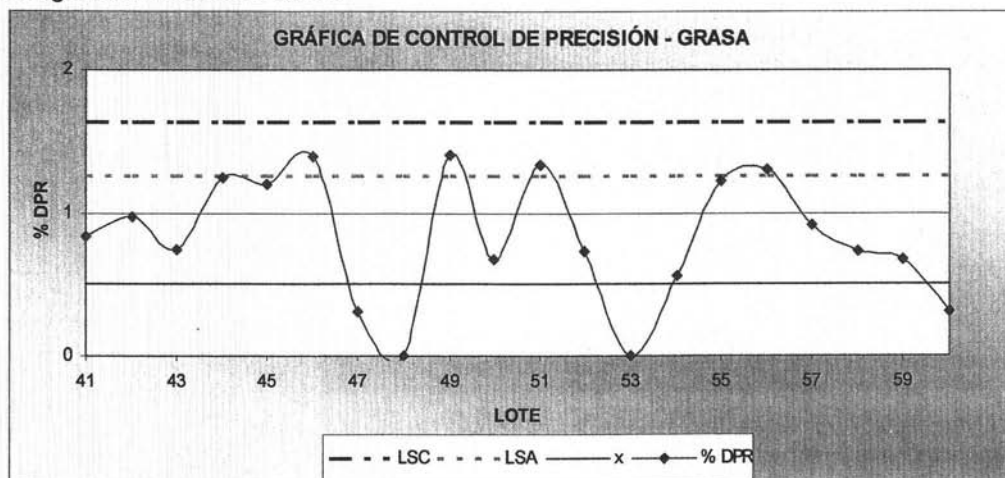


Figura 4.1.11 Gráfica de control de precisión para los lotes 41-60 de grasa.

En la gráfica de control de la precisión se observó un comportamiento aleatorio indicando control estadístico de proceso; además, los límites fueron menores que en los lotes anteriores y no hubo ningún valor fuera de éstos.

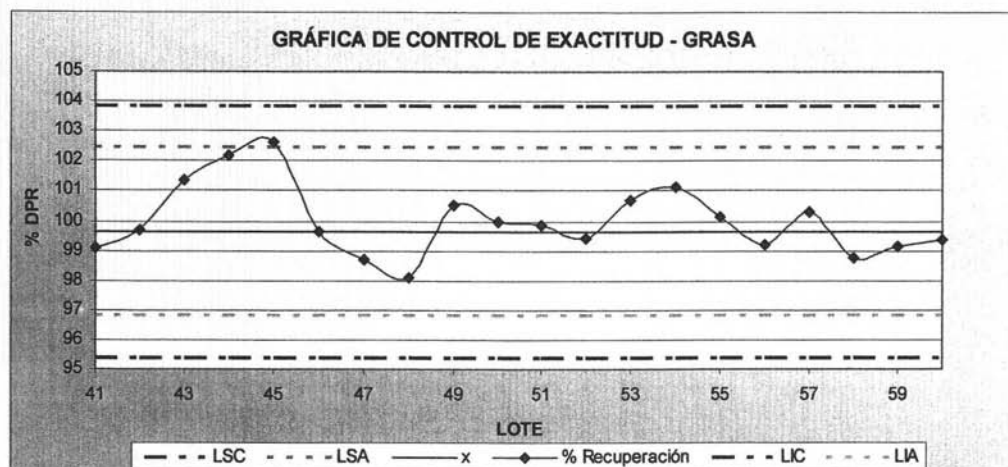


Figura 4.1.12 Gráfica de control de exactitud para los lotes 41-60 de grasa.

Para la gráfica de control de exactitud, el control estadístico se mantiene, pero de una manera más clara, hubo más puntos por ambos lados de la media. Además, el intervalo de los límites fue menor y todos los lotes analizados cumplieron con ellos.

Puede observarse en las gráficas de control que tanto para el análisis de proteína como para el de grasa, el proceso analítico se estableció bajo control estadístico, midiendo su variabilidad con el desempeño continuo de ambos métodos. Además, y de manera más importante, fue que el proceso analítico estuvo en mejora continua.

4.2 PRUEBAS DE APTITUD.

La participación en pruebas de aptitud juega un papel importante en la acreditación de laboratorios por la EMA, sin embargo, en México no existe un esquema de pruebas de aptitud que incluya el marco analítico completo de los laboratorios de prueba. Las pruebas R y R sirven como referencia de las pruebas de aptitud.

El laboratorio de Análisis de Alimentos estudiado participa de manera periódica, dos veces al año, en un esquema de pruebas de aptitud de un organismo nórdico de Administración de Alimentos, con sede en Suecia.

En las primeras participaciones, el laboratorio había obtenido resultados no satisfactorios para algunas pruebas. Con el paso del tiempo, mientras cada vez se hacía más sólida la

implantación del control estadístico de proceso, los resultados fueron haciéndose cada vez más satisfactorios.

El programa establecido por el organismo nórdico Livsmedel Verket de la Nacional Food Administration de Suecia es denominado como Proficiency Testing Programme, Chemistry Series, Nutritional Components in Food. Trace elements in Food.

En este programa participan laboratorios de varias partes del mundo. Las pruebas consisten en analizar 2 muestras cada 6 meses.

Las muestras enviadas se identifican con una clave con la letra K seguida de un número consecutivo. Las claves que terminan en número par son muestras de mezclas de harinas de cereales con leche en polvo, fortificadas con vitaminas y minerales; mientras que las muestras que contienen número impar en la clave son muestras a base de carne, mezcladas con vegetales y fortificadas con vitaminas y minerales (SNFA, 2002).

Deben analizarse en por lo menos 2 parámetros o analitos de los siguientes: nitrógeno, grasa, humedad, cenizas, sodio, potasio, calcio, hierro y fósforo.

El laboratorio de alimentos ha participado en este programa desde el 2001. Algunos resultados obtenidos muestran lo mencionado en las tablas siguientes:

RESULTADOS OBTENIDOS EN PRUEBAS DE APTITUD TÉCNICA PARA ANÁLISIS DE ALIMENTOS								
PROFICIENCY TESTING PROGRAM- LIVSMEDELS VERKET NATIONAL FOOD ADMINISTRATION - SWEDEN								
FECHA	ANALITO	CLAVE MUESTRA	VALOR REPORTADO	VALOR OFICIAL	SESGO O ERROR	VALOR DE Z OBTENIDO	RESULTADO	
septiembre-01	HUMEDAD	K74	2.30	3.35	-1.05	-2.20	cuestionable	
		K75	58.9	60.4	-1.50	>3	insatisfactorio	
	PROTEÍNA	K74	11,4 (1,82)*	1.93	9,47 (-0,11)*	>3	insatisfactorio	
		K75	12,0 (1,92)*	1.84	10,2 (0,08)*	>3	insatisfactorio	
	GRASA	K74	NR	20.2	#VALORI	No determinado	insatisfactorio	
		K75	12.0	15.3	-3.30	<3	insatisfactorio	
	CENIZAS	K74	3.60	3.60	0.00	-0.10	satisfactorio	
		K75	3.58	3.57	0.01	0,1	satisfactorio	
	SODIO	K74	NR	1811	#VALORI	No determinado	insatisfactorio	
		K75	NR	8941	#VALORI	No determinado	insatisfactorio	
	POTASIO	K74	NR	6383	#VALORI	No determinado	insatisfactorio	
		K75	NR	4878	#VALORI	No determinado	insatisfactorio	
	HIERRO	K74	NR	93,0	#VALORI	No determinado	insatisfactorio	
		K75	NR	1821	#VALORI	No determinado	insatisfactorio	
	CALCIO	K74	4450	6609	-2159	<3	insatisfactorio	
		K75	NR	926	#VALORI	No determinado	insatisfactorio	
	* El valor reportado fue como proteína multiplicando por un factor de 6,25 el valor de nitrógeno obtenido.							
	El valor entre los paréntesis son los correspondientes a nitrógeno							
	NR No reportado o no analizado							
	CRITERIO DE ACEPTACIÓN							
ABS(Z) <= 2 EL RESULTADO ES SATISFACTORIO								
2 < ABS(Z) < 3 EL RESULTADO ES CUESTIONABLE								
ABS(Z) >= 3 EL RESULTADO ES INSATISFACTORIO								

Tabla 4.2.1 Resultados de la primera participación en pruebas interlaboratorios

En los resultados de esta primera participación destaca la falta de experiencia en el reporte, en el parámetro de nitrógeno se reportó proteína. Esta situación de ninguna manera refleja la aptitud técnica de un laboratorio, sin embargo, es una situación que ocurrió reflejando que siempre existe la posibilidad de tener equivocaciones.

Lo que si refleja deficiencias técnicas, son los resultados obtenidos en los minerales, para los cuales la mayoría ni siquiera fueron reportados por la falta de una implantación correcta de la metodología; también en grasa y humedad los resultados fueron insatisfactorios a pesar de que en estas pruebas si se contaba con las metodologías bien implantadas. Esta situación indica una alta variabilidad de los analistas. Para la determinación de cenizas, por tratarse de una técnica con pocas probabilidades de error por el tipo de variables que deben controlarse, los resultados son satisfactorios.

Para la segunda participación los resultados fueron:

FECHA	ANALITO	CLAVE MUESTRA	VALOR REPORTADO	VALOR OFICIAL	SESGO O ERROR	VALOR DE Z OBTENIDO	RESULTADO	
marzo-02	HUMEDAD	K76	9.32	10.4	-1.08	-2.00	satisfactorio	
		K77	90.0	90.3	-0.30	-1.90	satisfactorio	
	PROTEÍNA	K76	12,2 (1,95)*	1.89	10,3 (0,06)*	>3	insatisfactorio	
		K77	0,650 (0,104)*	0.102	0,548 (0,02)*	>3	insatisfactorio	
	GRASA	K76	4.24	3.23	1.01	1,9	satisfactorio	
		K77	4.12	3.26	0.86	>3	insatisfactorio	
	CENIZAS	K76	2.74	2.71	0.03	0,3	satisfactorio	
		K77	0.421	0.441	-0.02	-0.60	satisfactorio	
	* El valor reportado fue como proteína multiplicando por un factor de 6,25 el valor de nitrógeno obtenido.							
	El valor entre los paréntesis son los correspondientes a nitrógeno							

Tabla 4.2.2 Resultados de la segunda participación en pruebas interlaboratorios

En esta segunda participación el error de reportar proteína en lugar de nitrógeno fue repetido debido a que los resultados se enviaron antes de que los primeros llegaran. Para humedad y grasa los resultados mejoraron, logrando ser satisfactorios para las dos muestras en humedad y uno en grasa. En la fecha de participación de estas pruebas de aptitud no habían sido concluidas las pruebas de desempeño de R y R para estos métodos lo que daría una referencia sobre la variabilidad que tenían los analistas. Para cenizas, a pesar de descender en los lugares obtenidos, los resultados fueron satisfactorios con valores de Z bajos. No se reportaron resultados de los minerales por no estar seguro de su confiabilidad ya que la metodología no estaba bien implantada y mucho menos el desempeño o validación del método.

En esta etapa fueron investigadas las causas raíz de las fallas. Principalmente en grasa logró establecerse que la metodología debía revisarse. Entre las desviaciones posiblemente estaba una hidrólisis incorrecta o mal fundamentada. Entre las acciones correctivas, debía corregirse la metodología y ser validada a través de pruebas R y R utilizando materiales de referencia certificados que permitieran conocer la precisión y exactitud del método.

Para humedad debía revisarse también la metodología, los tiempos y temperaturas de secado requerían controlarse mejor y de acuerdo a las características de la matriz; mientras que para los minerales existían varias causas, entre las que más influían se encontraban: errores de preparación de muestras y mal empleo de curvas de calibración (no existían pruebas de desempeño). Como acción correctiva debía revisarse el proceso de digestión de las muestras.

Los resultados de la tercera participación son los siguientes:

FECHA	ANALITO	CLAVE MUESTRA	VALOR REPORTADO	VALOR OFICIAL	SESGO O ERROR	VALOR DE Z OBTENIDO	RESULTADO
septiembre-02	HUMEDAD	K78	2.90	3.30	-0.40	-0.80	satisfactorio
		K79	85.4	85.5	-0.10	-0.60	satisfactorio
	PROTEÍNA	K78	10.9	10.7	0.20	1.3	satisfactorio
		K79	0.461	0.459	0.00	0.00	satisfactorio
	GRASA	K78	13.2	12.0	1.20	1.1	satisfactorio
		K79	3.36	2.96	0.40	0.8	satisfactorio
	CENIZAS	K78	5.97	5.95	0.02	0.1	satisfactorio
		K79	0.824	0.860	-0.04	-1.10	satisfactorio
	SODIO	K78	1549	14125	-12576	<3	insatisfactorio
		K79	851	1367	-516	-2.8	cuestionable
	POTASIO	K78	3672	3657	15	0.1	satisfactorio
		K79	2398	2468	-70	-0.4	satisfactorio
	HIERRO	K78	12.3	5.95	6.35	2.7	cuestionable
		K79	145	143	2	0.1	satisfactorio
	CALCIO	K78	3424	2049	1375	>3	insatisfactorio
		K79	371	159	212	>3	insatisfactorio

Tabla 4.2.3 Resultados de la tercera participación en pruebas interlaboratorios

En la tercera participación los resultados para el análisis proximal fueron satisfactorios lo que demostró la eficiencia de las acciones correctivas empleadas y a la experiencia adquirida en la participación en estas pruebas. Las metodologías fueron corregidas y como fue descrito en los capítulos 1 y 2, una vez modificados los métodos, se realizaron pruebas de desempeño para validar los cambios.

Para la parte que corresponde a los minerales, para potasio hubo resultados satisfactorios, no así para sodio, calcio y hierro; indicando que el proceso de validación estaba inconcluso.

La cuarta participación mostró los siguientes resultados:

FECHA	ANALITO	CLAVE MUESTRA	VALOR REPORTADO	VALOR OFICIAL	SESGO O ERROR	VALOR DE Z OBTENIDO	RESULTADO
marzo-03	HUMEDAD	K80	2.69	2.93	-0.24	-1.80	satisfactorio
		K81	64.2	64.6	-0.40	-0.40	satisfactorio
	PROTEÍNA	K80	2.16	2.11	0.05	1.0	satisfactorio
		K81	1.54	1.47	0.07	1.2	satisfactorio
	GRASA	K80	19.0	17.9	1.10	1.8	satisfactorio
		K81	18.6	17.5	1.10	0.7	satisfactorio
	CENIZAS	K80	3.72	3.73	-0.01	-0.2	satisfactorio
		K81	2.46	2.48	-0.02	-0.10	satisfactorio

Tabla 4.2.4 Resultados de la cuarta participación en pruebas interlaboratorios

En la cuarta participación nuevamente no fueron enviados resultados de minerales debido a que no habían sido concluidas pruebas de desempeño, esta vez por cambios de analista, que es otro de los factores que afectan la continuidad de los laboratorios y que como fue explicado en el capítulo 1, cuando existe un cambio de analista en el desarrollo de una prueba, también debe realizarse nuevamente el desempeño o validación inicial del método.

Los resultados de las últimas participaciones en las pruebas de aptitud se muestran a continuación:

FECHA	ANALITO	CLAVE MUESTRA	VALOR REPORTADO	VALOR OFICIAL	SESGO O ERROR	VALOR DE Z OBTENIDO	RESULTADO	
septiembre-03	HUMEDAD	K82	2.40	3.08	-0.68	1.4	satisfactorio	
		K83	78.9	79.0	-0.10	-0.30	satisfactorio	
	PROTEÍNA	K82	2.83	2.79	0.04	1.40	satisfactorio	
		K83	1.62	1.61	0.01	0.20	satisfactorio	
	GRASA	K82	13.7	13.0	0.70	1.00	satisfactorio	
		K83	7.64	7.15	0.49	1.10	satisfactorio	
	CENIZAS	K82	5.96	5.93	0.03	0.20	satisfactorio	
		K83	1.97	2.10	-0.13	-1.40	satisfactorio	
	SODIO	K82	10736	6439	4297	>3	insatisfactorio	
		K83	2734	1360	1374	>3	insatisfactorio	
	POTASIO	K82	10556	10084	472	0.6	satisfactorio	
		K83	1821	2071	-250	-1	satisfactorio	
	HIERRO	K82	145	143	2	0.1	satisfactorio	
		K83	34.5	36.5	2	-0.5	satisfactorio	
	CALCIO	K82	9224	7897	1327	1.8	satisfactorio	
		K83	6247	4706	1541	2.6	cuestionable	
	abril-04	HUMEDAD	K84	3.29	4.09	-0.80	-1.50	satisfactorio
			K85	76.9	77.4	-0.50	-2.00	satisfactorio
PROTEÍNA		K84	1.96	1.91	0.05	0.70	satisfactorio	
		K85	1.84	1.56	0.08	1.20	satisfactorio	
GRASA		K84	20.4	18.7	1.70	1.10	satisfactorio	
		K85	3.54	2.98	0.56	1.80	satisfactorio	
CENIZAS		K84	3.59	3.58	0.01	0.40	satisfactorio	
		K85	2.87	2.85	0.02	0.60	satisfactorio	
SODIO		K84	3355	1767	1588	>3	insatisfactorio	
		K85	11100	8991	2109	2	satisfactorio	
POTASIO		K84	7217	6507	710	2.4	cuestionable	
		K85	2087	1838	249	1.2	satisfactorio	
HIERRO		K84	87.3	92.4	-5.1	-0.4	satisfactorio	
		K85	4.93	2.78	2.15	1.5	satisfactorio	
CALCIO		K84	6704	6514	190	0.3	satisfactorio	
		K85	334	337	-3	0	satisfactorio	

Tabla 4.2.5 Resultados de las quinta y sexta participaciones en pruebas interlaboratorios

Para las últimas participaciones ha quedado establecida la uniformidad de resultados en las pruebas para análisis proximal, lo que indica un desempeño continuo de los métodos.

Mientras que para el análisis de minerales se han logrado mejoras para calcio, hierro y potasio; el único pendiente para lograr un mejor resultado es sodio, que si bien ya logró un resultado satisfactorio en el 2004 no ha quedado totalmente establecido el control de proceso.

El sodio es un caso particular en el que se presentan muchas interferencias, sobretodo por el tipo de matriz que representan los alimentos. Los alimentos son una fuente rica en sodio que llega a estar presente incluso en concentraciones de por ciento en peso. El análisis por espectroscopia de Absorción Atómica e ICP, son más adecuados para análisis de trazas. Además, existen otros factores que influyen en las interferencias del análisis, por ejemplo, durante la digestión de las muestras pueden existir contaminaciones de las muestras por incrustaciones de sodio en el material empleado, o por el contrario, pérdida de sodio por una preparación incorrecta de la muestra. Recientemente, se han implementado algunas acciones correctivas para el método:

- Revisión de curvas de calibración para análisis de sodio por espectroscopia de ICP, para un intervalo amplio de concentración: 3 a 40 mg/L (se anexa la parte 1 de la prueba de desempeño, obtención de los LDM y LCM estimados a partir de la curva de calibración)
- Revisión de la metodología para la digestión de muestras, por vía seca y vía húmeda. Estableciéndose que por vía húmeda se obtienen resultados ligeramente más confiables (mayor recuperación) que por vía seca (cenizas). Estos resultados no se muestran en este trabajo ya que no forma parte de los objetivos del mismo.
- La cantidad de muestra utilizada en la preparación de muestras es variable dependiendo de un contenido aproximado en el alimento a analizar. Esto con el fin de evitar que el error por dilución aumente.
- Los resultados de la evaluación de la curva de calibración son los siguientes:

PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACION INTERNA DEL METODO												
I.DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE TRABAJO Y LIMITE DE DETECCION INICIAL (LDM-ESTIMADO)												
Fecha de inicio de la prueba	03-Ago-04		Departamento	ANÁLISIS DE ALIMENTOS								
Fecha de término de la prueba												
ANALISTAS	Q.A. VANESSA ALONSO SENTIES (ALIMENTOS) / Q.A. BEGOÑA MALDONADO CUESTA (AA/ICP)											
Análito	SODIO		Matriz	HNO3 AL 2%								
Clave de Procedimiento (Indique No. de revisión):	MET-ALL-08 REVISIÓN 1			Referencia primaria:	NOM-117-SSA1-1994							
Unidades utilizadas mg/l	CONDICIONES DE OPERACIÓN: λ 220,353 nm											
DESEMPEÑO INICIAL DEL METODO: EVALUACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN												
Flujo plasma 15; Flujo auxiliar 0.2; Flujo nebulizador 0.8 RF Power 1500; bomba 1.50; antorcha axial -4.0												
Concentración	Curva 1	Inten.	Curva 2	Inten.	Curva 3	Inten.	x	σ	% C.V.	CF	1/CI	concent ANALITO
0.000	21930.3		17479.2		14787.8		18065.8	3607.1972		0.00	0.00	0.3965
3.0	146591.9		146527.4		131182.2		140800.5	8329.7	5.92	46933.5	0.0000	3.09
9.0	441354.2		448285.6		368142.2		425927.3	32905.9	7.73	47325.3	0.0000	9.35
18.0	859604.2		782999.9		764007.8		802204.0	50608.9	6.309	44566.9	0.0000	17.61
27.0	1279300.2		1190852.8		1160622.3		1210258.4	61672.9	5.10	44824.4	0.0000	26.56
40.0	1863307.1		1795336.4		1640199.7		1786281.1	114365.4	6.47	44157.0	0.0000	38.8
b	18439.9		19134.1		20485.5		19353.2	1040.2				
m	46360.4		43984.1		41048.7		43601.1	2661.1	6.0754			prom Cf= 45661.4
r	0.9989		0.9993		0.9994		0.9995	0.0003	0.0327			DESVST Cf= 1457.6
n=	5										PROM 1/CI= 0.0000	
												%DSR= 3.20
												(DSR debe ser < 10%)
Valores promedio de las curvas: Regresión lineal												
Ordenada al origen promedio,	b		19353.2									
Valor promedio de la pendiente,	m		43801.1									
Desv. Std. de la ordenada al origen,	σ		1040.2									
Promedio del coeficiente de relación,	r		0.9995									
Límites estimados												
LDM (ICH)		0.078		mg/L								
LCM (ICH)		0.237		mg/L								
ICH = INTERNATIONAL COMITTEE OF HARMONIZATION												

Una vez concluida la prueba de desempeño para sodio, y establecidos los criterios de control el paso siguiente es completar la implantación del método.

Por ello, la participación en este tipo de pruebas ofrece a los laboratorios una vía de mejora continua en sus procesos analíticos. Este laboratorio comenzó mejorando sus procesos para el análisis proximal; posteriormente con los minerales logrando para la mayoría de ellos resultados satisfactorios.

La EMA dentro de sus Políticas de pruebas de aptitud técnica solicita a los laboratorios participar y aprobar en este tipo de pruebas. Desafortunadamente como ya ha sido mencionado, en México no existe un esquema que cubra todos los análisis que pueden estar incluidos en el marco analítico de una acreditación, y lo que es más, la EMA no acepta todos los esquemas internacionales salvo que esta entidad participe también como organismo acreditador. Sin embargo, lo que sí permite es, que si no existe un esquema de participación aceptado por ella, el laboratorio puede demostrar su aptitud técnica y variabilidad analítica a través de estudios de repetibilidad y reproducibilidad.

CONCLUSIONES

1. Las pruebas R y R son un tipo de prueba de desempeño inicial donde es posible conocer la precisión y exactitud del método para aquellas metodologías que no emplean a la química analítica instrumental como las que se utilizan en el análisis proximal. Las pruebas de desempeño inicial permiten conocer los criterios de control como los LDM y LCM, y además la precisión y exactitud para aquellos análisis químicos instrumentales.
2. La estimación de incertidumbre permite al laboratorio establecer con una probabilidad estadística confiable, el intervalo de sus mediciones analíticas.
3. El monitoreo del proceso analítico permite conocer el comportamiento de la variabilidad de las mediciones. A medida que un proceso analítico se va estableciendo bajo un control estadístico con el paso del tiempo, los resultados presentan una variabilidad menor y, además, descartan la posibilidad de que existan errores sistemáticos que sesguen los resultados con alguna tendencia positiva o negativa alejada de los valores verdaderos.
4. La participación en pruebas de aptitud sirve al laboratorio para completar su esquema de mejora continua, ya que además de monitorear de manera constante sus procesos analíticos con el empleo de las gráficas de control, los resultados obtenidos de estas pruebas pusieron de manifiesto la necesidad de mejorar los procesos. Cada nueva participación incluía una mejora a las metodologías, hasta alcanzar la madurez del sistema reflejada en la constancia de resultados satisfactorios.
5. Con la implantación del control estadístico de proceso en el laboratorio de análisis de alimentos se facilita tener esquemas de mejora continua que contribuyen a alcanzar una acreditación o autorización basada en la norma ISO/IEC 17025:1999.

ANEXO 1. Formatos de planeación y hojas de resultados de pruebas de desempeño

Clave del formato: R y R-LA-01

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS**Plan para el desarrollo de pruebas de Repetibilidad y Reproducibilidad***Datos Generales*

Fecha: ____/____/____

Clave del método (no. de edición) _____ Referencia primaria: _____

Analito: _____ Matriz: _____

Material de referencia: _____ Marca: _____

Lote: _____ Valor certificado (Conc. o pureza): _____

Fecha de inicio de la prueba: ____/____/____ Fecha de término: ____/____/____

Datos de los analistas

Nombre: _____ Firma: _____

Nombre: _____ Firma: _____

No. de corridas por analista: _____

Equipos de laboratorio

Equipo/modelo	No. de inventario o serie	Fecha de última calibración	Fecha de última verificación
Balanza analítica			

Material de laboratorio

1. _____ Verificación: Cumple si ____ no ____

2. _____ Verificación: Cumple si ____ no ____

Observaciones

Supervisión:_____
Jefe de Laboratorio_____
Aseguramiento de Calidad

Figura a) Formato de planeación de pruebas de repetibilidad y reproducibilidad.

ANEXOS

Formo R y R LA-02												
LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS - PRUEBAS DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD												
HOJA DE RESULTADOS PRECISIÓN DEL MÉTODO												
Departamento: _____												
Identificación de muestras (Matriz)						DETERMINACION (Análito): _____						
PROCEDIMIENTO (NO. DE REV.):						REFERENCIA PRIMARIA:						
Ditadores:												
Fecha				Fecha				Fecha				
Analista A				Analista B				Analista C				
Muestra	CORRIDA 1	CORRIDA 2	DPR	Muestra	CORRIDA 1	CORRIDA 2	DPR	Muestra	CORRIDA 1	CORRIDA 2	DPR	
1			#DIV/0!	1			#DIV/0!	1			#DIV/0!	
2			#DIV/0!	2			#DIV/0!	2			#DIV/0!	
3			#DIV/0!	3			#DIV/0!	3			#DIV/0!	
4			#DIV/0!	4			#DIV/0!	4			#DIV/0!	
5			#DIV/0!	5			#DIV/0!	5			#DIV/0!	
6			#DIV/0!	6			#DIV/0!	6			#DIV/0!	
7			#DIV/0!	7			#DIV/0!	7			#DIV/0!	
8			#DIV/0!	8			#DIV/0!	8			#DIV/0!	
			Promedio				Promedio				Promedio	
			Dev. Std.				Dev. Std.				Dev. Std.	
Límites de control para gráficas de precisión												
Promedio A	#DIV/0!	Intervalos		D4	D5	LSC		BPProm'D4	#DIV/0!	Prom. y máx.		
Promedio B	#DIV/0!	2		3.27	2.81	LSA		BPProm'D5	#DIV/0!	Mín. y máx.		
Promedio C	#DIV/0!	3		2.58						0.000		
EProm	#DIV/0!	4		2.58						#DIV/0!		
ANÁLISIS DE RESULTADOS												
Repetibilidad, Variación del Equipo (VE)						Reproducibilidad, Variación entre analistas (VA)						
VE = $(\frac{DPR_{prom}^2}{c})^{0.5}$		Repeticiones		2	3	4	VA = $\sqrt{(\frac{dif_{max} y min}{n} + K^2)^2 - \frac{EV^2}{n^2 \cdot c}}$		Analistas		2	3
VE = #DIV/0!		K1		4.04	3.05	2.5	VA = #DIV/0!		K2		3.65	2.7
		cv=V.E./E =		#DIV/0!			cv=V.A./E =		n = número de muestras =		8	
									c = número de corridas =		2	
Repetibilidad y Reproducibilidad						<p>*** Los factores K1 son apropiados si # de analistas = # de muestras > 15, si no ver tablas de t de student</p> <p>*** Si el valor calculado bajo en la raíz cuadrada es negativo o si existe un solo operador, entonces VA=0</p> <p>*** A partir de los límites de control obtenidos con los promedios de DPR debe construirse la gráfica de control de precisión del método analítico, los valores de la reproducibilidad serán útiles para tomar decisiones durante la participación de ensayos de aptitud</p> <p>*** Los valores de R y R obtenidos con las desviaciones estándar de cada analista deben ser utilizados durante la estimación de la incertidumbre del método</p>						
R y R = $\sqrt{VE^2 + VA^2}$						R y R = #DIV/0!						
SUPERVISOR:						APROBADO:						
Jefe del Departamento						Asesoramiento de la Calidad						

Figura b) Formato hoja de resultados R y R precisión.

ANEXOS

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS - PRUEBAS DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD												Formo R y R LA-03					
HOJA DE RESULTADOS EXACTITUD DEL MÉTODO																	
Departamento: _____						Fecha de inicio: _____ fecha de término: _____											
Identificación de muestras (Matriz): _____						DETERMINACION (Análito): _____											
Valor certificado: _____ Incertidumbre expandida: _____						Factor de cobertura: _____											
PROCEDIMIENTO (NO. DE REV.): _____						REFERENCIA PRIMARIA: _____											
Bitácoras:																	
Análisis A				Análisis B				Análisis C									
Muestra	CORRIDA 1	CORRIDA 2	PROMEDIO	%R	Muestra	CORRIDA 1	CORRIDA 2	PROMEDIO	% R	Muestra	CORRIDA 1	CORRIDA 2	PROMEDIO	% R			
1				#DIV/0!	1				#DIV/0!	1				#DIV/0!			
2				#DIV/0!	2				#DIV/0!	2				#DIV/0!			
3				#DIV/0!	3				#DIV/0!	3				#DIV/0!			
4				#DIV/0!	4				#DIV/0!	4				#DIV/0!			
5				#DIV/0!	5				#DIV/0!	5				#DIV/0!			
6				#DIV/0!	6				#DIV/0!	6				#DIV/0!			
7				#DIV/0!	7				#DIV/0!	7				#DIV/0!			
8				#DIV/0!	8				#DIV/0!	8				#DIV/0!			
Promedio R				#DIV/0!	Promedio R				#DIV/0!	Promedio R				#DIV/0!			
Desv. Std. R				#DIV/0!	Desv. Std. R				#DIV/0!	Desv. Std. R				#DIV/0!			
Promedio % R			DESV. STD.	***Análisis de control para gráficos de exactitud													
Promedio A	#DIV/0!	DESV. STD. A	#DIV/0!	LSC	#Repets(2*opets*in)	#DIV/0!											
Promedio B	#DIV/0!	DESV. STD. B	#DIV/0!	LSA	#Repets(2*opets*in)	#DIV/0!											
Promedio C	#DIV/0!	DESV. STD. C	#DIV/0!	LJC	#Repets(2*opets*in)	#DIV/0!											
%Prom.	#DIV/0!	%prom	#DIV/0!	LJA	#Repets(2*opets*in)	#DIV/0!											
ANÁLISIS DE RESULTADOS																	
Repetibilidad, Variación del Equipo (VE)**						Reproducibilidad, Variación entre analistas (VA)***											
VE = (CVIprom)* K1		Repeticiones		2		3		4		Análisis		2		3			
VE = #DIV/0!		R1		4.56		3.05		2.5		R2		3.85		2.7			
cv=V.E./R.16 = #DIV/0!						VA = $\sqrt{(diff\ max\ y\ min\ * K2)^2 - \frac{EV^2}{n^2}}$						cv.an.V.A/E.16 = #DIV/0!					
***Repetibilidad y Reproducibilidad																	
R y R = $\sqrt{VE^2 + VA^2}$						R.Y.R = #DIV/0!											
<p>** Los factores K1 son apropiados si # de analistas= # de muestras= 15, si no ver tabla de I de abeloff</p> <p>** Si el valor calculado en la raíz cuadrada es negativo o si existe un solo operador, entonces VA=0</p> <p>*** A partir de los límites de control obtenidos con los promedios de %R debe construirse la gráfica de control de exactitud del método analítico, los valores de la reproducibilidad serán útiles para toma de decisiones durante la participación de ensayos de aptitud</p> <p>**** Los valores de R y r obtenidos con las desviaciones estándar de cada análisis deben ser utilizados durante la estimación de la incertidumbre del método</p>																	
SUPERVISOR: _____						ANOTADO: _____											
Jefe del Departamento: _____						Aseguramiento de la Calidad: _____											

Figura c) Formato hoja de resultados R y R exactitud

ANEXOS

				Formato DES-LA-02	
PLANEACIÓN DE PRUEBAS DE DESEMPEÑO INICIAL DEL MÉTODO					
FECHA:					
ANALISTA:					
ANALITO:			MATRIZ:		
Clave de Procedimiento (No. de revisión):			Método de referencia:		
Concentración de estándares para curva de calibración: (unidades)					
Curva elaborada a partir del LCM (10 veces menos que el LMP)	C = LCM		Curva indicada en la norma		
	C' = 3C		de referencia		
	C'' = 2C'				
	C''' = 1,5C''				
	C'''' = 1,5C'''				
Límites y parámetros reportados en la bibliografía					
LDM		Precisión			
LCM		Exactitud			
Sensibilidad					
Preparación muestra:					
Interferencias:					
Registros (rastreadibilidad de la información)					
Preparación de muestras:					
Preparación de estándares:					
Material de referencia para las curvas de calibración:					
Material		Concentración/Pureza			
Marca		No. de Lote			
Material de referencia para evaluación de precisión y exactitud:					
Material		Concentración/Pureza			
Marca		No. de Lote			
Equipo utilizado:					
Equipo:		No. de Serie:		Marca:	
				No. Inventario:	
Material volumétrico utilizado:					
Material/Equipo		No. Inventario		Material volumétrico	
				Vol. Nominal	
				Vol. real	
Matraz vol.					
micropipeta					
pipeta vol.					
pipeta vol.					
pipeta vol.					
Observaciones:					
Elaboró		Revisó		Aprobó	
Nombre y Firma		Nombre y firma		Nombre y Firma	
Q. Analista		Aseg. Calidad		Gerencia de Laboratorio	

Figura d) Planeación de pruebas de desempeño inicial del método.

PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACION INTERNA DEL METODO

I. DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE TRABAJO Y LIMITE DE DETECCIÓN INICIAL (LDM-ESTIMADO)

Fecha de inicio de la prueba Departamento ANÁLISIS DE ALIMENTOS
 fecha de término de la prueba

ANALISTAS _____

Analito _____ Matriz _____

Clave de Procedimiento (Indique No. de revisión): _____ Referencia primaria: _____

Unidades utilizadas $\mu\text{g/L}$ _____ CONDICIONES DE OPERACIÓN: 1

DESEMPEÑO INICIAL DEL METODO: EVALUACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Concentración	Curva 1	Inten.	Curva 2	Inten.	Curva 3	Inten.	x	σ	% C.V.	CF	1/CF	concent ANALITO
0.000							#/DIV/0!	#/DIV/0!		0.00	0.00	#/DIV/0!
							#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!
							#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!
							#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!
							#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!
							#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!
							#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!
b	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!				prom Cf= #/DIV/0!
m	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!				DESYST Cf= #/DIV/0!
r2	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!	#/DIV/0!				PROM 1/Cf= #/DIV/0!
n=	5											%DSR= #/DIV/0!
												(DSR debe ser < 10%)

Valores promedio de las curvas: Regresión lineal

Ordenada al origen promedio, b	#/DIV/0!
Valor promedio de la pendiente, m	#/DIV/0!
Desv. Std. de la ordenada al origen, σ	#/DIV/0!
Promedio del coeficiente de relación, r^2	#/DIV/0!

Límites estimados

LDM (ICH)	#/DIV/0!	$\mu\text{g/L}$
LCM (ICH)	#/DIV/0!	$\mu\text{g/L}$

ICH = INTERNATIONAL COMITEE OF HARMONIZATION

II. LIMITE DE DETECCIÓN DEL METODO (LDM). (DE ACUERDO A EPA)

LDM DEL METODO DE REFERENCIA (BIBLIOGRAFIA)= _____ No reportado

Concentración utilizada $\mu\text{g/L}$ debe ser de 5 a 10 veces el LDM de referencia o estimado

NOTA: DEBE SER UN VALOR DE CONCENTRACIÓN CERCAÑO AL PUNTO MÁS BAJO DE LA CURVA

Resultados

Análisis	FR	Conc. Obt.
1		#/DIV/0!
2		#/DIV/0!
3		#/DIV/0!
4		#/DIV/0!
5		#/DIV/0!
6		#/DIV/0!
7		#/DIV/0!

x	#/DIV/0!
σ	#/DIV/0!
L.D.M.	#/DIV/0!
LDM= t^*s	t = 3,14
LDM= 3,14*s	#/DIV/0!
LCM= LDM*s	#/DIV/0!

Figura e) Hoja de cálculo PDI para evaluación de curva de calibración y obtención de los LDM y LCM

ANEXOS

Formato DES-LA-01

PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACION INTERNA DEL METODO

Análito 0 Matriz 0
 Clave de Procedimiento (Indique No. de revisión): 0

III. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR LA PRECISION Y EXACTITUD INICIAL DEL METODO

Concentración utilizada $\mu\text{g/L}$ debe ser en el punto medio de la curva de calibración

RESULTADOS

Análisis	FR	Conc. Obt.
1		# DIV /0
2		# DIV /0
3		# DIV /0
4		# DIV /0
5		# DIV /0
6		# DIV /0
7		# DIV /0
8		# DIV /0
9		# DIV /0
10		# DIV /0

FR= factor de respuesta (Intensidad)

SUBROUTINA PARA CALCULAR LA EXACTITUD (% R)

A partir de los 10 resultados obtenidos

Análisis	VE	VR	(VE/VR)*100
1	# DIV /0	0.00	# DIV /0
2	# DIV /0	0.00	# DIV /0
3	# DIV /0	0.00	# DIV /0
4	# DIV /0	0.00	# DIV /0
5	# DIV /0	0.00	# DIV /0
6	# DIV /0	0.00	# DIV /0
7	# DIV /0	0.00	# DIV /0
8	# DIV /0	0.00	# DIV /0
9	# DIV /0	0.00	# DIV /0
10	# DIV /0	0.00	# DIV /0
PROMEDIO	# DIV /0	DESVEST	# DIV /0

SUBROUTINA PARA CALCULO DE LA PRECISION (DPR)

Aparear los 10 resultados

Calcular el DPR

Pares	X1	X2	(X1-X2)	X1+X2	%DPR
1	0.0	0.0	0.0	0.0	# DIV /0
2	0.0	0.0	0.0	0.0	# DIV /0
3	0.0	0.0	0.0	0.0	# DIV /0
4	0.0	0.0	0.0	0.0	# DIV /0
5	0.0	0.0	0.0	0.0	# DIV /0
	PROM INTERVALO	0.000	PROM DPR	# DIV /0	

Criterio de aceptación	
x	# DIV /0
s	# DIV /0
% RSD	# DIV /0
%Rprom	# DIV /0
%Rdesvest	# DIV /0
DPRprom=	# DIV /0

Rprom=recobro promedio
 DPRprom= Diferencia porcentual relativa prom.

Hoja 2/3

Figura f) Hoja de cálculo PDI para evaluación de la precisión y exactitud del método

PRUEBA DE DESEMPEÑO INICIAL - VALIDACION INTERNA DEL METODO				Formato DES-LA-01
IV. CÁLCULO DE LÍMITES DE CONTROL. GRÁFICAS DE CONTROL PRELIMINARES				
1. GRÁFICAS DE CONTROL DE EXACTITUD				
LÍMITES DE CONTROL			%	
PROMEDIO (X)			# DIV/0	
LSC	$X+(2\sigma/\sqrt{n})$	# DIV/0		
LSA	$X+(3\sigma/\sqrt{n})$	# DIV/0		
LIA	$X-(3\sigma/\sqrt{n})$	# DIV/0		
LIC	$X-(2\sigma/\sqrt{n})$	# DIV/0		
LSA= Límite superior de advertencia			X =promedio recuperación	
LIA= Límite inferior de advertencia			σ =desviación estándar recuperación	
LIC=Límite inferior de control				
2. GRÁFICAS DE CONTROL DE PRECISION				
LÍMITES DE CONTROL			%	
PROMEDIO DPR			# DIV/0	
LSC	$3,27 \cdot \text{DPRprom}$	# DIV/0		
LSA	$2,51 \cdot \text{DPRprom}$	# DIV/0		
LSC= Límite superior de control				
LSA= Límite superior de advertencia				
Observaciones:				
Elaboró		Revisó		Aprobó
Nombre y Firma Q. analista		Nombre y Firma Aseg. de Calidad		Nombre y Firma Gerencia de Laboratorio
Hoja 3 /3				

Figura g) Hoja de cálculo PDI para obtención de los límites de control de gráficas de precisión y exactitud

ANEXO 2. Glosario de definiciones.

1. **Control de Calidad:** Son las técnicas operativas y actividades necesarias para cumplir con los requisitos de calidad y concierne al monitoreo diario de los procedimientos realizados en el laboratorio, evitando la ejecución de errores o la detección de los mismos (Eurachem/CITAC, 2002).
2. **Aseguramiento de calidad:** Son las acciones sistemáticas y planeadas implementadas en un laboratorio necesarias para asegurar que los productos cumplen con los requisitos necesarios de calidad (Eurachem, 1998) (Eurachem/CITAC, 2002).
3. **Mejora continua de la calidad:** Se refiere tanto a una filosofía como a un sistema de manejo. No desecha los métodos tradicionales de control y aseguramiento de calidad, sino que se trata de una extensión de esas actividades y requiere de un nuevo enfoque y una ampliación de actividades en la organización en la búsqueda de la calidad. Son las acciones necesarias para aumentar la efectividad y la eficiencia, proporcionando mayores beneficios a la organización para beneficio de los usuarios (ISO, 2000).
4. **Calidad:** Conjunto de propiedades y características de un producto o servicio que le confieren aptitud para satisfacer las necesidades explícitas e implícitas ya establecidas (Eurachem, 1998) (Eurachem/CITAC, 2002).
5. **Política de calidad:** Conjunto de directrices y objetivos generales respecto a la calidad, formalmente expresada por la alta dirección de una empresa (ISO/IEC, 1999).
6. **Precisión:** Es el grado de concordancia de un grupo de valores experimentales obtenidos del mismo analito bajo las mismas condiciones de operación, con respecto a un valor central (Eurachem, 1998).
7. **Exactitud:** Es el grado de concordancia entre los valores obtenidos experimentalmente y el valor de referencia aceptado o real. La exactitud incluye la combinación del error aleatorio (precisión) y el error sistemático (deriva o bias) debido a opresiones de muestreo y análisis (Eurachem, 1998).
8. **Recuperación:** Es la fracción del analito adicionado a la muestra de prueba antes del análisis, y es el valor obtenido de la diferencia entre el valor de la muestra fortificada y la muestra no fortificada, dividida por el valor de la adición del analito (Eurachem, 1998).
9. **Muestras fortificadas:** son aquellas que se preparan adicionando una cantidad conocida del analito de interés a la muestra de la cual se tiene el valor conocido de dicho analito. Este tipo de muestras se utilizan para conocer el grado de exactitud mediante una posible interferencia por la matriz en un proceso específico (CENAM-EMA, 2004).
10. **Matriz:** Es el componente o sustrato que contiene el analito de interés. Puede ser simple o compleja dependiendo el número de componentes (CENAM-EMA, 2004).
11. **Intervalo de medición o de trabajo:** Conjunto de valores del mesurando por el cual el error de un instrumento de medición es intencionalmente situado dentro de los límites especificados (Eurachem, 1998).

12. **Bias:** La diferencia entre lo esperado del resultado de la prueba y un valor de referencia aceptado (Eurachem, 1998).
13. **Error (de la medición):** Es el resultado de la medición menos el valor verdadero del mesurando (Eurachem, 1998).
14. **Mensurando:** Es la cantidad particular sujeta a medición (Eurachem, 1998) (CENAM-EMA, 2004).
15. **Medición:** Conjunto de operaciones que tienen el objetivo de determinar el valor de una cantidad (Eurachem, 1998) (CENAM-EMA, 2004).
16. **Método de medición:** Es una secuencia lógica de operaciones, descritas de manera genérica, utilizada en el desempeño de las mediciones (Eurachem, 1998).
17. **Curva de calibración:** Es la representación gráfica de la señal medida (respuesta) como una función de la cantidad de un analito (Eurachem, 1998).
18. **Pruebas de aptitud técnica:** Una evaluación periódica del desempeño de laboratorios individuales y grupos de laboratorios que es llevado a cabo por la distribución a través de un organismo independiente de materiales típicos para el análisis de los participantes (Eurachem, 1998).
19. **Rastreabilidad:** Capacidad de reencontrar o reconstruir la aplicación o localización de un elemento o actividad por medio de registros o evidencias objetivas (CENAM-EMA, 2004).
20. **Material de referencia:** Material o sustancia de una o más propiedades las cuales son suficientemente homogéneas y bien establecidas para ser utilizadas para la calibración de un aparato, la validación de un método de medición, o para la validación de valores de materiales (Eurachem, 1998) (CENAM-EMA, 2004).
21. **Trazabilidad:** Propiedad del resultado de una medición o de los valores de un estándar por la cual puede ser relacionada con una incertidumbre establecida, a referencias reconocidas, usualmente estándares nacionales o internacionales a través de una cadena ininterrumpida de comparaciones (Eurachem, 1998).
22. **Validación:** Es la confirmación por examinación y provisión de evidencia objetiva que los requerimientos particulares para un uso intencionado son cumplidos (Eurachem, 1998).
23. **Método de validación:** El proceso de establecer el desempeño característico y limitaciones de un método y la identificación de las influencias las cuales pueden cambiar estas características y cuales están exentas (Eurachem, 1998).
24. **Acreditación:** Procedimiento por el cual un organismo toma formal reconocimiento que un laboratorio es competente para llevar a cabo las especificaciones o requisitos puestos a prueba (Eurachem/CITAC, 2002).
25. **EMA, Entidad Mexicana de Acreditación.** La EMA es una asociación civil, con carácter de entidad privada autónoma, con personalidad jurídica propia, de carácter no preponderantemente económico, de especulación comercial o con fines de lucro. El propósito de la EMA es realizar actividades de acreditación de acuerdo a su objeto múltiple. Se integrará con las personas físicas y morales, interesadas en la evaluación de la conformidad. Su ámbito de actuación es multisectorial, abarcando todos los sectores industriales y económicos (CENAM-EMA, 2004).

BIBLIOGRAFÍA.

- Barrentine Larry, 1991, Concepts for R & R studies, ASQ, USA, p. 6-15
- Fajgeli, A. y Ambrus, A., 2000, Principles and Practices of Method Validation, Royal Society of Chemistry, UK, p. 100-101
- Garfield F., 2000, AOAC-Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories, 3rd edition USA, p. 98-101.
- Kateman G., Buydens L., 1993, Quality Control in Analytical Chemistry, Wiley-Interscience, USA, p. 13
- Kume, H., 1994, Herramientas Estadísticas Básicas para el Mejoramiento de la Calidad, Grupo Editorial Norma, Colombia, p. 39-45
- Miller, J. y Miller, N., 2000, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 4th edition, Prentice Hall, UK, p. 3-4, 22, 80-82, 2-6, 20-39, 52, 80-93, 90-93, 98-103)
- Taylor, J., 1987, Quality Assurance of Chemical Measurements, Lewis Publishers, USA, p. 9, 15, 16, 33, 36, 83, 96, 129-130, 131-132
- Cunniff P., 2000, Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC Int., USA.
- CENAM-EMA, 2004, "Guías técnicas sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas: Técnicas de gravimetría de masa y Técnicas de análisis por espectroscopia de AA/ICP", México, p.18, 19, 29-37, 46-50, 58-69
- EPA, 2003, EPA 821-R-03-005 Technical support document for the assessment of detection and quantification approaches, USA, Ch. 2, Ch. 5.
- EPA, 1996, Method EPA 6010B " Inductively coupled plasma - Atomic emission spectroscopy, USA.
- Eurachem, 1998, Guide "The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Guide to Method Validation and Related Topics", Eurachem Working Group, p. 6,17, Anexo A pp. 52
- Eurachem/CITAC, 2000, Guide "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement", 2nd edition, pp 4-31, 102, 103.
- ISO/IEC, 1999, Norma 17025 "Requisitos generales para la competencia técnica de los laboratorios de ensayo y calibración", requisitos 5.4, 5.5, 5.6, 5.8, 5.9.
- PROY-NMX-AA-103-SCFI-2001 "Residuos.- compuestos orgánicos volátiles en el producto de extracción para constituyentes tóxicos". México pp. 14-19
- SNFA, 2002, Protocolo de "Proficiency Testing Programme, Policy, organization and statistics", Livsmedels Verket, Sweden, p. 4-11
- SSA, 1993, Norma oficial mexicana NOM-029-SSA1-1993 "Productos de la pesca. Especificaciones sanitarias", México.
- SSA, 1994, Norma oficial mexicana NOM-117-SSA1-1994 "Determinación del contenido de plomo, cadmio, hierro, arsénico, estaño, mercurio, zinc en alimentos y agua potable por espectrometría de absorción atómica", México.

BIBLIOGRAFÍA

- SSA, 1994, Norma oficial mexicana NOM-122-SSA1-1994 "Productos cárnicos curados y cocidos, cocidos y emulsionados. Especificaciones sanitarias", México.
- SSA, 1995, Norma oficial mexicana NOM-130-SSA1-1995 "Productos envasados con cierre herméticamente sellados. Especificaciones sanitarias", México.
- SSA-SCFI, 2002, Norma oficial mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2002 "Productos de cacao. I Cacao. II Chocolate. Especificaciones sanitarias y comerciales", México.
- Taylor, J. K., 1983, "Reference Materials- What they are and how should be used", *Journal of Testing and Evaluation*, 11, 6, 385-387